



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Psicología

Efecto de la depleción de dopamina en la corteza orbitofrontal sobre la estimación temporal retrospectiva en ratas

TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN PSICOLOGÍA
PRESENTA

LUIS IGNACIO REYES AGUIRRE

Miembros del Jurado:

Director de Tesis: Dr. David Nathanael Velázquez Martínez

Revisor de Tesis: Dr. César Casasola Castro

Sinodales:

Dr. Florencio Miranda Herrera

Dr. Gustavo Bacha Méndez

Dr. Oscar Zamora Arevalo



México, D.F. 2009



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

*A mi madre y abuelos, por la formación que me han brindado.
A mis amigos, por nunca dejarme caer.
A Fabiola, por nuestra historia.*

Agradecimientos.

Agradezco a la UNAM y a la Facultad de Psicología, por permitirme recibir una formación académica de excelencia. A los maestros que representaron una gran influencia en cada una de las etapas de dicha formación. En particular, al Dr. David Velázquez, por ayudarme a terminar el presente trabajo y por sus oportunas observaciones. A los miembros del jurado, por sus valiosos comentarios y sugerencias.

*La ciencia es el arte de crear ilusiones adecuadas que el loco cree o rebate, pero de cuya
belleza e inventiva disfruta el sabio.*

Carl Jung.

Resumen.

La estimación temporal, en el rango de segundos a minutos, es un proceso de gran importancia para la adaptación de un organismo a su medio circundante. Para explicarlo, se propuso la existencia de un reloj interno, que está compuesto por un mecanismo perceptual, uno mnémico y uno de toma de decisión. El componente perceptual basa su funcionamiento en la emisión de pulsos, cuya velocidad depende, en teoría, de la cantidad de dopamina disponible. Se ha propuesto un circuito que incluye corteza, estriado y ganglios basales como sustento del reloj interno, pero aún no se tiene un conocimiento preciso de todas las regiones que lo integran. La corteza orbitofrontal es una región heterogénea que participa en diversos procesos, como la evaluación y predicción del reforzador, la elección flexible de conductas, la toma de decisiones, entre otras. El objetivo del presente estudio fue evaluar la participación de las terminales dopaminérgicas en la corteza orbitofrontal sobre la estimación de intervalos. Se emplearon 12 ratas macho, de la cepa Wistar, entrenadas en la tarea de bisección temporal. Una vez alcanzado el criterio de adquisición de la tarea, se les asignó aleatoriamente a grupos sham y lesión. El grupo lesión recibió inyecciones intraperitoneales de Desipramina y Fluoxetina, 30 minutos antes de la cirugía, para proteger terminales serotoninérgicas y noradrenérgicas, respectivamente. Posteriormente, se infundió 6-Hidroxidopamina, intracraneal. El grupo sham recibió inyecciones de vehículo. Ambas infusiones se acompañaron de un tinte para comprobar el sitio de lesión. Se comparó el desempeño de las ratas, antes y después de la cirugía, tras derivar las funciones psicométricas, el punto de bisección y la Fracción de Weber, empleando una regresión lineal y una función logística. Ante la falta de diferencias significativas, se llevó a cabo un análisis de latencias y errores, así como un análisis por sujeto. La lesión produjo un desplazamiento a la izquierda en algunas de las ratas del grupo lesión, acompañado por cambios en la Fracción de Weber. Aumentaron las latencias de respuestas correctas en las ratas del grupo lesión. Los resultados sugieren la alteración del proceso de toma de decisiones, la generación de conductas impulsivas y la variación en la evaluación del reforzador, negando la posibilidad de que la región forme parte del componente perceptual del reloj.

Contenido.

1.	Estimación temporal	8
1.1.	Características básicas de la estimación de intervalos.	11
1.2.	Modelos de estimación temporal.	16
1.3.	Teoría de expectancia escalar.	19
2.	Dopamina y estimación de intervalos.	25
2.1.	Sistema dopaminérgico.	25
2.2.	Hipótesis dopaminérgica de la estimación temporal.	30
3.	Corteza orbitofrontal.	34
3.1.	Anatomía.	34
3.2.	Conexiones.	38
3.2.1.	Aferencias.	38
3.2.2.	Eferencias.	40
3.3.	Funciones de la corteza orbitofrontal.	40
4.	Justificación, objetivos e hipótesis.	45
4.1.	Justificación.	45
4.2.	Objetivo general.	46
4.3.	Objetivos específicos.	46
4.4.	Hipótesis general.	46
4.5.	Hipótesis particulares.	46
5.	Método.	47
5.1.	Sujetos.	47
5.2.	Materiales.	47
5.3.	Procedimiento conductual.	47
5.3.1.	Moldeamiento.	47
5.3.2.	Entrenamiento en el procedimiento de bisección temporal.	48
5.3.3.	Ensayos prueba de bisección temporal.	48
5.3.4.	Procedimiento quirúrgico.	49
5.3.5.	Evaluación postoperatoria.	50
5.3.6.	Fármacos.	50

5.3.7. Análisis de datos	51
5.3.8. Histología	51
6. Resultados	52
6.1. Resultados por grupo	52
6.2. Análisis por sujeto de los indicadores temporales	60
6.3. Histología	72
7. Discusión y conclusiones	73
Referencias	79

1. Estimación temporal.

La adecuada adaptación de un ser vivo a su medio exige mecanismos de respuesta flexibles y precisos, que le permitan hacer frente a una gran cantidad de características físicas ambientales. El tiempo es una de ellas y es fundamental para la conducta adaptativa, ya que los organismos son bombardeados constantemente por estímulos procesados a distintas velocidades en diferentes regiones del Sistema Nervioso Central, cuya utilidad se manifiesta únicamente al ser organizados en una escala temporal y al asociar apropiadamente eventos externos y eventos internos (Eagleman, Tse, Buonomano, Janssen, Nobre y Holcombe, 2005). La capacidad de estimar el paso del tiempo y de adaptarse a las regularidades y cambios temporales ha sido registrada en un gran número de especies distribuidas a lo largo de la escala evolutiva, por lo que se considera un proceso conductual básico (Boisvert y Sherry, 2006; Buhusi y Meck, 2000).

Gibbon (1977) destaca que el mismo significado del condicionamiento implica que los sujetos son sensibles al apareamiento temporal entre los estímulos condicionado e incondicionado, o entre las respuestas y los estímulos incondicionados. La estimación de los intervalos de tiempo constituye la base para el aprendizaje y la predicción de sucesos de fundamental importancia para la supervivencia, además de permitir la organización de la conducta a lo largo de diferentes rangos temporales (Gibbon, Church y Meck, 1984).

El estudio de la organización temporal de la conducta ha llevado a la identificación de diversos mecanismos, que responden a distintos rangos temporales. Los ritmos biológicos regulan el comportamiento a lo largo de diversos periodos de tiempo cuyas duraciones abarcan horas, días, meses y años, basándose en estructuras que actúan a modo de osciladores endógenos automantenidos (Smolensky y Peppas, 2007).

La fotoperiodicidad de 24 horas, o circadiana, responsable del ciclo sueño – vigilia, es el ritmo biológico mejor estudiado, de modo que se sabe que es controlado por el núcleo supraquiasmático, situado en el hipotálamo. La actividad rítmica de genes del reloj y sus productos, así como la secreción cíclica de melatonina de la glándula pineal componen el mecanismo de reloj, el cual orquesta el periodo y la fase de los diversos relojes circadianos localizados en células, tejidos y órganos (Kalsbeek, Perreau-Lenz y Bujis, 2006), dando como resultado la organización temporal de diversas funciones y procesos biológicos durante el periodo de 24 horas. El reloj circadiano basa su sincronización en pistas temporales externas, siendo la más importante el ciclo luz – oscuridad, que le permite establecer su periodo en aproximadamente 24 horas. Sin embargo, es importante enfatizar que dicho ciclo no es la fuente del ritmo circadiano, sino únicamente un sincronizador (*Zeitgeber*) del periodo y la fase de los mecanismos oscilatorios endógenos que dan sustento al reloj. Por consiguiente si el estímulo es interrumpido, la periodicidad se mantiene (Smolensky y Peppas, 2007).

Estas periodicidades, basadas en osciladores, no son la única forma de organización temporal de la conducta. Diversos eventos ambientales, de relevancia crítica para la sobrevivencia, no están sincronizados con una periodicidad natural; en estos casos, el organismo debe ser capaz de medir la duración de los intervalos relevantes, iniciando y deteniendo el proceso en épocas arbitrarias de manera análoga a un cronómetro (Gibbon et al. 1997). El adecuado seguimiento de eventos temporales en el rango de segundos a minutos es de suma importancia adaptativa y supone una modalidad adicional de estimación temporal que también puede ser denominada Estimación de Intervalos. La correcta ubicación de las señales ambientales en este rango es de importancia crítica para toda conducta, posibilitando el movimiento, el lenguaje, el aprendizaje, la detección de causalidad y la codificación de información (Eagleman et al. 2005), lo que posiciona a este tipo de estimación temporal como una capacidad cognitiva vital para los seres vivos (Gallistel, 1990).

En cuanto a los tipos de estimación temporal mencionados, Meck (1996) destaca dos diferencias fundamentales:

- *Flexibilidad*: Un organismo estimador exitoso, en el rango de segundos a minutos, es capaz de seguir la trayectoria temporal de un estímulo relevante para su supervivencia, por tanto debe ser capaz de reiniciar el proceso de evaluación de un intervalo conforme el estímulo cambia. La estimación de intervalos es un mecanismo flexible, en términos de su rango y características operativas. Los ritmos circadianos, en contraste, mantienen su periodicidad aún en ausencia del estímulo, por lo que requieren de periodos prolongados de adaptación para sincronizarse con condiciones ambientales distintas.
- *Precisión*: Los ritmos biológicos mantienen una rígida sincronización con características ambientales escasamente variables, por lo que sus mecanismos osciladores son muy exactos, de tal suerte que el reloj circadiano exhibe una variabilidad de alrededor del 1% del ciclo de 24 horas. La estimación de intervalos, al constituir un sistema de medición flexible, tiene un alto costo en términos de exactitud, mostrando variaciones de entre el 5 y el 60% del intervalo bajo evaluación (Gibbon et al. 1997).

Los mecanismos que subyacen a la estimación de intervalos por lo general han sido considerados como funcionalmente distintos de los mecanismos osciladores característicos de los ritmos biológicos (Meck, 1996). En contraste con esta postura, algunos autores sostienen que los mecanismos responsables de los ritmos biológicos interactúan con la estimación de intervalos mucho menores (Aschoff, 1985), indicando la posibilidad de que el reloj circadiano forme parte de una red de osciladores, empleada directamente en la medición de intervalos cortos. Estudios de lesión han evaluado el efecto de la remoción del núcleo supraquiasmático, orquestador de los ritmos circadianos, sobre la estimación de un intervalo corto, encontrando

que la eliminación de la periodicidad circadiana no produce alteraciones significativas en la habilidad de los organismos para medir una duración de 10 segundos (Lewis, Miall, Daan y Kacelnik, 2003), lo cual confirma la distinción funcional entre el sistema que subyace a la estimación de intervalos cortos y aquel responsable de los ritmos biológicos.

Esta distinción no ha sido suficiente para aclarar las bases fisiológicas de la estimación de intervalos que, a pesar de constituir un proceso de gran importancia conductual y perceptual, no ha recibido mucha atención. Actualmente, diversos grupos de investigación estudian esta conducta dentro de diversos contextos, entre los que se incluyen la cognición, la cronobiología, la psicofísica y la teoría tradicional de aprendizaje (Meck, 1996). Los estudios de estimación de intervalos son cruciales para determinar el sustento de dicha conducta, en especial cuando se ha observado que distorsiones en la percepción temporal acompañan una serie de desórdenes neurológicos.

1.1. Características básicas de la estimación de intervalos.

Las características más importantes de la estimación de intervalos han sido reveladas a partir de la aplicación de diversas tareas de reforzamiento (Ho, Velazquez-Martinez, Bradshaw y Szabadi, 2002) que fueron clasificadas por Killeen y Fetterman (1988) de acuerdo con la relación entre la respuesta del sujeto y el intervalo de tiempo bajo evaluación:

Tareas de estimación temporal inmediata: El sujeto responde a la duración de un intervalo mientras éste se encuentra vigente. El procedimiento de pico es un buen ejemplo de este tipo de tareas y consiste en una variante del procedimiento de Intervalo Fijo descrito por Ferster y Skinner en 1957 (Gibbon y Church, 1990), cuyos ensayos inician con la presentación de un estímulo discriminativo, generalmente una luz, cuya duración debe ser estimada por el animal, que aprende a emitir una respuesta una vez que el tiempo que determina al intervalo ha transcurrido. Una vez que el animal domina esta tarea, se introducen ensayos de prueba de manera aleatoria dentro de la sesión, en los cuales se omite el reforzador y se prolonga el tiempo

de exposición al estímulo discriminativo. Los ensayos prueba permiten medir la tasa de respuestas en función del tiempo de presentación del estímulo, la cual alcanza su punto máximo en un tiempo cercano al de entrenamiento, para disminuir posteriormente, mientras el intervalo sigue vigente.

Tareas de estimación temporal prospectiva: El animal es entrenado para emitir una respuesta en función de intervalos futuros, determinados generalmente por demoras entre la respuesta y la entrega del reforzador. Un ejemplo de este tipo de procedimientos es la tarea de elección intertemporal en la cual los sujetos son entrenados para responder a dos operandos, cada uno asociado a un reforzador de distinta magnitud que es entregado tras una demora, siendo usual que estos parámetros varíen en una de las palancas y sean mantenidos constantes en otra (Kheramin, Body, Ho, Velazquez-Martinez, Bradshaw, Szabadi et al. 2003). La respuesta ocurre en función de su consecuencia en términos de demora y magnitud. Es posible distinguir entre el efecto de demora y el de magnitud, al considerar el tiempo de demora en el que el porcentaje de respuesta es igual para ambos operandos, estando uno de ellos asociado a demora y el otro a magnitud.

Tareas de estimación temporal retrospectiva: El sujeto es entrenado para emitir respuestas discriminativas basadas en la duración de un intervalo que ya ha expirado. El procedimiento de bisección temporal es un excelente ejemplo de este último tipo de tareas. Además de constituir el paradigma empleado en el presente estudio, es un vehículo conveniente para la ilustración de las características fundamentales de la estimación de intervalos. La tarea consiste en entrenar a los sujetos para emitir respuestas diferenciales ante estímulos de distintas duraciones. Por ejemplo, pueden emplearse intervalos de entrenamiento de 2 y 8 segundos, cada uno asociado a una palanca, de modo que la presión del operando adecuado libera el reforzador. Una vez que los sujetos experimentales adquieren una discriminación temporal precisa, reflejada en el criterio de 80% de respuestas correctas en ambas palancas durante un número determinado de sesiones consecutivas, se presentan ensayos de prueba distribuidos de manera aleatoria en las

sesiones experimentales, en los cuales se introducen aleatoriamente duraciones intermedias a las de entrenamiento. Esto implica que el animal tiene la posibilidad de decidir si la duración novedosa es semejante a alguno de los intervalos de entrenamiento. Los datos son generalmente expresados como el porcentaje de emisión de respuestas en la palanca asociada con el estímulo largo (%L) (Ho et al. 2002). La función que relaciona este porcentaje con la duración de los estímulos es conocida como curva psicofísica o psicométrica y se caracteriza por ser generalmente sigmoide, de forma ojival y simétrica en un eje temporal logarítmico (Church, 1984) (ver figura 1).

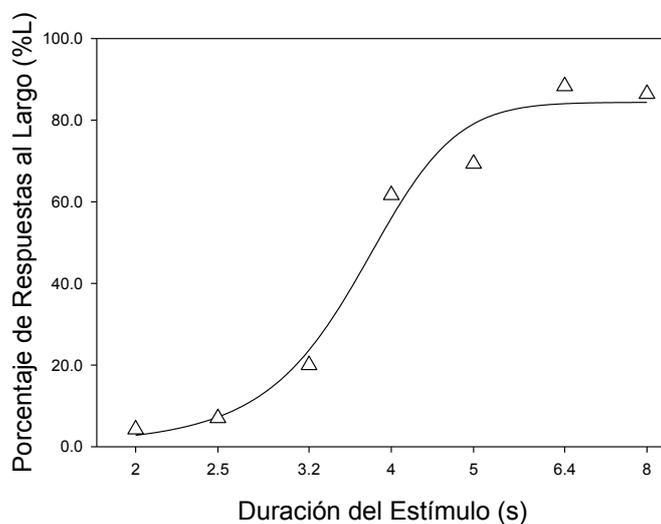


Figura 1: Ejemplo de una curva psicométrica, empleando duraciones de referencia de 2 y 8 segundos, mismas que se muestran en el eje de las abcisas. Las duraciones intermedias se distribuyen de acuerdo con una escala semilogarítmica. El porcentaje de respuestas al estímulo largo, en este caso a la palanca asociada con la duración de 8 segundos, se muestra en el eje de las ordenadas y aumenta junto con la duración del estímulo. La gráfica fue elaborada con valores arbitrarios en el programa Sigma Plot 11.

A partir de las funciones psicofísicas se derivan dos indicadores de importancia clave para el análisis del desempeño en tareas de estimación temporal que, si bien son generalizables a otros procedimientos, pueden diferir en nomenclatura y definición, de acuerdo con los distintos paradigmas (Grondin, 2001):

- *Punto de bisección o de equidad subjetiva (T_{50}):* constituye una medida de tendencia central. Corresponde a la duración que puede ser igualmente clasificada por el animal como larga o corta, debido a que no es fácilmente discriminable; como resultado el sujeto emite el 50% de sus respuestas a cada operando (Ho et al. 2002). Church y Deluty (1977) encontraron que el punto de bisección es cercano a la media geométrica de las duraciones. En el caso de los estímulos ejemplificados en la figura 1, T_{50} se localizaría aproximadamente en 4 segundos. Distintos grupos de investigadores, empleando diversas duraciones de referencia e intermedias confirmaron esta observación, que permanece como la más aceptada. Sin embargo, algunos estudios lo sitúan cercano a la media aritmética de las duraciones (Wearden et al. 1997). La localización de T_{50} tiene implicaciones importantes con respecto a la percepción de las duraciones de los estímulos, en cuanto a la naturaleza de la relación entre el tiempo real y la escala subjetiva que parece ser logarítmica en algunas situaciones y lineal en otras (Cordes, King y Gallistel, 2007).
- *Limen (Li):* es una medida de variabilidad que se obtiene de la mitad de la diferencia entre las duraciones correspondientes al 25 y 75% de respuestas al estímulo largo (Gibbon y Church, 1990). Constituye una medida de umbral.

A partir de estos indicadores se obtiene la Fracción de Weber (ver ecuación 1) una medida de la precisión relativa del proceso de estimación temporal llevado a cabo por el animal, que es aproximadamente constante a lo largo de un amplio rango de intervalos (Gibbon, 1977).

$$FW = Li / T_{50}$$

Ecuación 1: Obtención de la Fracción de Weber a partir de la división del limen (Li) entre el punto de bisección (T_{50}).

En general, el valor de T_{50} es interpretado como una función de la velocidad del mecanismo de reloj postulado como responsable del proceso de estimación de intervalos, de modo que su desplazamiento a la derecha reflejaría un decremento en ésta, en cambio, si el punto de bisección se desplaza a la izquierda, expresa una aceleración del mecanismo. Por otra parte, la Fracción de Weber está relacionada con la pendiente de la función, de tal suerte que si la pendiente disminuye se incrementa la Fracción de Weber, lo que se interpreta como un decremento en la sensibilidad del organismo al paso del tiempo (Velázquez – Martínez, Sánchez, Chávez, García y Balboa – Verduzco, 2004).

La Fracción de Weber refleja la aplicación de la Ley de Weber al desempeño en tareas de estimación temporal, misma que implica que la variabilidad de una distribución temporal debe mostrar un coeficiente constante de variación, expresado como σ/μ . Es decir, el juicio de duración sobre el tiempo transcurrido es variable, de modo tal que la desviación estándar es una fracción constante de la media. Gibbon et al. (1997) proponen que este coeficiente refleja una variación aleatoria en una variable multiplicativa de ruido o incertidumbre, la cual es proporcional al intervalo bajo medición, por lo que el organismo genera una distribución de estimaciones, cuyas curvas psicométricas se superponen cuando la duración del intervalo bajo evaluación es re-escalada como proporción de T_{50} (Velázquez–Martínez et al. 2004). De esta forma, el organismo cuenta con una escala subjetiva que puede ajustarse a cualquier intervalo a medir, manteniendo un error proporcional al tiempo objetivo (Gibbon et al. 1997).

La superposición de las curvas psicométricas empleando distintos intervalos de tiempo implica que la Fracción de Weber se mantiene constante (Gibbon, 1977). Esta característica es conocida como propiedad escalar (Church y Gibbon, 1982) y ha sido el principal foco de atención de los estudios recientes relacionados con la estimación de intervalos. La localización del punto de bisección y la aplicación de la ley de Weber al desempeño en tareas de estimación de intervalos son factores clave para la elaboración de distintos modelos explicativos.

1.2. Modelos de estimación temporal.

Se han propuesto diversos modelos para explicar los mecanismos de estimación temporal en el rango de segundos a minutos. Aún se discute cuál de ellos es el más adecuado. La mayoría de ellos comparten la noción de un reloj interno, cuya operación subyace a la conducta de estimación de intervalos y cuyas propiedades pueden ayudar a determinar las características cuantitativas del desempeño en las tareas previamente expuestas (Ho et al. 2002). La naturaleza del hipotético reloj es variable en cada uno de los modelos explicativos que consideran su existencia, mientras que otros basan el proceso de estimación de intervalos en distintos estados conductuales.

Estos últimos modelos proponen que el proceso de estimación de intervalos es análogo al funcionamiento de un reloj mecánico, que pasa por una serie de estados discretos fijos, siendo el estado actual el indicador de cuánto tiempo ha pasado desde el inicio del conteo (Church, 2003). El mejor ejemplo de este tipo de modelos se presenta a continuación:

Teoría conductual de la estimación temporal (Killeen y Fetterman, 1988): también conocida como BeT (*Behavioral theory of timing*), es una de las teorías más fuertes en el campo de la estimación de intervalos y fue explícitamente propuesta como alternativa a modelos cognitivos. El postulado fundamental del modelo consiste en que los animales son capaces de mantener registros de la duración de intervalos a partir de su paso por distintos estados conductuales discretos (Killeen y Fetterman, 1988; Church, 2003). La teoría propone la existencia de un marcapasos endógeno que emite pulsos a una tasa constante, mismos que son asociados con una serie de estados conductuales. La emisión de los pulsos sigue una distribución normal, por lo cual las conductas se llevan a cabo en distintos momentos del ensayo (Church, 2003). El modelo incorpora un importante componente motivacional, que implica que la tasa del marcapasos puede ser afectada por el *arousal* o activación, que es susceptible a la tasa de reforzamiento, dando así cuenta de la propiedad escalar de la estimación temporal (Killeen y Fetterman, 1988).

Una característica única de esta propuesta es la noción de que el periodo del marcapasos es inversamente proporcional a la tasa de reforzamiento, dado que un marcapasos de rápida operación permite una estimación más precisa que uno lento (Killeen, Fetterman y Bizo, 1997) e implica una menor permanencia en cada estado particular. Esto significa que los reforzadores demorados tendrán un mayor impacto en el contexto de la tasa de reforzamiento infrecuente (Killeen y Fetterman, 1988). Esta característica de BeT predice correctamente que bajo condiciones estables, la Fracción de Weber disminuirá como función de la densidad de reforzamiento (Bizo y White, 1997; Ho et al. 2002). Asimismo, dado que la cadena de estados conductuales que lleva a la emisión de la respuesta es reforzada, el animal debe reproducir el patrón ante intervalos de duración semejante. Los estímulos discriminativos anteceden la emisión de la conducta. (Killeen y Fetterman, 1988). Por esto, existe un componente mnémico, encargado del almacenamiento en memoria de las conductas llevadas a cabo por el organismo, además de un proceso de toma de decisión, dado que la fuerza de las diferentes secuencias conductuales define cuál de ellas se realizará.

Teoría de aprendizaje temporal (Machado, 1997): este modelo, conocido por sus siglas en inglés como LeT (*Learning to time*), constituye una interesante derivación del modelo conductual previamente expuesto. Propone que el animal pasa por una serie de estados conductuales conforme transcurre el intervalo a medir. Para llevar a cabo este proceso, se requiere de la interacción de tres elementos que constituyen el mecanismo de estimación de tiempo: una organización de estados conductuales, un vector de vínculos asociativos y una serie de respuestas instrumentales (Machado y Guilhardi, 2000). Al iniciarse el intervalo, las unidades correspondientes a los estados conductuales se encuentran activas. Conforme pasa el tiempo, se activan las siguientes unidades y se establecen asociaciones entre estados conductuales y las respuestas instrumentales. La magnitud de las asociaciones depende del resultado que tenga la conducta en cada ensayo (Machado y Guilhardi, 2000). LeT se ajusta de manera adecuada a la propiedad escalar de la estimación temporal. Además de predecir correctamente la localización de T_{50} , es consistente con toda una serie de resultados

experimentales de manera más precisa que otros modelos (Machado y Pata, 2005), lo cual posiciona al modelo, más que como una extensión de BeT, como una teoría alterna, con suficiente fuerza explicativa (Church, 2003).

Los modelos que asumen la existencia de relojes basados en estados conductuales tienen una pobre predicción de las bases biológicas de la estimación de intervalos, pues requieren de una arquitectura pre-existente y altamente específica. Por otra parte, tienden a ignorar la pregunta de cómo aprende el organismo la relación entre los estímulos o marcadores temporales y las series de estados conductuales (Church, 2003).

Existe otro grupo de modelos, cuya medición del tiempo corresponde a un cambio suave y continuo en un valor único, de manera análoga a un reloj de arena. Este mecanismo es generalmente conocido como un proceso de decaimiento, en el cual el marcador temporal produce un incremento considerable en el valor, que luego decae continuamente conforme transcurre el intervalo. Estos modelos de decaimiento son capaces de asociar un cierto nivel de estimulación con la recompensa. Esta idea ha sido implementada en diversas versiones, algunas de las cuales corresponden a modelos que emplean un único integrador (Schmajuk, Buhusi y Gray, 1999) y otras a modelos más sofisticados que asumen la existencia de diversos integradores:

Modelo de múltiples escalas temporales (Staddon y Higa, 1999): también conocido como MTS (*Multiple time scales*) por sus siglas en inglés, está basado en la existencia de múltiples integradores temporales. Cada uno de ellos decae a su propia tasa y se establece una asociación entre los patrones de decaimiento y la aparición de reforzadores. Debido a que cada integrador funciona a una tasa distinta, no es necesario realizar un ajuste de su funcionamiento básico para sincronizarlo con la escala temporal propia de la tarea vigente. Simplemente, la porción del modelo con mejor ajuste a la escala actual se convierte en el reloj primario (Church, 2003). A pesar de ciertas dificultades relacionadas con la parsimonia del sistema, los modelos de

decaimiento se mantienen como los más plausibles en términos biológicos, ya que correlacionan con la actividad de redes neuronales.

Modelo de osciladores múltiples (Church y Broadbent, 1990): propone la existencia de un conjunto de osciladores, funcionando a escalas temporales diferentes, en lugar de un único marcapasos con una tasa determinada (Ho et al. 2002). Al presentarse un estímulo que indica el inicio de un intervalo a medir, los osciladores se reinician y vuelven a sus correspondientes tasas. Un mecanismo de registro detecta el estado de cada uno y permite al organismo discriminar entre distintos intervalos (Church y Broadbent, 1990). La memoria de trabajo registra el estado de cada oscilador en el momento en que se entrega el reforzador, así como la relación entre ellos. La información de la memoria de trabajo es consolidada en la memoria de referencia. Existe también un proceso de toma de decisión, que se basa en un mecanismo comparador que pondera el tiempo vigente con el almacenado en memoria. Si el valor obtenido supera cierto umbral el organismo emite una respuesta (Church, 1997).

Además de las teorías expuestas existe un modelo formal que es capaz de explicar las principales características de la estimación temporal en el rango de segundos a minutos y que da sustento teórico al presente estudio, por lo que se revisa de manera más extensa a continuación.

1.3. Teoría de expectancia escalar.

También conocida como SET por sus siglas en inglés (*Scalar expectancy theory*), fue propuesta por Gibbon en 1997 y está diseñada para describir la conducta de estimación temporal en animales y humanos, además de tener validez interna y externa (Church, 2003). Meck (2003) destaca que el modelo es capaz de explicar la mayoría de los datos conductuales y es compatible con la realización de estudios anatómicos y farmacológicos, cuyo objetivo es encontrar los mecanismos neuropsicológicos que subyacen a la conducta de estimación de intervalos.

SET es un modelo formal cuyo desarrollo matemático se ajusta a la propiedad escalar de la estimación temporal, además de ser capaz de predecir la localización del punto de bisección y el momento en el que el organismo empieza a responder en función de su percepción del paso del tiempo (Gibbon, 1977). Por otra parte el modelo es adecuado para la explicación de diversos trabajos experimentales, describiendo las propiedades formales de los procesos cognitivos que operan cuando un individuo resuelve una variedad de discriminaciones temporales (Meck, 1996) y provee tanto el marco conceptual como los procedimientos experimentales necesarios para la investigación de los procesos farmacológicos involucrados en el procesamiento temporal, lo cual lo posiciona como uno de los más aceptados junto con BeT.

La teoría está basada en los principios derivados de la observación de las principales características de la estimación temporal, que ya han sido expuestos. Para dar cuenta de ellos, propone un modelo en términos de procesamiento de información (Gibbon y Church, 1981) que postula la existencia de tres procesos: percepción, memoria y decisión.

El componente perceptual está compuesto por un mecanismo de reloj, cuya acción se complementa por los procesos mnémico y de toma de decisión (Church, 2003), según se ilustra en la figura 2. El reloj está integrado por un marcapasos, que emite pulsos a una tasa constante, los cuales son contados por un acumulador, siempre y cuando el interruptor esté cerrado. Los pulsos acumulados son almacenados en la memoria de trabajo. Si el sujeto es reforzado cuando se tiene un número particular de pulsos, éste se almacena en memoria a largo plazo. Esta información puede ser empleada en ensayos posteriores, a partir de la comparación entre los pulsos actuales y los almacenados como significativos. Si la comparación, llevada a cabo dentro de un proceso de toma de decisión, supera cierto umbral, se emite una respuesta conductual (Ho et al. 2002).

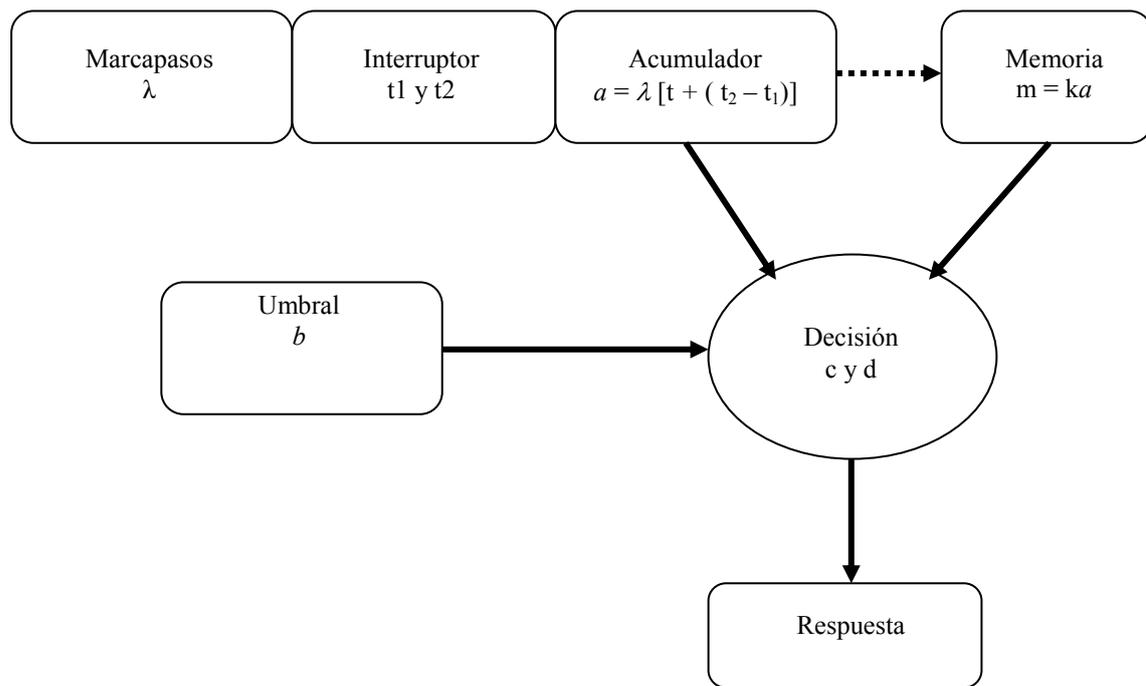


Figura 2: representación del reloj interno propuesto como sustrato de la estimación de intervalos. De acuerdo con el modelo, un oscilador endógeno emite pulsos a una tasa constante. Si el interruptor está cerrado, los pulsos ingresan a un acumulador. Al medir la duración de un intervalo, el organismo compara el número de pulsos en memoria de trabajo con una muestra de duraciones previamente registradas, almacenadas en memoria a largo plazo. Si el número es aproximadamente igual a la muestra, se emite una respuesta. Se muestran las fórmulas correspondientes a cada componente, mismas que son explicadas a detalle a continuación.

El marcapasos puede emitir pulsos a partir de diversas series de tiempo, que pueden incluir intervalos fijos entre pulsos, distribuciones aleatorias exponenciales de intervalos entre pulsos, e intervalos fijos durante la estimación de un periodo de tiempo mayor. (Church, 2003). Considerando las duraciones empleadas en la mayor parte de las investigaciones, otras fuentes de variabilidad escalar sobrepasan los efectos de la variabilidad del marcapasos, lo cual implica que cualquiera de las opciones mencionadas se mantiene plausible (Gibbon, 1992).

La presentación de un estímulo cierra el interruptor, permitiendo el flujo de pulsos hacia el acumulador. La idea informal es que el interruptor inicia el reloj. Sin embargo, también se asume que existe una latencia entre la ocurrencia del estímulo y el inicio del proceso de estimación, que supone una variable normalmente distribuida con una media y una desviación estándar (ver ecuación 2).

$$t_1 = \eta (\mu_{t1}, \sigma_{t1})$$

Ecuación 2: la latencia de cierre del interruptor consiste en una variable η , a la cual corresponden una media (μ_{t1}) y una desviación estándar (σ_{t1}).

Asimismo, el interruptor tiene una latencia determinada al volver a abrirse, una vez que el estímulo termina (ver ecuación 3):

$$t_2 = \eta (\mu_{t2}, \sigma_{t2})$$

Ecuación 3: latencia del interruptor al abrirse, hacia el final del estímulo, definida por una variable con las mismas características que la latencia de cierre.

Por tanto, el tiempo total de cierre del interruptor que permite el flujo de pulsos hacia el acumulador es igual a la resta de las latencias ($t_2 - t_1$) (Church, 2003). Partiendo de esto, es posible determinar el número de pulsos acumulados, lo cual tiene implicaciones importantes sobre la precisión del proceso de estimación temporal (Church, 1984): si los pulsos emitidos son iguales a λ y el interruptor se cierra tras la presentación del estímulo discriminativo, la cantidad de pulsos sería igual a λ multiplicada por el tiempo de cierre del interruptor (ver ecuación 4).

$$a = \lambda t$$

Ecuación 4: el número de pulsos que alcanzan el acumulador (a) es igual a los pulsos emitidos (λ) por el tiempo de cierre del interruptor (t), en un caso en el que no se considera latencia.

Por tanto, al introducir las latencias de cierre y apertura, se obtiene la ecuación 5:

$$a = \lambda [t + (t_2 - t_1)]$$

Ecuación 5: número de pulsos acumulados (a) a partir de los emitidos (λ), multiplicados por el tiempo de cierre del interruptor (t), más la latencia total, obtenida a partir de la resta de las latencias de apertura y cierre (Church, 2003).

Los resultados experimentales son más congruentes con esta última ecuación, la cual es consistente con la noción de un estimador como un organismo capaz de detener y reiniciar el proceso de estimación de intervalos de acuerdo con las características del estímulo. El valor en el acumulador es sólo uno de los tres inputs que determinan el proceso de toma de decisión. Los otros dos son la memoria y el umbral

En relación a la memoria, se sabe que ésta participa en la estimación temporal mediante el almacenamiento y la extracción de duraciones. El primero ocurre cuando tras una duración determinada (t) el organismo recibe un reforzador, lo que produce el almacenamiento del número de pulsos del acumulador en la memoria (m). Sin embargo, las duraciones almacenadas generalmente difieren de la original, siendo más cortas o largas, lo que supone la introducción de una constante multiplicativa que altera el valor de a (Meck, 1983), según se ilustra en la ecuación 6:

$$m = ka$$

Ecuación 6: el número de pulsos almacenado en memoria (m), tras la obtención de un reforzador es igual a los pulsos emitidos (a) multiplicados por una constante (k).

El valor de la constante k tiene una distribución aproximadamente normal (Church, 2003) y puede ser afectado por el valor del reforzador (Meck, 1983), diferencias individuales y la función de sistemas de neurotransmisión como el colinérgico (Meck, 2003). En condiciones estándar, debe ser cercano a 1 (Meck, 1986) para permitir diferenciar entre tiempo percibido y recordado. El reforzamiento de la conducta emitida por el organismo produce actualizaciones en el valor de m , lo cual promueve el almacenamiento de distribuciones normales de distintas representaciones del mismo intervalo.

El proceso de comparación se basa en la información producida por los mecanismos anteriormente descritos. Consiste en la ponderación de los pulsos acumulados con los almacenados previamente en la memoria. Dado que el almacenamiento ocurre como una

distribución normal de diversas duraciones recordadas, relacionadas con el mismo estímulo, se elige aleatoriamente el valor de m que será comparado con los pulsos del acumulador (a) (Church, 1997).

La comparación de a y m se lleva a cabo por medio de una razón, ilustrada en la ecuación 7. Este método permite que la desviación estándar sea proporcional a la media, a distintas duraciones.

$$c = |m - a| / m$$

Ecuación 7: la comparación (c) de los pulsos del acumulador (a) con los almacenados (m), es posible al establecer la razón entre su diferencia absoluta y el número de pulsos acumulados en memoria.

El mecanismo de toma de decisión se basa en la comparación del tiempo percibido, es decir, el valor del acumulador (a), el tiempo recordado (m) y un criterio b , que implica la existencia de un umbral, distribuido de manera normal, cuyo valor es extraído de manera aleatoria, lo cual indica variabilidad a este nivel. Cuando la comparación es menor que b , la respuesta se lleva a cabo (ver ecuación 8) (Church, 2003).

$$d = |a - m| / m < b$$

Ecuación 8: ilustra el proceso de toma de decisión, el cual incluye la comparación del valor del acumulador (a) con el tiempo recordado (m), en conformidad con la ecuación 7. Si el valor es menor a b , el organismo responde.

El sólido planteamiento de SET permite su aplicación a investigaciones dirigidas al descubrimiento de los mecanismos fisiológicos que dan sustento al hipotético reloj interno, los cuales aún no están completamente establecidos. Se ha sugerido que el sistema dopaminérgico tendría un importante papel regulador en el mecanismo de estimación temporal. Estos datos son abordados a continuación.

2. Dopamina y estimación de intervalos.

2.1. Sistema dopaminérgico.

La dopamina (DA) es un neurotransmisor del grupo de las catecolaminas, que incluye a la epinefrina y norepinefrina. El 80% de las catecolaminas ubicadas en el Sistema Nervioso Central corresponde a este neurotransmisor, cuya estructura está constituida por un grupo amino (un núcleo catecol, compuesto por un anillo de benceno, unido a dos grupos hidroxilos) y una cadena de etilamina (Cooper, Bloom y Roth, 2003), según se ilustra en la figura 3:

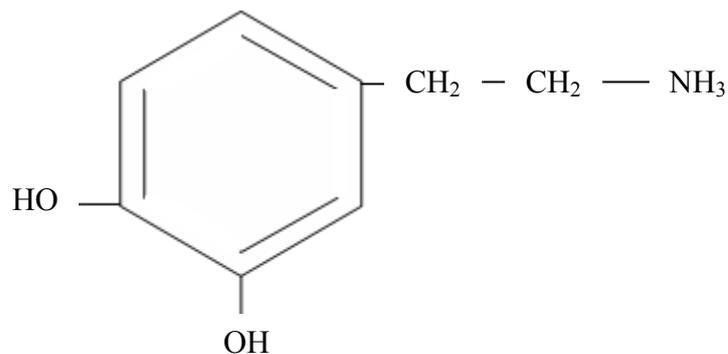


Figura 3: Estructura química de la dopamina.

La vía de síntesis de este neurotransmisor se inicia con la fenilalanina, que en su mayoría ingresa al organismo a través de la dieta. Mediante la acción de la enzima fenilalanina hidroxilasa, este aminoácido se transforma en tirosina, que a su vez es convertido en L - 3 - 4 - dihidroxifenilalanina (L - DOPA), como resultado de la acción de la tirosina hidroxilasa. La descarboxilación de este precursor, por medio de la L - Hidroxilasa de Aminoácidos Aromáticos (AADC, por sus siglas en inglés), da como resultado la dopamina

El sistema dopaminérgico suele ser agrupado en vías o subsistemas, de los cuales las proyecciones más aceptadas son las siguientes (Cooper et al. 2002) (Ver figura 4).

- *Vía nigro – estriatal*: se origina en el cerebro medio, en la sustancia nigra *pars compacta* y el área ventral tegmental. Proyecta hacia el estriado dorsal e inerva al núcleo caudado y putamen. Esta vía participa en el control de la conducta motora simple y compleja, a través de la coordinación de los circuitos que conectan al mesencéfalo, ganglios basales, tálamo y corteza. Su degeneración produce temblores, rigidez y akinesia, por lo que se relaciona con el mal de Parkinson (Iversen y Iversen, 2007).
- *Vía mesolímbica*: tiene su origen en el área ventral tegmental, donde surgen proyecciones hacia el núcleo accumbens, el tubérculo olfatorio y otras regiones del sistema límbico. Participa en la codificación de la saliencia, relevancia y valor afectivo de los reforzadores, por lo que es de gran importancia en procesos motivacionales, de aprendizaje y de adicción, al igual que en la esquizofrenia y el trastorno de déficit de atención con hiperactividad (Iversen y Iversen, 2007).
- *Vía mesocortical*: se origina en el área ventral tegmental y de ahí proyecta a la corteza prefrontal. Participa en procesos de aprendizaje, memoria de trabajo, planificación, resolución de problemas y atención (Carlson, 2006).
- *Vía tuberoinfundibular*: tiene su origen en los núcleos paraventricular y arcuato del hipotálamo. A través de sus proyecciones, transporta la dopamina a la pituitaria anterior, lo que permite la inhibición de la hormona prolactina, relacionada con la secreción de leche y la conducta sexual (Petty, 1999).

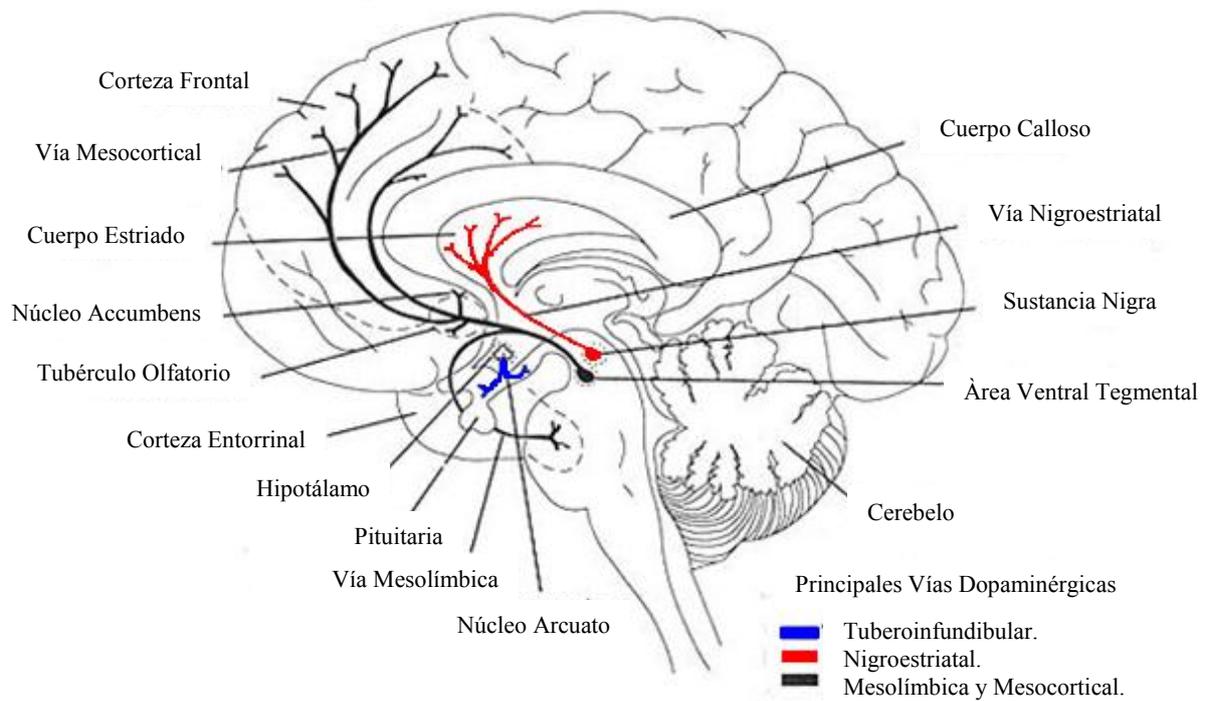


Figura 4: Esquema de las principales vías dopaminérgicas. Las vías mesolímbica y mesocortical son ilustradas con líneas negras. La nigroestriatal se muestra en rojo y la tuberoinfundibular en azul.

El efecto de la dopamina está mediado por distintos tipos de receptores metabotrópicos de siete dominios transmembranales, acoplados a proteínas G. Estos receptores han sido divididos en dos grandes familias (Carlson, 2006):

- *Familia D_{1-Like}*: comprende a los subtipos de receptores D₁ y D₅. Se caracterizan por incrementar la actividad de la adenilato ciclasa por medio de proteína G (Cooper et al. 2003).
- *Familia D_{2-Like}*: incluye a los subtipos de receptores D₂, D₃ y D₄. Su activación produce la inhibición de la adenilato ciclasa, además de evitar la entrada de Ca²⁺ y fomentar la permeabilidad al K⁺.

A partir de esta clasificación, es posible clasificar a los receptores D₁ como principalmente excitatorios, dada su localización y facilitación del disparo de la neurona, mientras que los D₂ son inhibitorios, ya que producen hiperpolarización. La distribución de los receptores es mostrada en la tabla 1.

Receptor		Localización
Familia D ₁ - LIKE	D ₁	Estriado y corteza.
	D ₅	Hipotálamo e hipocampo.
Familia D ₂ - LIKE	D ₂	Estriado, sustancia nigra <i>pars compacta</i> y pituitaria.
	D ₃	Tubérculo olfativo, núcleo accumbens e hipotálamo.
	D ₄	Corteza frontal, médula y mesencéfalo.

Tabla 1: Localización de la mayor densidad de los distintos receptores dopaminérgicos en el SNC (tabla generada a partir de la información en Cropley et al. 2006).

Dentro de los esfuerzos por determinar papeles específicos para cada receptor, se ha encontrado que los receptores D₁ de la corteza prefrontal están relacionados principalmente con memoria espacial, los de núcleo caudado y putamen con generación de secuencias y relaciones espaciales y los de la corteza prefrontal dorsolateral con procesos cognitivos alterados en pacientes esquizofrénicos. Los receptores D₂ tienen importantes implicaciones en algunos trastornos neurológicos y psiquiátricos, como el mal de Parkinson y la corea de Huntington, relacionados con el decremento en la densidad de este tipo de receptores. En pacientes esquizofrénicos, este decremento se ha relacionado con la mala ejecución en tareas de categorización que requieren de estimación temporal, lo cual sugiere la participación de estos receptores en el estriado en el desempeño de pruebas relacionadas con la estimación de intervalos (Cropley et al. 2006).

En décadas pasadas, se había considerado que las sinapsis esenciales para los efectos conductuales mediados por la dopamina, se encontraban exclusivamente en estructuras telencefálicas, principalmente en el caudado putamen y núcleo accumbens. En estas regiones, se encuentran receptores D₁ y D₂ en abundancia. Actualmente, la evidencia sugiere que los receptores mesencefálicos de dopamina pueden jugar un importante papel en la conducta de los organismos. La sustancia *nigra pars reticulata* posee una gran cantidad de receptores, principalmente del subtipo D₁. Al mismo tiempo, las neuronas dopaminérgicas de la sustancia *nigra pars compacta* inervan a la sustancia *nigra pars reticulata*, a través de sus dendritas ventrales, capaces de liberar dopamina (Cheramy et al. 1981; en Meck, 1996). Se ha demostrado que los receptores D₁ y D₂ juegan papeles distintos, pero interactivos, en la transmisión dopaminérgica, de tal forma que la estimulación de los D₁ es requerida para la expresión de los fenómenos mediados por el receptor D₂. Así, la actividad de los receptores D₁ de la sustancia *nigra* pueden tener implicaciones importantes en todas las conductas mediadas por dopamina, en animales neurológicamente intactos (Meck, 1996).

La inactivación a gran escala de la función dopaminérgica central, a través de antagonistas, así como las lesiones neurotóxicas del cerebro medio, resultan en un síndrome conductual semejante al mal de Parkinson en humanos (en Meck, 1996), cuyas manifestaciones en ratas incluyen akinesia y catalepsia, afecta el desempeño en tareas y situaciones conductuales que involucran la estimación de la duración de estímulos y eventos.

Además, se ha documentado que el núcleo accumbens es el sitio primario que subyace al registro del valor del reforzador mediante estudios de lesión en el área, encontrándose que la autoadministración de anfetamina directamente en este núcleo disminuye significativamente con dichas lesiones. Por el contrario, algunas lesiones más específicas, como las realizadas en el caudado – putamen, pero no en el núcleo accumbens (Amalric y Koob, 1987; Meck, 1996), realizadas mediante la microinyección de antagonistas dopaminérgicos o lesiones neurotóxicas de terminales, han mostrado efectos diferenciales en la conducta, dependiendo de la conducta

bajo estudio o de la vía dopaminérgica en cuestión. Asimismo, se ha observado que la depleción de dopamina en el caudado – putamen, pero no en el núcleo accumbens, produce un déficit en la discriminación de la frecuencia de presentación de estímulos, así como asociaciones simples estímulo – respuesta.

2.2. Hipótesis dopaminérgica de la estimación temporal.

El primer hallazgo que relaciona a la estimación temporal en el rango de segundos a minutos con la función dopaminérgica fue la posibilidad de incrementar la velocidad del hipotético reloj interno mediante la administración de un agonista dopaminérgico indirecto no selectivo, como la meta amfetamina, reflejado en un desplazamiento de las funciones psicométricas a la izquierda (Maricq, Roberts y Church, 1981). Este efecto también fue observado en el procedimiento de pico como un desplazamiento de la curva hacia la izquierda, es decir, una disminución en el tiempo pico y punto de bisección. El hallazgo fue interpretado de acuerdo con la teoría de expectativa escalar, considerando a la dopamina como reguladora de la velocidad del reloj, por lo que se concluyó que la droga produjo una aceleración en la velocidad con la cual el marcapasos emite los pulsos que permiten al organismo estimar el tiempo. Asimismo, el descubrimiento significó el inicio de la búsqueda de las bases neuroquímicas de la estimación temporal. Sin embargo, el reporte de desplazamientos en las curvas tras tratamientos con agonistas y antagonistas dopaminérgicos, así como cambios en la Fracción de Weber indica que el animal no sólo exhibió fenómenos de sobreestimación y subestimación de las duraciones, sino también cambios en su sensibilidad al paso del tiempo. El hecho de que las alteraciones en la Fracción de Weber no fueran tomadas en cuenta, a favor de los desplazamientos en las curvas, implica que los posibles efectos de los fármacos sobre otros componentes del reloj, como el interruptor atento o el mecanismo de toma de decisión, fueron pasados por alto.

Dos años más tarde, el mismo grupo de investigadores describió el efecto diferencial de metanfetamina y haloperidol (antagonista dopaminérgico con afinidad a los receptores D₂)

empleando la tarea de bisección temporal. El efecto del antagonista fue descrito como un desplazamiento de la curva a la derecha, reflejando un decremento en la velocidad del reloj. Además, los efectos de la amfetamina eran bloqueados al administrarse junto con el neuroléptico (Maricq y Church, 1983). Estos descubrimientos dieron un fuerte impulso inicial a la teoría de la regulación dopaminérgica, en la búsqueda de los mecanismos farmacológicos y fisiológicos de la estimación temporal, en el rango de segundos a minutos, confirmando la suposición de que el sistema dopaminérgico es el encargado de la regulación de la velocidad del reloj interno propuesto por la teoría de expectancia escalar (Meck, 1986). A partir de estos estudios, Meck (1986) llevó a cabo una investigación sistemática en la que evaluó los efectos de diferentes neurolépticos (clorpromazina, pimozida, promazina y espiroperidol) sobre la estimación del tiempo, encontrando que su capacidad para disminuir la velocidad del reloj, reflejada en el desplazamiento de las curvas a la derecha, se correlacionaba positivamente con la afinidad de los fármacos por el receptor D₂, reafirmando los hallazgos previos y postulándolo como el principal responsable de la función reguladora del reloj.

Partiendo de estos datos y de los conocimientos sobre las proyecciones dopaminérgicas a través del sistema mesolímbico, mesocortical y nigro – estriatal, a regiones como la corteza prefrontal y orbitofrontal, hipocampo, amígdala, núcleo accumbens y caudado – putamen; se propuso alguna relación entre estas estructuras y la localización del marcapasos interno. Concretamente, Meck (1996) sugirió a los ganglios basales y sus conexiones tálamo – corticales, de modo tal que el funcionamiento de estas regiones implicaría la existencia de diversos osciladores corticales y talámicos (Matell et al. 2003). Por otra parte, las neuronas de la sustancia nigra pars compacta, junto concircuitos cortico – estriatales se postulan como fundamentales en el inicio y mantenimiento de la integración temporal (Matell y Meck, 2000), misma que es integrada dentro de un circuito cortico – estriado – talámico – cortical (Matell y Meck, 2003).

Estos descubrimientos fundamentaron la hipótesis dopaminérgica de la estimación temporal, cuyo principal planteamiento consiste en que la dopamina es el neurotransmisor encargado de la

regulación de la velocidad con la que el marcapasos emite pulsos. El aumento en la cantidad de dopamina disponible será acompañado de un incremento en la cantidad de pulsos en el mismo lapso de tiempo, lo cual es consistente con un aumento en la velocidad del reloj (Meck, 1996). La hipótesis dopaminérgica fue inicialmente confirmada por diversos autores. La administración de anfetamina (dosis de 0.3 a 2.0 mg/kg) en pichones, probada en un procedimiento de pico, produjo un desplazamiento de la curva a la izquierda, como era de esperarse (Kraemer, Randall, Dose y Brown, 1997). La administración de otros fármacos, con afinidad por los receptores D₂ - Like, produjo un decremento en la velocidad del reloj. Meck (1996) destaca estos hallazgos al proponer que, a pesar de la participación de otros sistemas de neurotransmisión, la dopamina es la principal responsable de la regulación de la velocidad del hipotético reloj interno.

Sin embargo, la teoría dopaminérgica no ha sido confirmada por otros autores, quienes no han podido replicar estos resultados, empleando fármacos afines al receptor D₂. Así, Cevik (2003) encontró que, al administrar 0.5 mg/kg de meta anfetamina vía subcutánea (s.c.) entre 20 y 100 minutos antes de la prueba, a ratas entrenadas en el procedimiento de bisección temporal, se producía una tendencia a responder al estímulo de 8 segundos como si fuera corto, sin modificar las respuestas al estímulo de 2 segundos. Esto produce un incremento en la Fracción de Weber, sin alterar el punto de bisección. Los únicos resultados congruentes con la hipótesis dopaminérgica se obtuvieron al administrar la droga entre 100 y 180 minutos antes de la sesión, es decir, en tiempos que permiten a la sustancia alcanzar su máxima concentración y decaer. Maricq (1983) había administrado la metanfetamina 30 minutos antes de la sesión, observando un desplazamiento a la izquierda de las curvas psicométricas. Este resultado, incongruente con el encontrado por Cevik (2003), sugiere que el efecto observado en la estimación temporal puede estar sujeto a una gran variabilidad, en parte explicada por diferencias en la sensibilidad de diferentes cepas a la droga, o por diferencias en la vía de administración. Chiang, Al-Ruwaitea, Mobini, Ho, Bradshaw y Szabadi (2000) administraron d - anfetamina, encontrando las curvas psicométricas se aplanaban, lo cual sugiere una disminución en la Fracción de Weber, sin alteraciones en los puntos de bisección hacia las duraciones cortas. Estos hallazgos no son

congruentes con la hipótesis dopaminérgica, que predice que el efecto de los agonistas dopaminérgicos consiste en el desplazamiento a la izquierda de la curva. Existen diversos estudios que no han obtenido resultados congruentes con esta predicción (Chiang, et al. 2000; McClure, Saulsgiver y Wynne, 2005; Odum, Lieving y Schaai, D.W. 2002; Santi, Coppa y Ross, 1995), sugiriendo que los efectos previamente reportados podrían deberse a cambios en la sensibilidad al paso del tiempo, reflejados en alteraciones en los valores de la Fracción de Weber, mismos que probablemente sean resultado de efectos sobre procesos atencivos y motores. Así, Odum et al. (2002) señalan que la anfetamina podría tener efectos sobre la tasa de respuesta o en la atención ante eventos temporales. Del mismo modo, los efectos observados con anfetamina y haloperidol podrían ser resultado de la interacción de ambos fármacos con otros procesos cognitivos o con algún otro componente del reloj interno, en lugar de un efecto directo sobre la velocidad del marcapasos (Cevik, 2003). Los efectos diferenciales de distintos agonistas y antagonistas dopaminérgicos han sido ampliamente explorados, obteniéndose resultados que aportan más contradicciones, probablemente debido a diferencias metodológicas (Santi et al. 2001; Harper, Bizo y Peters, 2006).

Un problema adicional con respecto a la hipótesis dopaminérgica consiste en la suposición de un único reloj, regulado por dopamina y encargado de la estimación de intervalos cortos en todos los planos, de modo que su alteración puede ser igualmente detectada en tareas de estimación temporal retrospectiva, inmediata y prospectiva. Se ha demostrado que animales sometidos a las mismas intervenciones farmacológicas, probados en distintos procedimientos de estimación temporal, no presentan los mismos cambios (Chiang et al. 2000), lo cual sugiere que cada uno de los tipos de estimación de intervalos puede tener sustratos neuronales diferentes, implicando la existencia de diversos relojes internos con mecanismos independientes.

A pesar de los resultados contradictorios, la hipótesis dopaminérgica de la estimación temporal se mantiene como la explicación más aceptada de las bases farmacológicas de la estimación de intervalos, especialmente en cuanto se refiere a la regulación de la velocidad del marcapasos.

Las contradicciones en los resultados obtenidos pueden tener diversas razones, como las diferencias entre estimulación pre y post sináptica (Trujillo – Pisanty, 2007), el uso de diferentes tareas de estimación temporal o la presencia de un integrador de información temporal, que podría localizarse en la corteza prefrontal y orbitofrontal.

3. Corteza orbitofrontal.

Durante el siglo pasado, la investigación sobre las funciones de la corteza orbitofrontal ha permanecido rezagada en comparación con la de otras áreas del cerebro, a pesar de constituir una región de gran extensión. Entre las razones que explican este retraso se encuentran las dificultades metodológicas para acceder a la región, la complejidad que implica el establecimiento de homologías entre especies, la inconsistencia en la subdivisión de la región y la incertidumbre con respecto a la manera de aproximarse a sus funciones. En los últimos 15 años se ha generado un interés creciente por el estudio de dicha región, que ha generado avances dramáticos en el conocimiento que se tiene con respecto a su estructura, conexiones y contribuciones funcionales a la sensación, la emoción, el procesamiento de información, la toma de decisiones y la memoria.

3.1. Anatomía.

La corteza orbitofrontal de los primates ocupa la superficie ventral de la región frontal del cerebro (ver figura 5) y puede definirse como la parte de la corteza prefrontal que recibe proyecciones provenientes del núcleo magnocelular medial del tálamo mediodorsal (Fuster, 1997), en contraste con otras áreas prefrontales que reciben proyecciones de otras partes del tálamo mediodorsal. Cada porción específica del tálamo mediodorsal está conectada a más de una región arquitectónica de la corteza prefrontal.

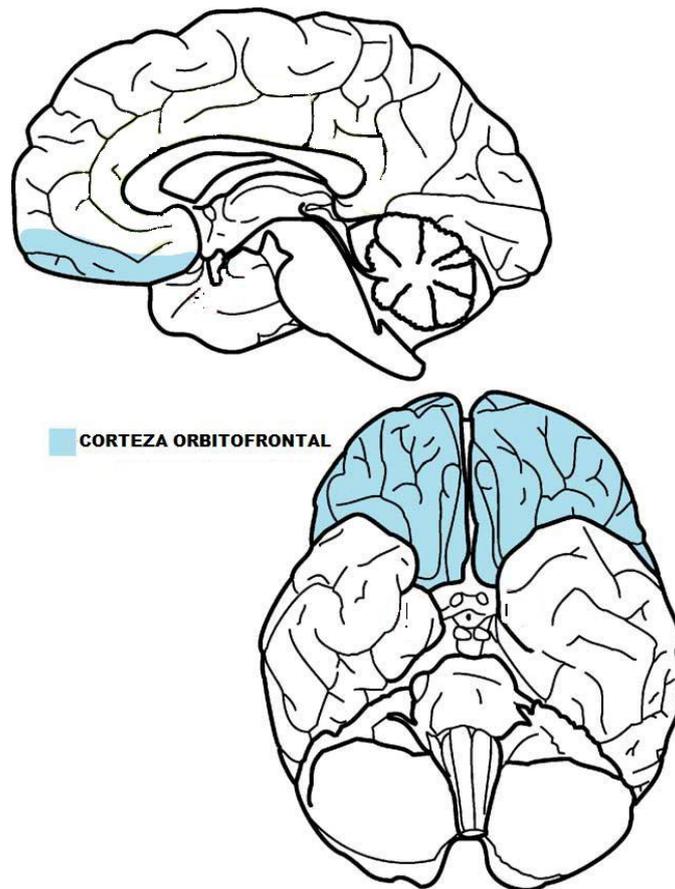


Figura 5: Ubicación de la corteza orbitofrontal (azul) en un corte medio sagital (arriba) y una vista ventral (abajo) de un cerebro humano.

La corteza orbitofrontal ha sido subdividida en múltiples ocasiones. Brodmann (1905; en Kringelbach, 2004) fue el primero en realizar un análisis citoarquitectónico del cerebro humano y de primates, asignando números a tres distintas áreas: 10, 11 y 47 (ver figura 6, panel a). Walker (1940; en Kringelbach, 2004) realizó una investigación más exhaustiva, encontrando que la región no era tan homogénea como había sido descrita hasta entonces. Propuso dividirla en cinco áreas: 10 y 11 en el polo frontal; 12 y 13 en las superficies orbitales lateral y medial; y 14 en la convexidad ventromedial (Kringelbach, 2004) (ver figura 6, panel b). Petrides y Pandva (1994; en Kringelbach, 2004) llevaron a cabo un nuevo mapeo de la región, empleando distintas pruebas histoquímicas e inmunohistoquímicas y propusieron nombrar las porciones laterales de los giros orbitofrontales como el área 47/12 (ver figura 6, panel c). El mapa más reconocido y preciso a la fecha es el de Carmichael y Price (1994; en Price, 2006a), quienes llevaron a cabo una subdivisión más precisa de la región, de acuerdo con la propuesta de

integrar funcionalmente a la corteza orbitofrontal con regiones de la corteza anterior cingulada, en un complejo llamado corteza orbital y medial prefrontal (OMPFC, por sus siglas en inglés) (Ongür y Price, 2000). Este estudio llevó a la identificación de 20 subregiones, varias de las cuales son subdivisiones de áreas previamente establecidas. De este modo, se consideran las áreas 10m en la superficie medial del hemisferio, y 10o, 11m y 11l en la superficie orbital rostral. En la región central de la superficie orbital se localizan las áreas 12r, 12l, 12m, 12o, 13a, 13b, 13m, 13l, 14r y 14c. Finalmente, se reconocieron cinco áreas en la corteza orbital posterior, nombradas lam, lai, ial, lapm e Iapl, que representan una extensión rostral de la corteza agranular insular en la superficie orbital (ver figura 6, panel d). Estudios de las conexiones anatómicas de cada área han mostrado que mantienen interacciones con diversas regiones corticales y subcorticales (Carmichael y Price, 1995, Öngür et al. 1998; Price, 2006a).

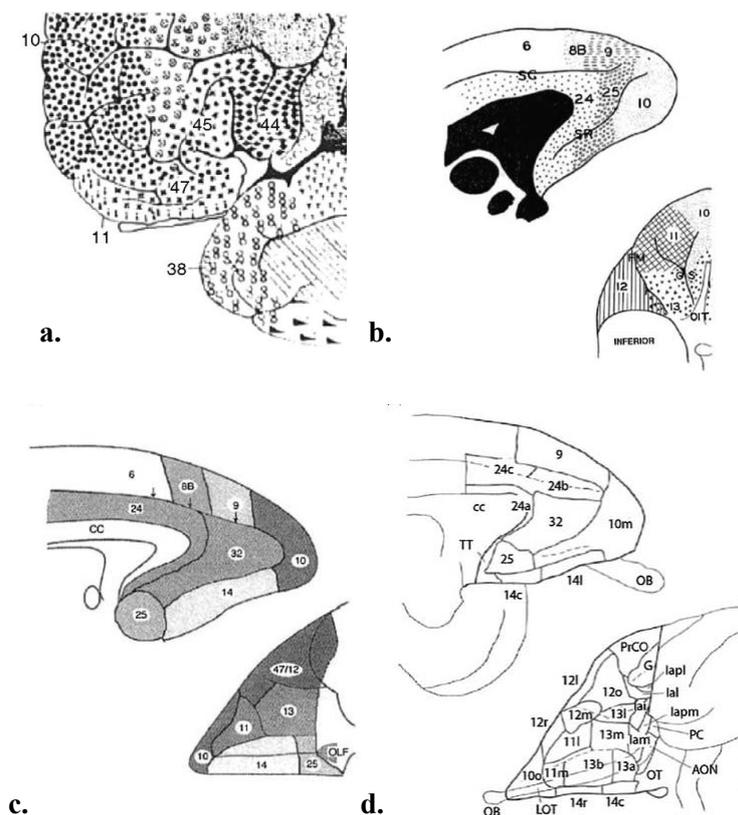


Figura 6: subdivisiones aplicadas a la corteza orbitofrontal. El panel *a* muestra la división planteada por Brodmann en 1905. En el panel *b* se ilustra el mapa de Walker (1940). El panel *c* muestra el de Petrides y Pandya (1994). Finalmente, en el panel *d* se ilustra la propuesta de Carmichael y Price (1994).

A pesar de que existe una variación considerable en la región prefrontal entre especies, sobre todo en la proporción entre corteza granular y agranular, es posible establecer homologías a partir de similitudes en la posición y conexiones de las áreas orbitales y mediales (Petrides y Pandya, 1994). Los mapas anteriormente mencionados están basados en el estudio de la región en primates y humanos, siendo la principal diferencia entre ambas especies la expansión de la corteza granular en el polo frontal en humanos. En ratas, la región prefrontal está compuesta casi exclusivamente de áreas agranulares y la corteza orbitofrontal mantiene conexiones recíprocas con el núcleo talámico mediodorsal. Krettek y Price (1977) llevaron a cabo una subdivisión de la región en áreas orbitales medial, ventrolateral y lateral (ver figura 7). Estas áreas parecen corresponder con estructuras en primates, de tal modo que el área ventrolateral es topológicamente similar a las áreas 13a y 3b; el área orbital lateral corresponde a las áreas 13m y 13l y, finalmente, el área dorsolateral es semejante a la 12o (Price, 2006a).

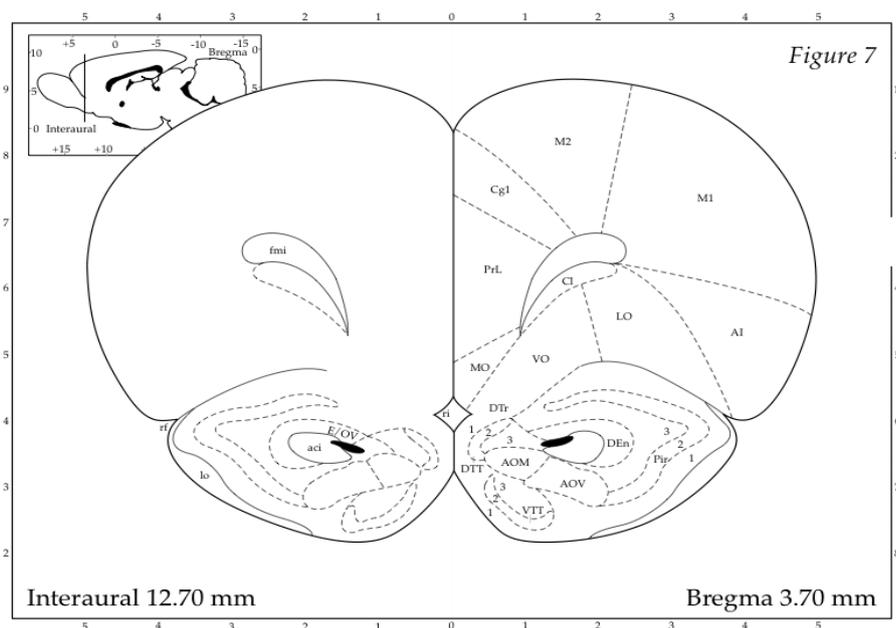


Figura 7: Esquema de un corte coronal de la corteza orbitofrontal en ratas. Se ilustran las áreas identificadas por Krettek y Price (1977), denominadas Orbital Lateral (LO), Orbital Ventrolateral (VO) y Orbital medial (MO). Figura tomada del Atlas Estereotáxico del Cerebro de la Rata (Paxinos y Watson, 1998).

3.2. Conexiones.

3.2.1. Aferencias.

La corteza orbitofrontal recibe entradas de todas las modalidades sensoriales: gustativas, olfativas, somatosensoriales, auditivas y visuales (ver figura 8). También recibe información visceral, lo que la convierte en la región polimodal más destacada en la corteza (Barbas, 1988; en Kringelbach, 2004).

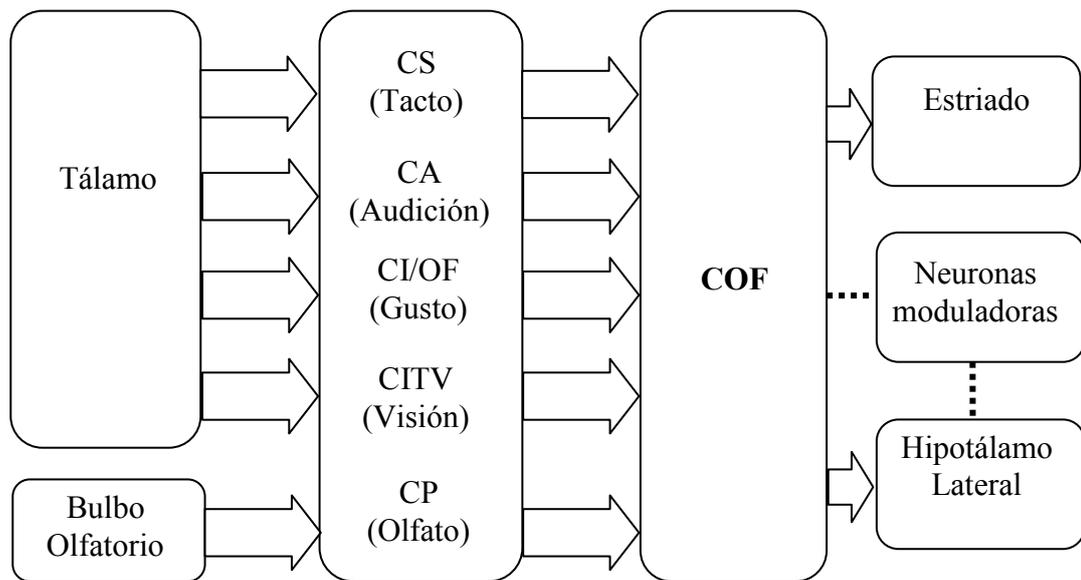


Figura 8: Diagrama de las entradas sensoriales de la corteza orbitofrontal. Esta región recibe entradas de todas las modalidades sensoriales: gustativas, olfativas, somatosensoriales, auditivas y visuales. La información es representada y permanece disponible para asociaciones entre reforzadores primarios y secundarios. El valor asignado a estas representaciones puede ser modulado por neuronas. Abreviaciones: CS: Corteza Somatosensorial; CA: Corteza Auditiva; CI/OF: Corteza Insular/Operculum Frontal; CITV: Corteza Inferior Temporal Visual; CP: Corteza Piriforme; COF: corteza orbitofrontal. Figura modificada a partir de esquema de Kringelbach (2004).

Debido a sus múltiples conexiones sensoriales, la corteza orbitofrontal es un área cortical única, bien posicionada para el aprendizaje de asociaciones multimodales entre estímulo y reforzador (Rolls, 1999; Price, 2006b). La información gustativa parte del núcleo ventral posteromedial del tálamo y se transmite a través de la corteza gustativa en el *operculum* frontal y la corteza insular

anterior, hasta llegar a la corteza orbitofrontal caudolateral (área 13 en primates). La información olfativa es procesada en las áreas secundarias Iam, Iapm y 13, así como en la corteza olfativa terciaria, localizada en el área 11 (Carmichael et al. 1994; Price 2006b). La información visual es recibida de la corteza temporal inferior por el área 47/12. El procesamiento auditivo tiene lugar en las áreas 11 y 47/12, a partir de los impulsos enviados por la corteza temporal superior. Los estímulos somatosensoriales son conducidos al área 47/12 en su porción medial, desde el opérculo pericentral y la ínsula (Rolls et al. 1999; Price, 2006b). Por otra parte, la información visceral es recibida en la región caudal de la corteza orbitofrontal, en las áreas Ial e Iapm, desde los núcleos talámicos posteromediales, en una zona distinta a la parvocelular implicada en el procesamiento gustativo (Öngür y Price, 2000; Price, 2006b).

Existen también entradas directas desde otras estructuras cerebrales, de las cuales la más prominente es la amígdala, cuyos núcleos lateral, basal, accesorio basal, anterior, periamigdalóide y medial proyectan extensivamente a diversas áreas de la corteza orbitofrontal, particularmente a las 13a, 13b y 47/12. Las conexiones son recíprocas y existe evidencia de que existen más proyecciones de corteza orbitofrontal a amígdala que viceversa (Cavada, 2000; Kringelbach, 2004). Las proyecciones de la corteza cingulada anterior también son densas, partiendo de prácticamente cada una de sus subregiones hasta las áreas 10o, 11m, Iai y 14c. El área motora cingulada, 23c, mantiene fuertes conexiones recíprocas con la corteza orbitofrontal, al igual que el área premotora F5, que contiene la representación de los movimientos distales de los brazos, a través de neuronas que responden tanto a actos motores relacionados con metas como a estímulos visuales motivacionales. Asimismo, existen conexiones recíprocas con otras áreas prefrontales, como la 9 y 46, que proyectan a diversas áreas de la corteza orbitofrontal, incluyendo a la 10, 11, 12 y 14 (Carmichael y Price, 1995; en Price, 2006b). Finalmente la corteza orbitofrontal recibe información a través de proyecciones del núcleo talámico magnocelular, mismo que recibe aferencias de estructuras temporales, como la amígdala, la corteza prepiriforme y la corteza temporal inferior (Öngür y Price, 2000; en Price, 2006b).

3.2.2. *Eferencias.*

La mayor parte de las conexiones anteriormente mencionadas son recíprocas. Esto implica que la corteza orbitofrontal proyecta a áreas del lóbulo temporal como la amígdala, corteza entorrinal, hipocampo y corteza temporal inferior. Otras proyecciones eferentes incluyen la corteza cingulada, el núcleo caudado, la región preóptica, hipotálamo lateral y área ventral tegmental (Rolls, 1999; en Price, 2006b). Asimismo, la corteza orbitofrontal mantiene interconexiones con el hipotálamo, en particular con su región posterior. Las proyecciones eferentes de la corteza prefrontal provienen de áreas más selectivas que aquellas que reciben aferencias del hipotálamo, siendo la corteza prefrontal medial la región que envía las proyecciones más densas. Existen también conexiones recíprocas con el compartimiento estriosomal del estriado anterior y ventromedial, principalmente con el núcleo caudado. Esta vía puede estar implicada en la conducta dirigida a metas, controlando neuronas dopaminérgicas de la sustancia nigra *pars compacta* (Rolls, 1999; en Price, 2006b). Existe evidencia de vías ascendentes y descendentes a grupos de células dopaminérgicas en el mesencéfalo (Öngür y Price, 1998; Kringelbach, 2004), así como nociones de una conexión directa al núcleo accumbens.

3.3. *Funciones de la corteza orbitofrontal.*

Aún no se conocen con precisión las distintas funciones realizadas por la corteza orbitofrontal, en los últimos años se han generado grandes avances en la materia, partiendo de la evaluación del efecto de lesiones en la región. Las primeras observaciones sobre los efectos de lesiones en corteza orbitofrontal revelaron que cambios drásticos en personalidad, que incluían conductas sociales inapropiadas, irresponsabilidad e impulsividad, así como incapacidad para identificar correctamente señales sociales, incluyendo expresiones faciales y vocales (Eslinger y Damasio, 1985; Kringelbach, 2004). La severidad de estos efectos puede ser medida por tareas

neuropsicológicas, que incluyen tareas de juego, aprendizaje de reversión de asociaciones y toma de decisiones.

Las tareas de juego consisten en pedir a los sujetos que seleccionen cartas de cuatro barajas distintas, con el objetivo de maximizar sus ganancias. Dos de los cuatro paquetes son considerados de alto riesgo, ya que, aunque producen altas recompensas, también generan grandes pérdidas. Los dos paquetes restantes son de bajo riesgo, al producir ganancias bajas, pero también pequeñas pérdidas. La estrategia más beneficiosa consiste en seleccionar cartas de los paquetes de bajo riesgo. La tarea fue diseñada para imitar situaciones reales que involucran la toma de decisiones normalmente difícil para pacientes con daño orbitofrontal, mismas que suelen implicar elecciones entre conductas asociadas con distintas magnitudes reforzamiento o castigo, donde las contingencias entre respuestas y recompensas permanecen ocultas. Se ha observado que pacientes con daño en la región ventromedial de la corteza orbitofrontal, pero no en la corteza prefrontal dorsolateral, eligen persistentemente las cartas de los paquetes de alto riesgo y son incapaces de cambiar su estrategia una vez que han iniciado la elección de cartas riesgosas (Bechara et al. 1999).

Variaciones de esta tarea también han permitido la suposición de que la corteza orbitofrontal participa en la codificación de la valencia de los estímulos (O'Doherty et al. 2003; Small et al. 2001), permitiendo la discriminación entre reforzadores y castigos. Parece existir un papel diferencial de las regiones orbitofrontales mediales y laterales en el procesamiento de recompensa y castigo, respectivamente (O'Doherty et al. 2001), demostrándose en tareas de juego que la porción medial de la corteza orbitofrontal responde a reforzadores monetarios abstractos, mientras que los sectores laterales se activan ante la pérdida monetaria. La actividad en estas regiones correlaciona positivamente con la magnitud de la pérdida o recompensa, indicando sensibilidad a las dimensiones del estímulo. Esta disociación ha sido observada en otros estudios, empleando estímulos gustativos y olfativos (Small et al. 2001; Gottfried et al. 2003), sin embargo, aún no es del todo clara, ya que se ha observado activación de ambas

subregiones ante ganancias y pérdidas monetarias (Elliott et al. 2003; O'Doherty, 2003; O'Doherty y Dolan, 2006). Las discrepancias pueden deberse al hecho de que distintas variantes de tareas de juego y toma de decisiones pueden incluir la participación de procesos distintos a la codificación de la valencia del estímulo.

El papel de la corteza orbitofrontal en el procesamiento de recompensas y castigos también ha sido evaluado en tareas de reversión de aprendizaje, en las que los sujetos son entrenados para establecer asociaciones entre estímulos previamente neutrales y reforzadores, para luego revertir la asociación aprendida ante la alteración de las contingencias (Rolls, et al. 1994; en Kringelbach, 2004). La tarea requiere del mapeo entre recompensas, castigos y la estrategia conductual apropiada, misma que es trivial, ya que no requiere el cálculo de valores esperados. Dicha estrategia puede constituir, en escenarios naturales, la base de la conducta de elección. La falla en la reversión de aprendizaje, consistente en la perseverancia en la elección de estímulos previamente reforzados es característica de pacientes con lesiones orbitofrontales, incapaces de llevar a cabo una selección flexible de conductas. Este hecho se ha demostrado también en estudios con animales (O'Doherty y Dolan, 2006).

La predicción del valor del reforzador ha sido tradicionalmente considerada una de las funciones de la corteza orbitofrontal, gracias a la evidencia aportada por estudios de neuroimagen (O'Doherty y Dolan, 2006) y puede ser estudiada a través del condicionamiento clásico, en el que una pista arbitraria (o estímulo condicionado) obtiene un valor predictivo al ser asociada con la entrega subsecuente de una recompensa o castigo (estímulo incondicionado). En un estudio con fMRI (O'Doherty et al. 2003), se observó que, al asociar estímulos fractales arbitrarios con sabores agradables (azúcar), neutros (solución insípida) y aversivos (solución salina), se producía la activación de la porción antero lateral de la corteza orbitofrontal durante la anticipación, así como durante la recepción de la recompensa. Una activación semejante en la región anterior central fue observada durante un paradigma semejante con estímulos olfativos (Gottfried, et al. 2002). A través de investigaciones empleando pistas olfativas predictivas

asociadas a comidas, se demostró que la corteza orbitofrontal anterior central se activa ante el valor específico de la recompensa, no ante las propiedades sensoriales de la misma (Gottfried et al. 2003).

La predicción del reforzador es otra de las funciones importantes de la corteza orbitofrontal, que es capaz de codificar no sólo el reforzador predicho, sino también distinguir entre predicciones y recibimiento (O'Doherty, 2003). La región muestra respuestas específicas al estímulo condicionado y a sustitución de estímulos, activándose distintas subregiones en cada caso (medial y medio – central, respectivamente). Regiones adicionales de la corteza orbitofrontal medial codifican para el recibimiento del reforzador, sin mostrar actividad alguna durante la predicción (O'Doherty y Dolan, 2006). La región también ha sido implicada en la predicción del error, considerado como la discrepancia entre la recompensa esperada y la real, lo que la vincula con el proceso de aprendizaje de diferencia temporal (Schultz et al. 1997). Estudios en humanos (Berns et al. 2001; O'Doherty et al. 2003), reportan que la predicción ocurre en sitios blanco de neuronas dopaminérgicas, incluyendo la corteza orbitofrontal.

La corteza orbitofrontal forma parte del sistema de recompensa, que incluye amígdala, estriado dorsal y ventral y regiones dopaminérgicas del cerebro medio. La amígdala se relaciona con la codificación de la intensidad de un estímulo y con la adquisición inicial de predicciones, mientras que la corteza orbitofrontal codifica la valencia de los estímulos y mantiene representaciones predictivas más flexibles, que se actualizan al cambiar las contingencias. Las representaciones establecidas a nivel de la amígdala no pueden ser eliminadas durante un proceso de extinción. La inhibición activa de esta estructura permite la extinción al prevenir la expresión de respuestas condicionadas. La corteza prefrontal medial está implicada en este proceso inhibitorio, mientras que la corteza orbitofrontal está involucrada en el aprendizaje de predicciones de recompensa, más que en la inhibición de asociaciones previamente adquiridas (O'Doherty y Dolan, 2006).

La relación entre corteza orbitofrontal y estimación temporal aún no se ha establecido completamente. Se ha registrado que pacientes con este tipo de lesiones tienen un sentido subjetivo del tiempo más rápido que el de sujetos sanos, tendiendo principalmente a la sobreestimación y subproducción de intervalos de tiempo (Berlin et al. 2004), lo cual es consistente con los resultados generados por investigaciones que vinculan daños en la región con impulsividad (Lishman, 1998). Estudios basados en la tarea de elección inter-temporal encontraron que la depleción de dopamina en la región orbito-prefrontal de roedores, produce una mayor sensibilidad al reforzador, así como una mayor tasa de demora (Kheramin et al. 2004), sin embargo, no está claro el componente del hipotético reloj interno que es afectado por la lesión. La lesión excitotóxica de la región produce efectos que aparentemente contradicen las observaciones que vinculan impulsividad y daño orbitofrontal (Mobini et al. 2002), empleando la misma tarea, sin llegar a una explicación concluyente sobre el componente afectado.

4. Justificación, objetivos e hipótesis.

4.1. Justificación.

La estimación de intervalos, en el rango de segundos a minutos, es un proceso de gran importancia para la adaptación exitosa de los organismos a su medio ambiente. La teoría de expectancia escalar constituye un modelo sólido, capaz de explicar la mayoría de las características de este tipo de estimación temporal, a través de la propuesta de un reloj interno, compuesto por procesos perceptuales, mnémicos y de toma de decisión. La dopamina ha sido considerada el principal neurotransmisor encargado de regular la velocidad del reloj, a pesar de haberse encontrado diversas inconsistencias en esta suposición. Igualmente, la localización del reloj interno no ha sido comprobada. La corteza orbitofrontal constituye una región de gran complejidad, debido a la alta especificidad funcional dentro de sus distintas subregiones. Entre sus funciones se encuentra la codificación del valor específico de la recompensa, el mantenimiento de representaciones flexibles de valores predichos, la codificación de errores en la predicción y la señalización de la elección conductual futura. Lesiones en la región se han relacionado con conducta impulsiva y perseverante. Se ha registrado que pacientes con este tipo de lesiones tienen un sentido subjetivo del tiempo más rápido que el de sujetos sanos. Asimismo, se ha observado que ratas con lesiones en la región orbito-prefrontal exhiben una mayor sensibilidad ante eventos importantes, como el reforzador, así como a su demora. Estos resultados sugieren la participación de la corteza orbitofrontal en la estimación temporal, lo cual, junto con el carácter integrador de la región, justifica estudios más profundos al respecto. A partir de la revisión de estos y otros datos, el presente estudio tiene como objetivo evaluar la participación de la dopamina en la corteza orbitofrontal en la estimación temporal.

4.2. Objetivo general.

El objetivo general es evaluar el efecto de la depleción de dopamina, a través de la administración de 6 – Hidroxidopamina, en la corteza orbitofrontal sobre la estimación temporal retrospectiva en ratas.

4.3. Objetivos específicos.

- Evaluar los cambios en la velocidad del teórico reloj interno, producidos por el decremento en los niveles de dopamina, reflejados en las alteraciones en el punto de bisección.
- Evaluar los cambios en la sensibilidad al tiempo, reflejados en la Fracción de Weber, producidos por la destrucción de terminales dopaminérgicas.
- Evaluar los efectos de la depleción de dopamina sobre las latencias de respuesta.

4.4. Hipótesis general.

Si la función dopaminérgica en la región se ve suprimida por el efecto de una neurotoxina selectiva, el desempeño de los animales en una tarea de estimación temporal retrospectiva se verá disminuido, reflejándose en cambios en el punto de bisección y Fracción de Weber.

4.5. Hipótesis particulares.

- Si la depleción de dopamina en la corteza orbitofrontal produce cambios en la velocidad del reloj interno, se observará un desplazamiento del punto de bisección.
- Si la depleción de dopamina en la corteza orbitofrontal produce alteraciones en la sensibilidad de las ratas al paso del tiempo, se observarán cambios en la pendiente de las curvas psicofísicas y, por consiguiente, en la Fracción de Weber.
- Si la depleción de dopamina genera conducta impulsiva, se observará un cambio significativo en las latencias de respuesta o en el número de errores del grupo de lesión.

5. Método.

5.1. Sujetos.

Se emplearon 12 ratas macho de la cepa Wistar, experimentalmente ingenuas, obtenidas del bioterio de la Facultad de Psicología de la UNAM, con un peso inicial de entre 250 y 300 g. Los animales fueron privados de alimento para mantenerlos al 85% de su peso. Se les alojó en cajas individuales de policarbonato, con libre acceso a agua y un ciclo luz – oscuridad 12 – 12.

5.2. Materiales.

Se utilizaron 6 cajas de condicionamiento operante de 28 x 22 x 28 cm (Lafayette Instruments, USA). Cada una contaba con un panel frontal con dos palancas retráctiles, colocadas a 8 cm sobre el piso de barrotes y a 2.5 cm de las paredes. El reforzador era entregado mediante un dispensador de líquidos (Lafayette Instruments, USA), cuya salida se dirigía a un comedero de 5 cm de diámetro ubicado entre ambas palancas, de manera equidistante. A 7 cm sobre cada palanca se encontraba una luz estímulo. La presentación de estímulos, el registro de respuestas y la entrega del reforzador se controlaron con una interfase Med – PC (Med associates, Inc. Vermont, USA) y una computadora 486 con sistema operativo MS – DOS.

5.3. Procedimiento conductual.

5.3.1. Moldeamiento.

12 ratas fueron entrenadas a presionar las palancas para obtener aproximadamente 0.5 ml de sucrosa a 0.8M como reforzador. El moldeamiento se realizó manualmente, empleando el procedimiento de aproximaciones sucesivas, las luces estímulo permanecían encendidas, indicando la disponibilidad del reforzador, mismo que era liberado por el experimentador cuando la rata se acercaba a las palancas, hasta que aprendía a presionarlas por sí misma.

Una vez que las ratas dominaron la tarea, fueron sometidas a sesiones de razón fija, iniciando con un programa $RF = 1$, asociado a la palanca izquierda. La siguiente sesión empleaba la misma razón, asociándola con la palanca derecha. El procedimiento se repitió en ambas palancas con incrementos progresivos, hasta llegar a razón fija 10. Al término de estas sesiones, todas las ratas eran capaces de presionar ambas palancas para obtener el reforzador.

5.3.2. Entrenamiento en el procedimiento de bisección temporal.

Las ratas fueron entrenadas a emitir respuestas diferenciales de acuerdo con la duración de los estímulos, los cuales consistían en la presentación de luces estímulo con distintas duraciones (2 y 8 segundos), cada una de las cuales era asociada con una de las palancas. La palanca correspondiente a cada estímulo fue contrabalanceada. Una respuesta correcta producía la entrega del reforzador y el inicio de un intervalo interensayo, durante el cual se apagaban las luces y se retraían las palancas. Una vez terminado este intervalo, se presentaba un nuevo estímulo. Las respuestas incorrectas llevaban directamente al intervalo interensayo. Este entrenamiento se mantuvo hasta que cada rata alcanzó un criterio mínimo de 80% de respuestas correctas en cada palanca, durante cinco sesiones consecutivas.

5.3.3. Ensayos prueba de bisección temporal.

Una vez alcanzado el criterio de adquisición de la tarea, se introdujeron seis sesiones de prueba, en las que los animales fueron expuestos a duraciones intermedias (2.5, 3.2, 4, 5 y 6.4 segundos, de acuerdo con una distribución semi logarítmica), intercaladas aleatoriamente con las duraciones de entrenamiento (2 y 8 segundos). Tras la presentación de cada uno de estos estímulos se omitió el reforzador y se registró la respuesta. Posteriormente, las ratas fueron aleatoriamente asignadas a grupos de lesión y sham, compuesto cada uno de 6 sujetos

5.3.4. Procedimiento quirúrgico.

Treinta minutos antes de la cirugía, las ratas del grupo de lesión recibieron inyecciones intraperitoneales de demetilmipramina (25 mg/kg) y fluoxetina (10 mg/kg) (ver apartado 5.3.6). Posteriormente, cada rata fue anestesiada con hidrato de cloral (400 mg/kg), administrado en un volumen de 1 ml/100 g, para ser rasurada y fijada en un aparato esterotáxico (David Kopf). Una vez fijada, se practicó una incisión en la piel de la cabeza y se taladraron cuatro trépanos en el cráneo, dos sobre cada hemisferio, para introducir una cánula de inyección en la corteza orbitofrontal, con la ayuda de una torre graduada y de acuerdo con las siguientes coordenadas, medidas a partir de bregma (Paxinos y Watson, 1997), para los cuatro sitios de inyección.

- Sitio 1:
 - *Eje Antero – Posterior (AP):* +3.7 mm.
 - *Eje Lateral (L):* ± 1.2 mm.
 - *Eje Dorsoventral (DV):* - 4.8 mm.

- Sitio 2:
 - *Eje Antero – Posterior (AP):* +3.7 mm.
 - *Eje Lateral (L):* ± 2.5 mm.
 - *Eje Dorsoventral (DV):* - 4.4 mm.

Las inyecciones fueron administradas mediante una cánula de 0.3 mm de diámetro, conectada por un tubo de polietileno a una jeringa Hamilton de 10 μ l. En el caso del grupo de lesión, la cánula se insertó cuidadosamente en cada sitio, tras lo cual, se inyectaron 0.5 μ l de la solución de 6 – Hidroxidopamina (2 μ g/ μ l), a una tasa de 0.1 μ l cada 15 segundos.

Antes de su retiro, la cánula fue mantenida en su posición durante 3 minutos después de la inyección, en cada sitio. En el caso de las ratas pertenecientes al grupo de lesión sham, el procedimiento fue idéntico, con la excepción de que sólo recibieron inyecciones de vehículo.

Ambas infusiones fueron teñidas con azul de metileno, con el fin de comprobar visualmente la extensión de la lesión. Una vez terminada la inyección, los trépanos fueron cerrados con cera y la incisión suturada. Cada cirugía tuvo una duración de aproximadamente una hora, tras la cual, las ratas fueron devueltas a su caja hogar, con libre acceso a comida, durante una semana.

5.3.5. *Evaluación postoperatoria.*

Al terminar la semana de recuperación, las ratas fueron nuevamente privadas de alimento durante cinco días y sometidas a seis sesiones de readquisición, en las cuales se repitió el entrenamiento en bisección temporal. Hecho esto, volvieron a someterse a sesiones de prueba, con duraciones intermedias, para obtener una medida del desempeño de cada rata, posterior a la cirugía, derivándose las funciones psicofísicas y los indicadores correspondientes.

5.3.6. *Fármacos.*

Antes y durante la cirugía, se administraron los siguientes fármacos:

Desipramina o Demetilimipramina (Tocris Bioscience, Ellisville Missouri, USA): Bloquea la recaptura de noradrenalina y parece tener efectos sobre el transporte de 5 – HT, así como actividad colinérgica menor, debido a cierta afinidad por los receptores muscarínicos. La droga fue disuelta en solución salina isotónica (0.9%), en un volumen de 25 mg/kg y se administró vía intraperitoneal (i.p.), 30 minutos antes de iniciar la cirugía, con el fin de proteger las terminales noradrenérgicas.

Fluoxetina (Tocris Bioscience, Ellisville Missouri, USA): inhibidor selectivo de la recaptura de 5 – HT. Tiene afinidad por los receptores 5 – HT_{1A}, 5 – HT_{2A}, α_1 y α_2 – adrenérgicos, así como por receptores muscarínicos. Disuelta en solución salina isotónica (0.9%), la droga se administró en un volumen de 10 mg/kg, vía intraperitoneal (i.p.), 30 minutos antes de la cirugía, para proteger las terminales serotoninérgicas.

6 – Hidroxidopamina (*Research Biochemicals International, One Strathmore Road, Natick, USA*): neurotoxina selectiva a catecolaminas. Depleta los niveles cerebrales de éstas, vía recaptura y acumulación, a través de un mecanismo específico de transporte a estas neuronas. Produce una destrucción casi total de las neuronas dopaminérgicas de la sustancia nigra y sus terminales estriatales, cuando es inyectada a estas regiones en ratas. La toxina se disolvió en una concentración de 2 µg por µl de vehículo (solución salina isotónica al 0.9%, conteniendo 0.1% de ácido ascórbico) y se administraron 0.5 µl vía intracraneal (i.c.), a una tasa de 0.1 µl por cada 15 segundos, a través de una cánula insertada en la corteza orbitofrontal de las ratas.

5.3.7. *Análisis de datos.*

Se derivó el porcentaje de respuestas al estímulo largo (%L) para cada rata, de acuerdo con los datos proporcionados por las sesiones de prueba. Se ajustaron funciones lineales ($f(x) = y_0 + a*x$) y logísticas ($f(x) = a/(1+((x/b)^c))$), de dos y tres parámetros, respectivamente.

Las gráficas que ilustran estos datos fueron realizadas empleando Sigma Plot, versión 11. Las comparaciones entre grupos sham y lesión, antes y después de la cirugía, se llevaron a cabo mediante un análisis de varianza (ANOVA) de dos vías, mientras que las comparaciones de punto de bisección y Fracción de Weber en el análisis por sujeto se realizaron con pruebas t de datos pareados.

5.3.8. *Histología.*

Una vez recabados los datos conductuales, las ratas fueron sacrificadas y sus cerebros extraídos. Se obtuvieron rebanadas de la corteza orbitofrontal y se comprobó la localización de las lesiones mediante la observación del área teñida con azul de metileno y su mapeo, de acuerdo con las coordenadas consultadas en el atlas de Paxinos y Watson (1997).

6. Resultados.

6.1. Resultados por grupo.

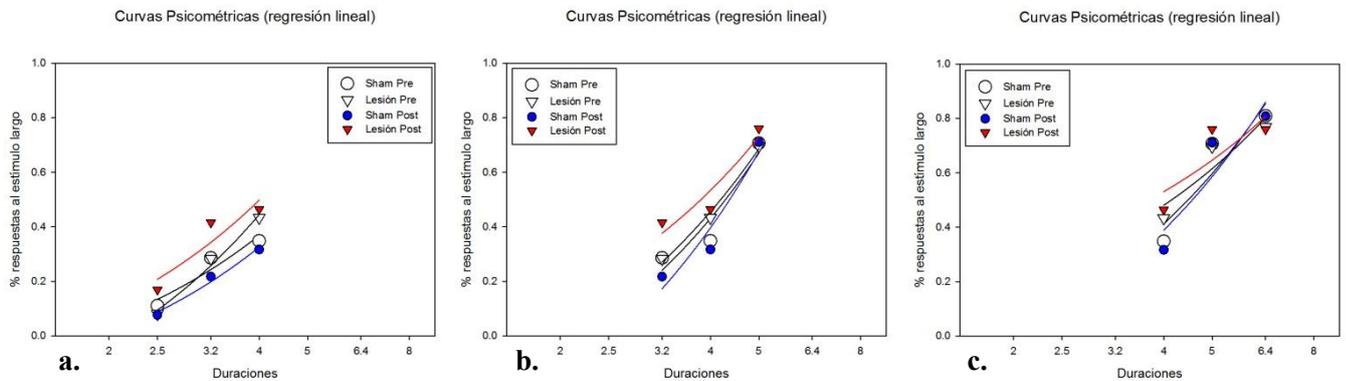
Una vez recabados los datos experimentales se realizó el ajuste de las funciones, iniciando con la regresión lineal ($f(x) = y_0 + a*x$). Esta función fue ajustada a conjuntos de tres duraciones, hasta incluir todos los estímulos presentados en las sesiones de prueba. La distribución de los conjuntos de duraciones fue la siguiente:

- A. 2, 2.5 y 3.2 segundos.
- B. 2.5, 3.2 y 4 segundos.
- C. 3.2, 4 y 5 segundos.
- D. 4, 5 y 6.4 segundos.
- E. 5, 6.4 y 8 segundos.

En estudios previos se ha señalado que deben reportarse las curvas psicométricas correspondientes al conjunto de duraciones que genere una mayor pendiente, tratándose usualmente de aquél que incluye las duraciones centrales, más próximas a la localización teórica del punto de bisección (Church y Deluty, 1977). En el presente trabajo se siguieron estas consideraciones, tomando en cuenta los datos del conjunto con mayor pendiente para la obtención de las curvas psicométricas, punto de bisección y Fracción de Weber. Sin embargo, también se consideraron las curvas psicométricas de los conjuntos inmediatos, con el fin de ilustrar con mayor detalle el desempeño de las ratas en un rango más amplio de duraciones.

De este modo, se encontró que el conjunto con mayor pendiente fue el C (duraciones de 3.2, 4 y 5 segundos), por lo que se muestran sus curvas psicométricas en el panel b de la gráfica 1, acompañadas de las curvas correspondientes a los conjuntos B (2.5, 3.2 y 4 segundos) y D (4, 5

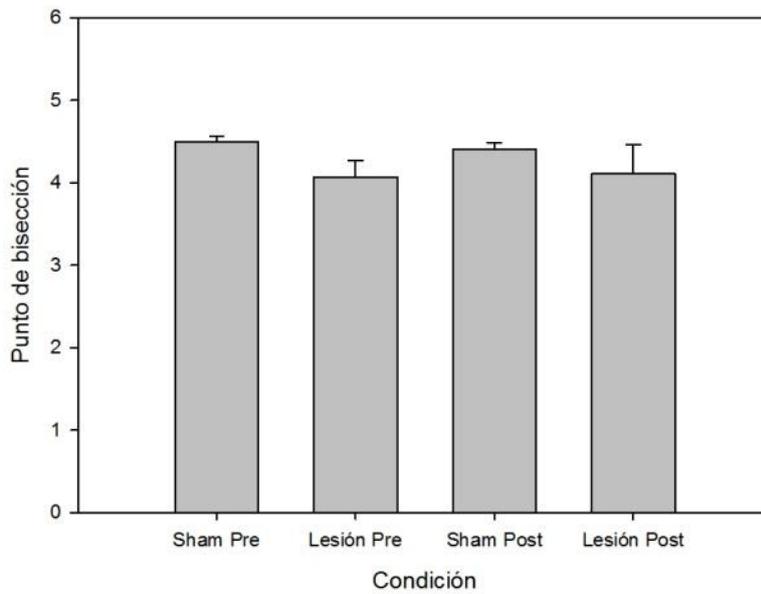
y 6.4 segundos), ilustradas en los paneles a y c, respectivamente. Se comparó el punto de bisección y Fracción de Weber de los grupos sham y lesión antes de la cirugía, sin encontrar diferencias estadísticamente significativas [$t = 1.829$, $p > 0.05$], [$t = 0.73$, $p > 0.05$], respectivamente.



Gráfica 1: curvas psicométricas obtenidas mediante una regresión lineal. En el eje de las abscisas se muestran las duraciones de los intervalos presentados en las sesiones de prueba, mientras que en el de las ordenadas se grafica el porcentaje de respuestas a la palanca correspondiente al estímulo de 8 segundos. En el panel *a* se ilustran las curvas correspondientes a las duraciones de 2.5, 3.2 y 4 segundos (conjunto B). Puede observarse que las pendientes son muy similares entre grupos. El panel *b* muestra las curvas correspondientes a las duraciones de 3.2, 4 y 5 segundos, observándose que la pendiente del grupo lesión post es menor a la de los otros grupos. Finalmente, las curvas de las duraciones de 4, 5 y 6.4 segundos se muestran en el panel *c*. El grupo lesión post mantiene una pendiente menor.

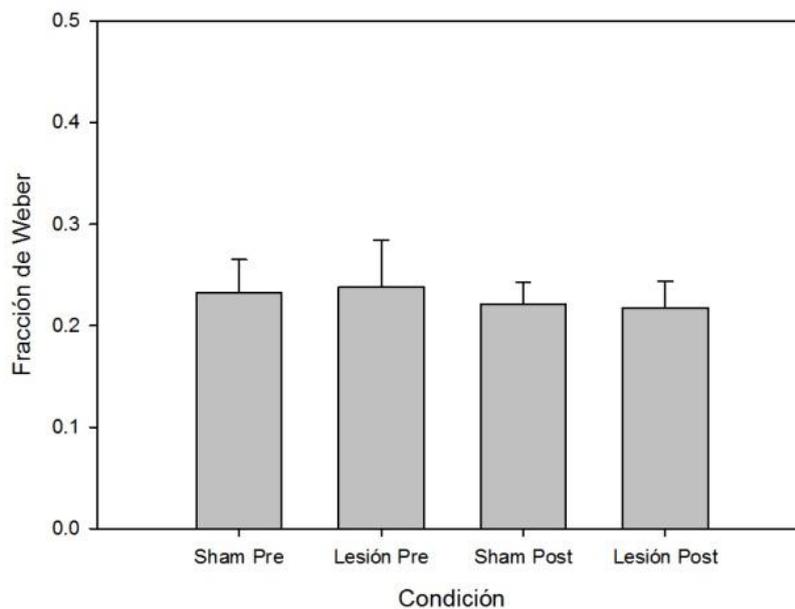
Para la comparación del punto de bisección se tomaron en cuenta únicamente los datos generados por el conjunto de duraciones C, pues fue el que presentó una mayor pendiente. El análisis de varianza de dos vías no encontró efectos significativos de grupo (sham o lesión) [$F_{(2, 16)} = 1.366$, $p > 0.05$], condición (pre o post) [$F_{(1, 16)} = 0.159$, $p > 0.05$] o su interacción [$F_{(2, 16)} = 2.143$, $p > 0.05$] en los valores de este indicador (ver gráfica 2), lo cual implica que los cambios en la posición de las curvas psicométricas no fueron significativos. Igualmente, no se registraron efectos estadísticamente significativos de grupo [$F_{(2, 16)} = 0.712$, $p > 0.05$], condición [$F_{(1, 16)} = 0.119$, $p > 0.05$] o su interacción [$F_{(2, 16)} = 0.623$, $p > 0.05$] sobre la Fracción de Weber (ver gráfica 3), indicando que los cambios en pendiente observados en las curvas psicométricas carecen de significancia estadística.

Punto de Bisección (regresión lineal)



Gráfica 2: se muestran los puntos de bisección para cada grupo y condición experimental. Puede apreciarse que el valor de este indicador es ligeramente menor para el grupo lesión, tanto en la medición pre como en la postquirúrgica. A pesar de esta diferencia gráfica, el análisis de varianza de dos vías no encontró diferencias significativas entre grupos o condiciones.

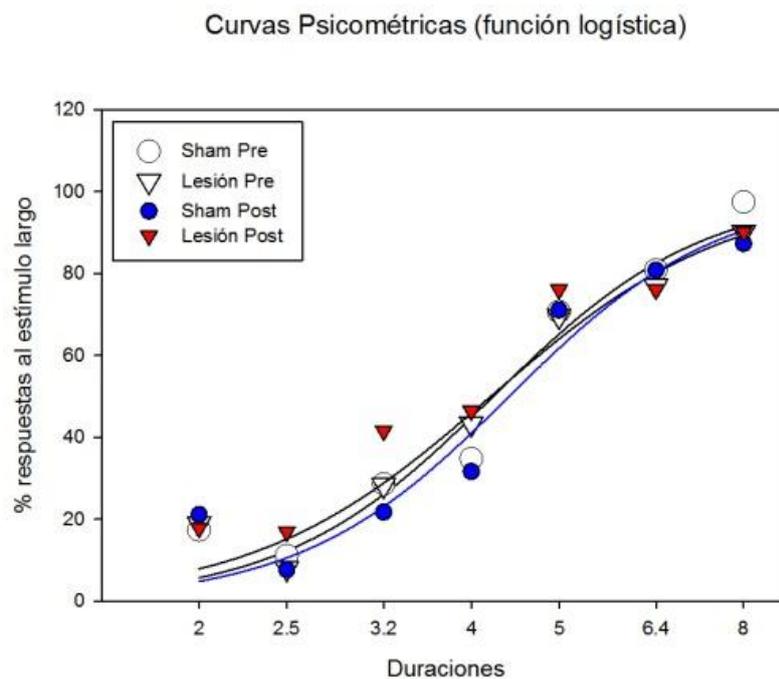
Fracción de Weber (regresión lineal)



Gráfica 3: se muestran la Fracción de Weber para cada grupo y condición experimental. A pesar de observarse en la gráfica una disminución en el valor de este indicador en la evaluación postquirúrgica del grupo lesión, el análisis de varianza no encontró diferencias estadísticamente significativas.

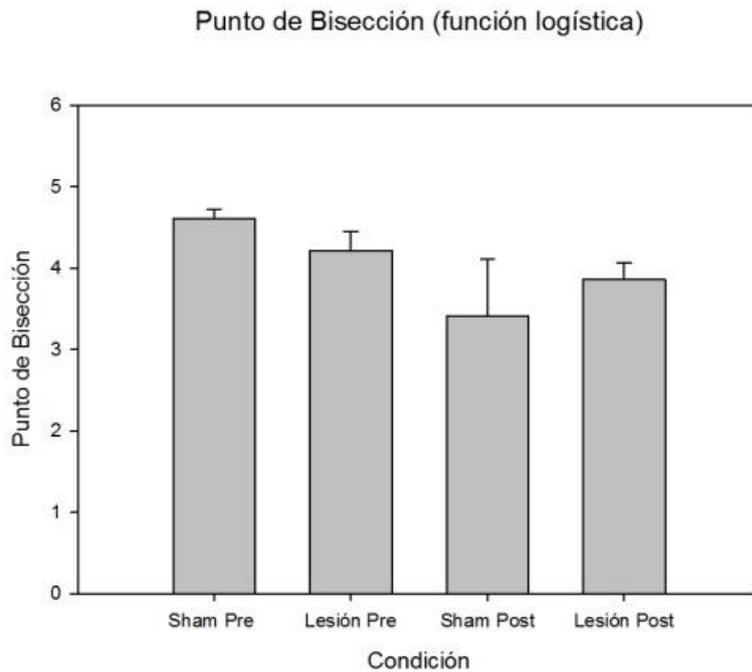
Ante la falta de diferencias estadísticamente significativas, probablemente producida por el tamaño limitado de la muestra, y dado que se observan diferencias gráficas, se llevó a cabo una prueba no paramétrica para evaluar los datos de punto de bisección y Fracción de Weber. La prueba del signo no encontró suficiente evidencia estadística para afirmar que los valores de estos indicadores difieren entre mediciones, lo cual pudo deberse a que se dieron mayores variaciones en los valores correspondientes a duraciones extremas.

Tras haber obtenido las curvas psicométricas e indicadores temporales con la regresión lineal, se ajustó una función logística ($f(x) = a/(1+((x/b)^c))$) a los datos experimentales, derivando las curvas psicométricas correspondientes (ver gráfica 4). Se observó una marcada similitud entre las curvas de cada grupo, sin cambios perceptibles en la pendiente o posición.



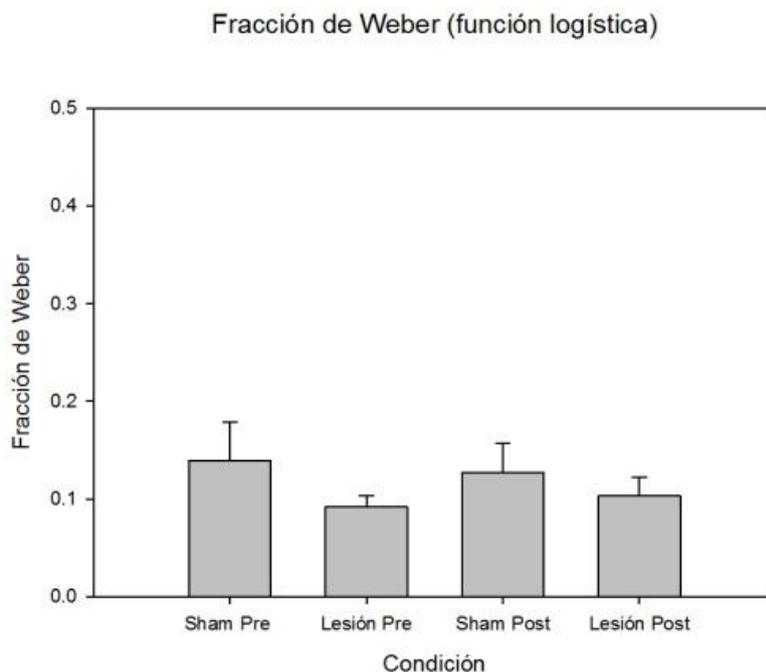
Gráfica 4: curvas psicométricas obtenidas mediante el ajuste de una función logística. Puede apreciarse que las curvas para cada grupo son similares y no hay cambios perceptibles en pendiente o posición.

La comparación del punto de bisección no mostró efectos significativos de grupo [$F_{(2, 16)} = 2.544, p > 0.05$], condición [$F_{(1, 16)} = 3.597, p > 0.05$] o su interacción [$F_{(2, 16)} = 0.123, p > 0.05$], a pesar de que la gráfica muestra una disminución notable en las mediciones postquirúrgicas de ambos grupos, misma que se ve disminuida por la longitud de las barras de error, que sugiere un aumento en la variabilidad de los datos (ver gráfica 5).



Gráfica 5: puntos de bisección para cada grupo y condición experimental. Se aprecian algunas diferencias gráficas, particularmente una disminución en la evaluación postquirúrgica del grupo sham. Sin embargo, el análisis de varianza no registró efectos significativos de grupo o condición.

Igualmente, el análisis de varianza no encontró efectos significativos de grupo [$F_{(2, 16)} = 0.632, p > 0.05$], condición [$F_{(2, 16)} = 0.113, p > 0.05$] o su interacción [$F_{(2, 16)} = 0.712, p > 0.05$] sobre la Fracción de Weber, en cuya gráfica se aprecia que los valores de este indicador no variaron de manera perceptible entre las evaluaciones pre y postquirúrgica, pero sí fueron aparentemente distintos entre los grupos lesión y sham (ver gráfica 6).

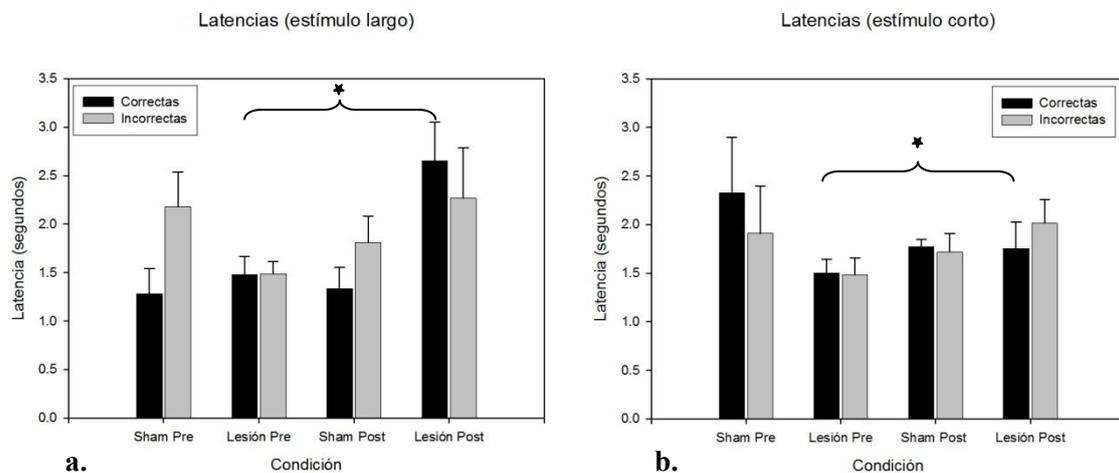


Gráfica 6: muestra el valor de la Fracción de Weber para cada grupo y condición experimental. Se observan algunas diferencias gráficas entre las evaluaciones pre y postquirúrgica en ambos grupos, sin embargo, ninguno de los cambios fue estadísticamente significativo.

El tamaño limitado de la muestra pudo afectar la capacidad de las pruebas estadísticas paramétricas para detectar diferencias significativas. Tomando esto en cuenta, nuevamente se llevó a cabo una prueba de signos, no paramétrica, que encontró suficiente evidencia estadística para afirmar que el punto de bisección es distinto en la evaluación postquirúrgica. La Fracción de Weber también sufrió cambios en la misma medición.

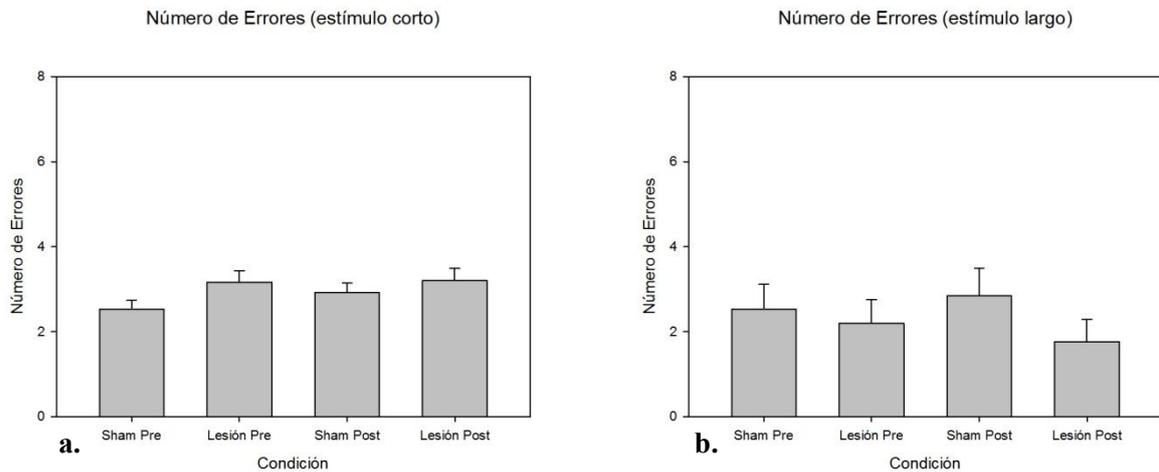
Ante la falta de efectos significativos de grupo y condición sobre los indicadores temporales, según los reportes de las pruebas paramétricas, se llevó a cabo un análisis de latencias y de número de errores para cada estímulo, con el fin de tener información más detallada sobre la conducta de las ratas durante la tarea de bisección temporal y la manera en que ésta pudo ser afectada por la lesión en la corteza orbitofrontal.

Las latencias de respuesta para cada estímulo (corto y largo) fueron analizadas, tomando en cuenta tanto las respuestas correctas como las incorrectas. El ANOVA de dos vías encontró efectos significativos de grupo [$F_{(2, 82)} = 3.698, p < 0.05$] en la latencia de respuestas correctas para el estímulo largo (ver gráfica 7, panel a). La prueba *post hoc* de Tukey mostró que el grupo lesión, después de la cirugía, requirió mayor tiempo para poder emitir una respuesta correcta ante el estímulo de 8 segundos [$q = 4.251, p < 0.05$]. No se encontraron efectos estadísticamente significativos dependientes del grupo [$F_{(2, 82)} = 1.037, p > 0.05$], condición [$F_{(1, 82)} = 2.249, p > 0.05$] o interacción [$F_{(2, 16)} = 3.005, p > 0.05$] sobre la latencia de respuestas incorrectas. De igual forma, se encontraron efectos significativos de grupo [$F_{(2, 82)} = 3.698, p < 0.05$] en la latencia de respuestas correctas al estímulo corto (ver gráfica 7, panel b). La prueba de Tukey reveló que el grupo lesión tuvo una mayor latencia de respuesta, después de la cirugía [$q = 4.251, p < 0.05$]. Nuevamente, no se encontraron efectos significativos dependientes del grupo [$F_{(2, 82)} = 0.332, p > 0.05$], condición [$F_{(1, 82)} = 0.833, p > 0.05$] o interacción [$F_{(2, 16)} = 0.314, p > 0.05$] en las latencias de respuestas incorrectas.



Gráfica 7: latencias en las respuestas correctas (barras negras) e incorrectas (barras grises) para cada estímulo. El panel *a* muestra las latencias para el estímulo de 8 segundos. Se encontraron efectos significativos de grupo y la prueba *post hoc* demostró que el grupo lesión post tuvo una mayor latencia en la emisión de respuestas correctas. En el panel *b* se ilustran las latencias de respuesta para el estímulo corto. Nuevamente, el grupo lesión post exhibió una mayor demora en la emisión de respuestas correctas. En ningún caso se encontraron efectos significativos de grupo o condición para las respuestas incorrectas. La significancia estadística es representada por el asterisco y tiene un valor $P < 0.05$.

Se comparó el número de errores cometidos en las respuestas a cada estímulo. El ANOVA no registró efectos significativos de grupo [$F_{(2, 106)} = 1.879, p > 0.05$] o condición [$F_{(1, 106)} = 0.00925, p > 0.05$] sobre los errores en las respuestas al intervalo corto. La gráfica generada muestra cantidades similares entre las mediciones pre y postquirúrgica (ver gráfica 8, panel a). La comparación estadística de los errores al estímulo largo tampoco generó efectos significativos de grupo [$F_{(2, 106)} = 2.773, p > 0.05$] o condición [$F_{(1, 106)} = 2.302, p > 0.05$], a pesar de sutiles diferencias gráficas que pueden ser explicadas por la variabilidad en los datos, reflejada en el tamaño de las barras de error (ver gráfica 8, panel b).



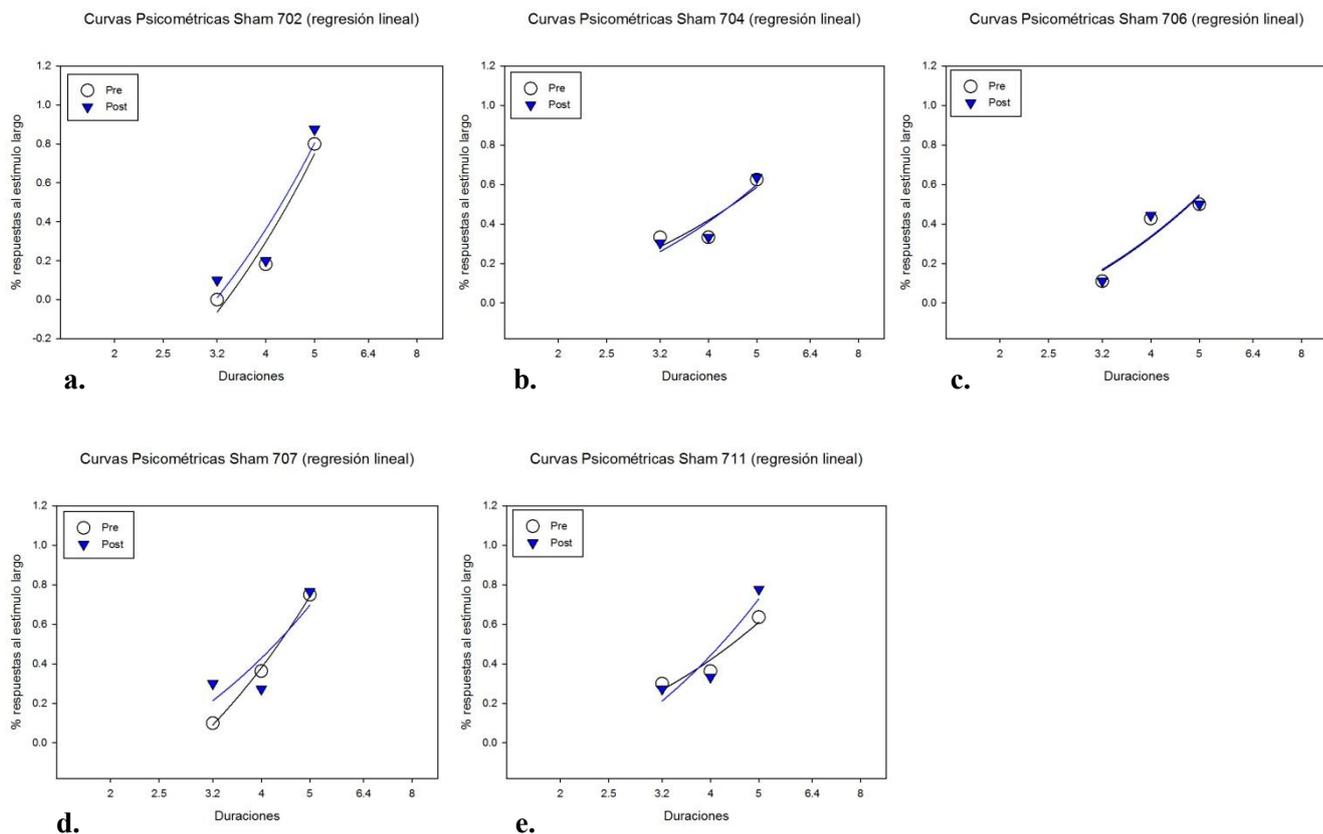
Gráfica 5: se muestra el número de errores cometidos tras la presentación del estímulo de 2 segundos (panel a). Puede observarse que las ratas, tanto del grupo sham como del grupo lesión, cometieron una cantidad de errores similar en ambas evaluaciones (pre y postquirúrgica). El panel b ilustra los errores cometidos ante el estímulo de 8 segundos. Existe una disminución gráfica en este indicador para el grupo lesión post, sin embargo, el análisis de varianza no encontró efectos significativos de grupo o condición, debido a la alta variabilidad en los datos.

6.2. Análisis por sujeto de los indicadores temporales.

La aparente falta de efectos significativos de la lesión sobre el punto de bisección y fracción de Weber pudo deberse al tamaño limitado de la muestra. Con el fin de obtener información más detallada con respecto a los cambios en los indicadores temporales, después de la cirugía, se obtuvieron las curvas psicométricas para cada rata. Al igual que en las gráficas presentadas por grupo, se ajustó una regresión lineal, así como una función logística, derivándose los puntos de bisección y Fracciones de Weber para cada caso.

El ajuste de la regresión lineal consideró únicamente las duraciones de 3.2, 4 y 5 segundos, como se explicó anteriormente. Estos valores corresponden a las duraciones en las que se registró una mayor pendiente en las curvas psicométricas (grupo C), además de que constituyen los valores más próximos a la localización teórica del punto de bisección. Para una mayor claridad en la presentación de los datos, no se incluyeron las gráficas de los conjuntos de duraciones B y D en el reporte por sujeto.

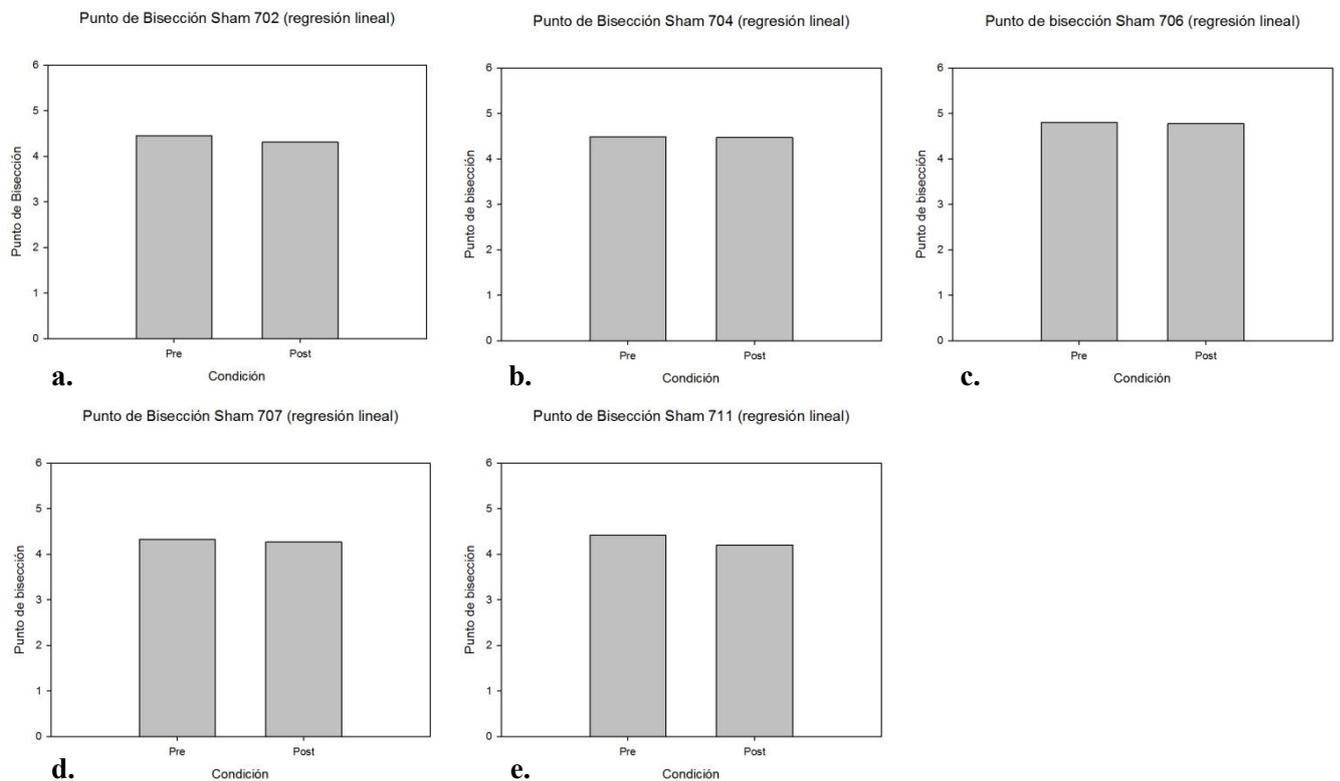
Las curvas psicométricas obtenidas con esta función para el grupo sham se muestran en la gráfica 9. El ajuste de la regresión lineal a los datos de la rata 702 (panel a) produjo curvas muy similares, pero con un pequeño desplazamiento de la curva postquirúrgica a la izquierda. La rata 704 (panel b) produjo una pendiente menor en ambas curvas. La rata 706 también muestra una pendiente ligeramente menor a las de otras ratas, pero idéntica entre las curvas pre y postquirúrgica (panel c). El panel *d* muestra las curvas de la rata 707, observándose que la curva postquirúrgica mostró un decremento en su pendiente, caso contrario al de la rata 711, cuya pendiente en dicha curva aumentó ligeramente (panel e).



Gráfica 9: curvas psicométricas obtenidas para cada rata del grupo sham, a partir de una regresión lineal. La rata 702 mostró curvas de igual pendiente, con un desplazamiento a la izquierda de la curva postquirúrgica (panel *a*). Las ratas 704 y 706 (paneles *b* y *c*) mostraron curvas idénticas, de pendiente menor a las de las otras ratas. En la rata 707 (panel *d*) se observó un decremento en la pendiente de la curva postquirúrgica, misma que aumentó ligeramente en la rata 711 (panel *e*).

Para comprobar la significancia estadística de los cambios observados en las curvas psicométricas, se llevó a cabo una prueba t de datos pareados, comparando el punto de bisección de cada rata del grupo sham en las evaluaciones pre- y postquirúrgica, tomando en cuenta los resultados de las seis sesiones postoperatorias de prueba. Los valores de este indicador se ilustran en la gráfica 10. No se apreciaron diferencias gráficas perceptibles en las ratas 702 (panel *a*), 704 (panel *b*), 706 (panel *c*) y 707 (panel *d*), lo cual es consistente con las semejanzas en posición de las curvas psicométricas previamente ilustradas. No se encontraron diferencias significativas entre mediciones en estos casos ($[t = -0.785, p > 0.05]$; $[t = -0.711,$

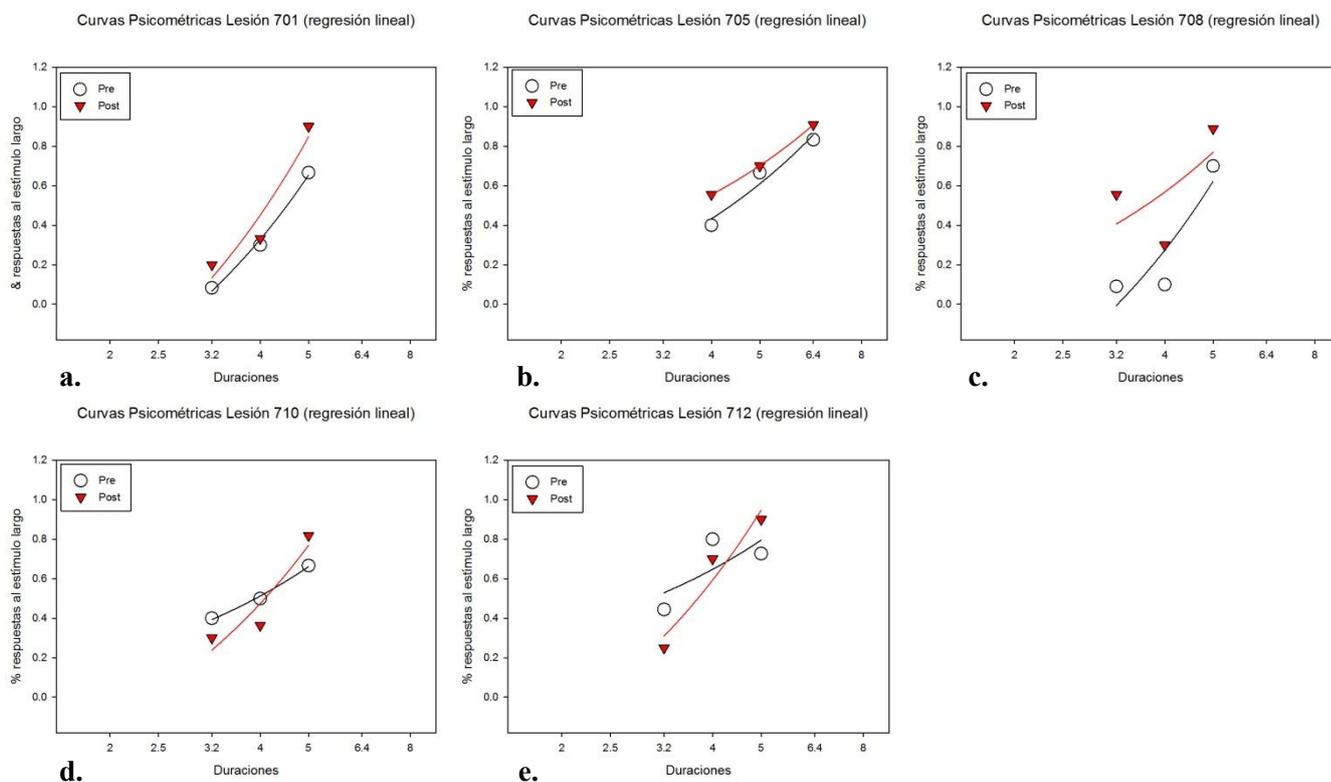
$p > 0.05$]; [$t = 0.73$, $p > 0.05$]; [$t = 0.47$, $p > 0.05$], respectivamente). La rata 711 mostró un decremento no significativo en el valor del punto de bisección [$t = -0.621$, $p > 0.05$] (panel d).



Gráfica 10: puntos de bisección de las ratas del grupo sham, obtenidos tras el ajuste de una regresión lineal. Los paneles *a*, *b*, *c* y *d* no muestran diferencias gráficas notables, mientras que el panel *e* ilustra un decremento en el valor de este indicador para la rata 711. Ninguna de las diferencias fue estadísticamente significativa.

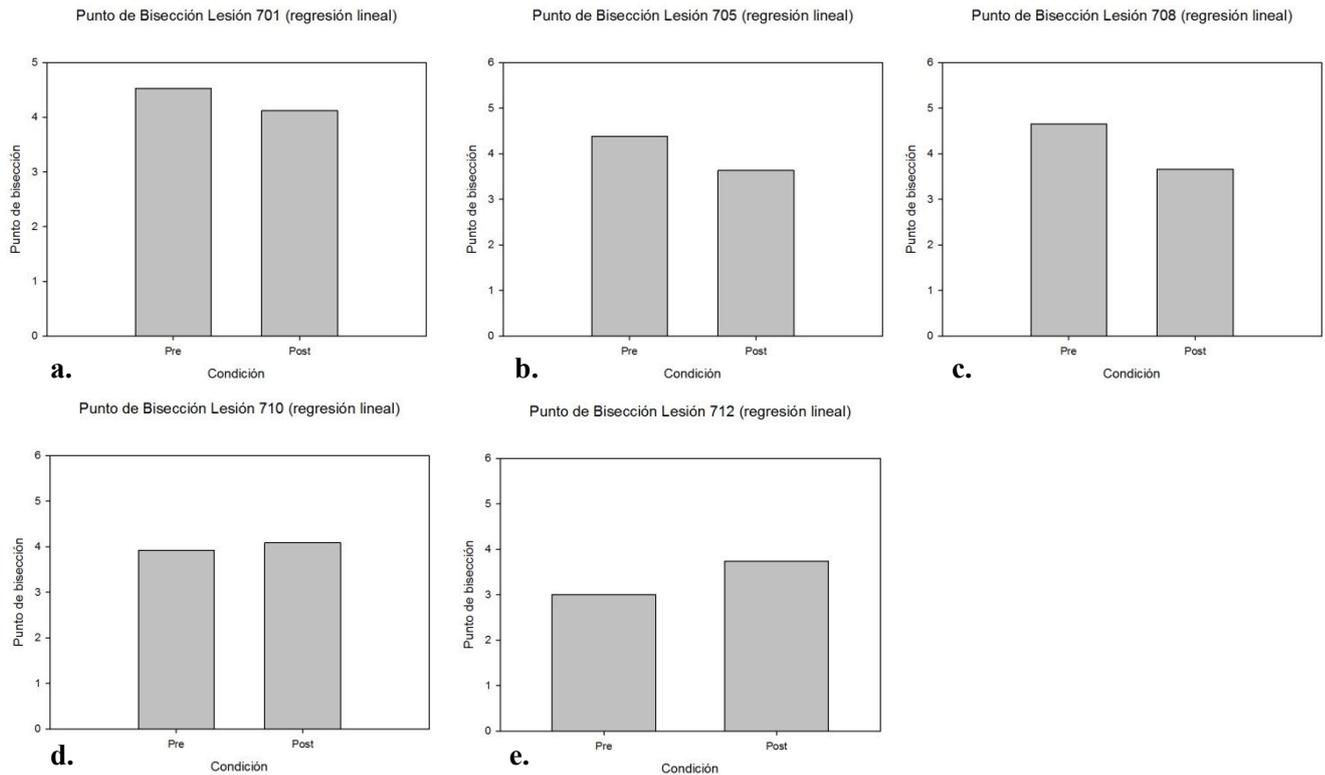
El ajuste de la regresión lineal a los datos del grupo lesión produjo curvas psicométricas con patrones similares (gráfica 11), si bien varias de las curvas mostraron alteraciones en la evaluación postquirúrgica. La rata 701 presentó un ligero incremento en la pendiente de dicha curva, además de un desplazamiento a la izquierda. El incremento en la pendiente también puede ser claramente observado en las ratas 710 (panel d) y 712 (panel e), en cuyos casos se cruzan las curvas de ambas mediciones. Las ratas 705 (en cuyo caso se graficaron las duraciones de 4, 5 y 6.4 segundos, al producir una pendiente mayor, según ilustra el panel b) y 708 (panel c) mostraron un decremento en la pendiente de la evaluación postquirúrgica,

adicional a un leve desplazamiento a la izquierda. La gráfica de la rata 703 fue omitida, debido a que la variabilidad de sus respuestas ante cada grupo de duraciones produjo curvas que habrían dificultado la correcta apreciación de los datos.



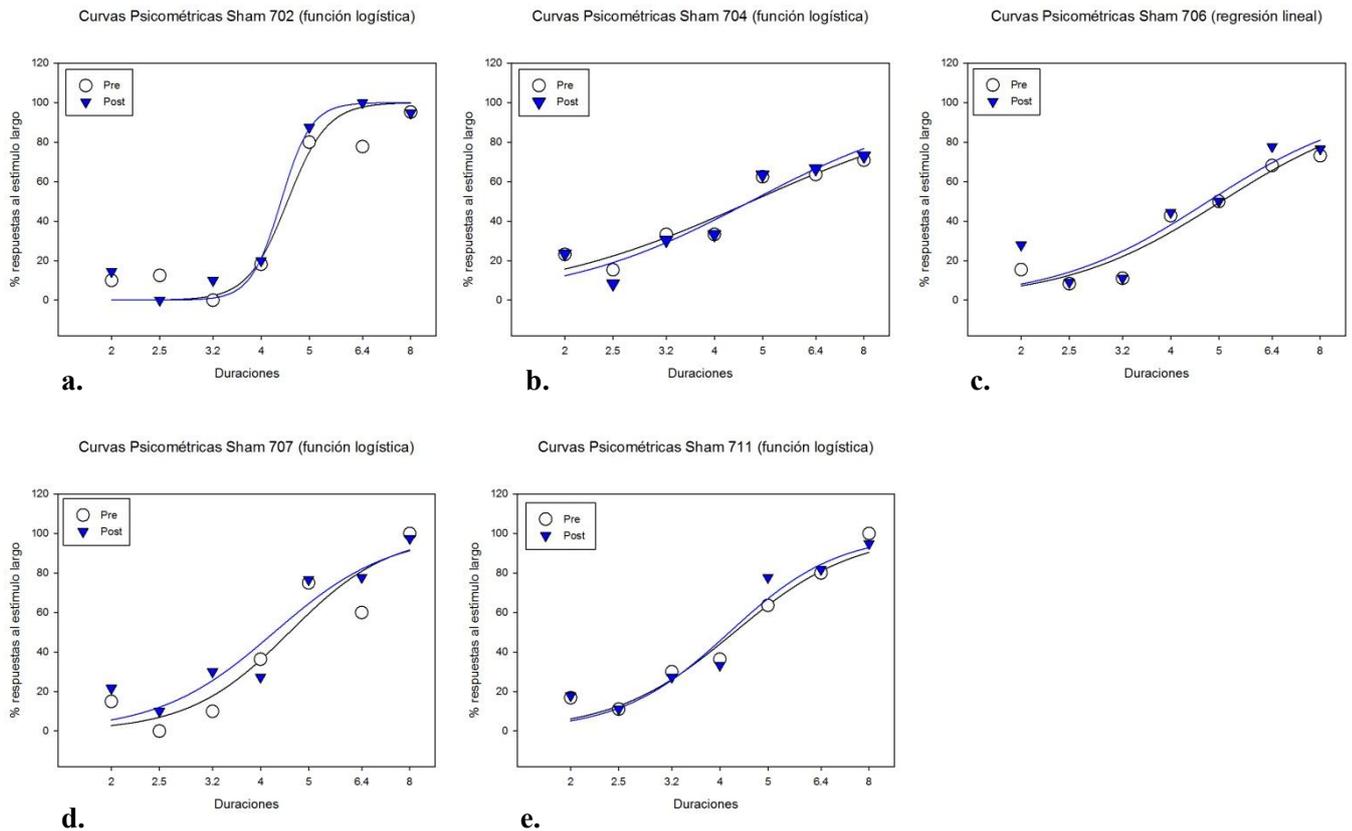
Gráfica 11: curvas psicométricas del grupo lesión, tras el ajuste de una regresión lineal. La rata 701 (panel *a*) mostró una pendiente pronunciada en ambas curvas, con un desplazamiento a la izquierda de la gráfica correspondiente a la evaluación postquirúrgica. Las ratas 705 y 708 (paneles *b* y *c*) registraron aplanamientos en la pendiente de la misma curva, adicionales a este desplazamiento, mientras que las ratas 710 y 712 (paneles *d* y *e*) mostraron un incremento en dicha pendiente.

La comparación del punto de bisección reveló una disminución en el valor de este indicador (ver gráfica 12) en las ratas 701 (panel *a*), 705 (panel *b*) y 708 (panel *c*). Las ratas 710 (panel *d*) y 712 (panel *e*) registraron mayores puntos de bisección en la evaluación postquirúrgica. Ninguna de las diferencias fue estadísticamente significativa ($[t = -0.744, p > 0.05]$; $[t = 0.810, p > 0.05]$; $[t = 0.416, p > 0.05]$; $[t = -0.621, p > 0.05]$ y $[t = -0.288, p > 0.05]$, respectivamente).



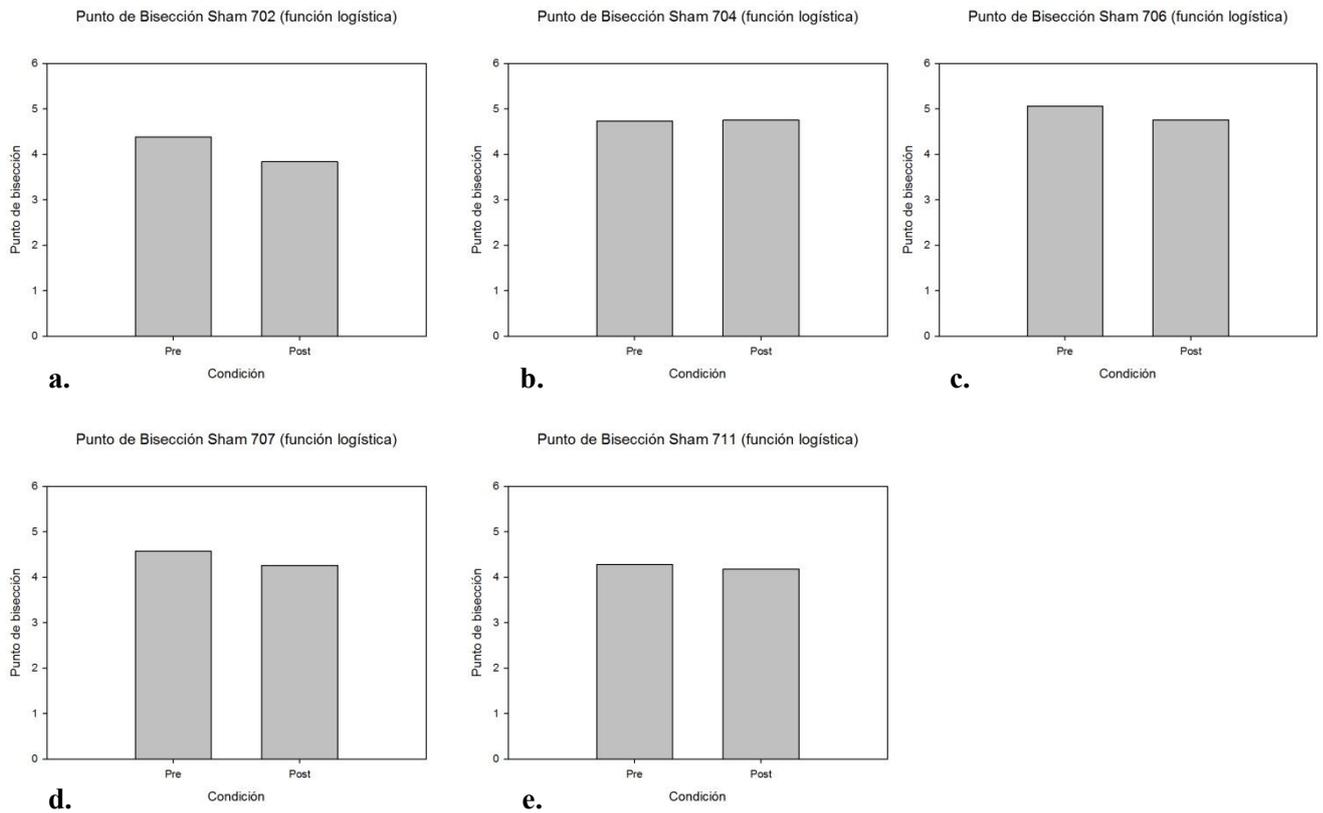
Gráfica 12: puntos de bisección del grupo lesión. Los paneles *a*, *b* y *c* muestran decrementos en el valor de este indicador, a diferencia de los paneles *d* y *e*, que ilustran un aumento en el mismo. Ninguna de las diferencias es estadísticamente significativa.

Tras el ajuste de la regresión lineal, se ajustó una función logística a los datos experimentales aportados por la tarea de bisección temporal. Las curvas psicométricas de las ratas del grupo sham obtenidas con esta función se muestran en la gráfica 13. Al igual que las obtenidas mediante la regresión lineal, se observa un desempeño muy semejante en ambas mediciones. En todos los casos pueden apreciarse pequeños cambios en la pendiente de las curvas correspondientes a la evaluación postquirúrgica, sin embargo, dichos cambios no parecen haber afectado drásticamente el desempeño de las ratas. Es notable que la rata 702 (panel a) produjo curvas con una pendiente mucho más pronunciada que el resto.



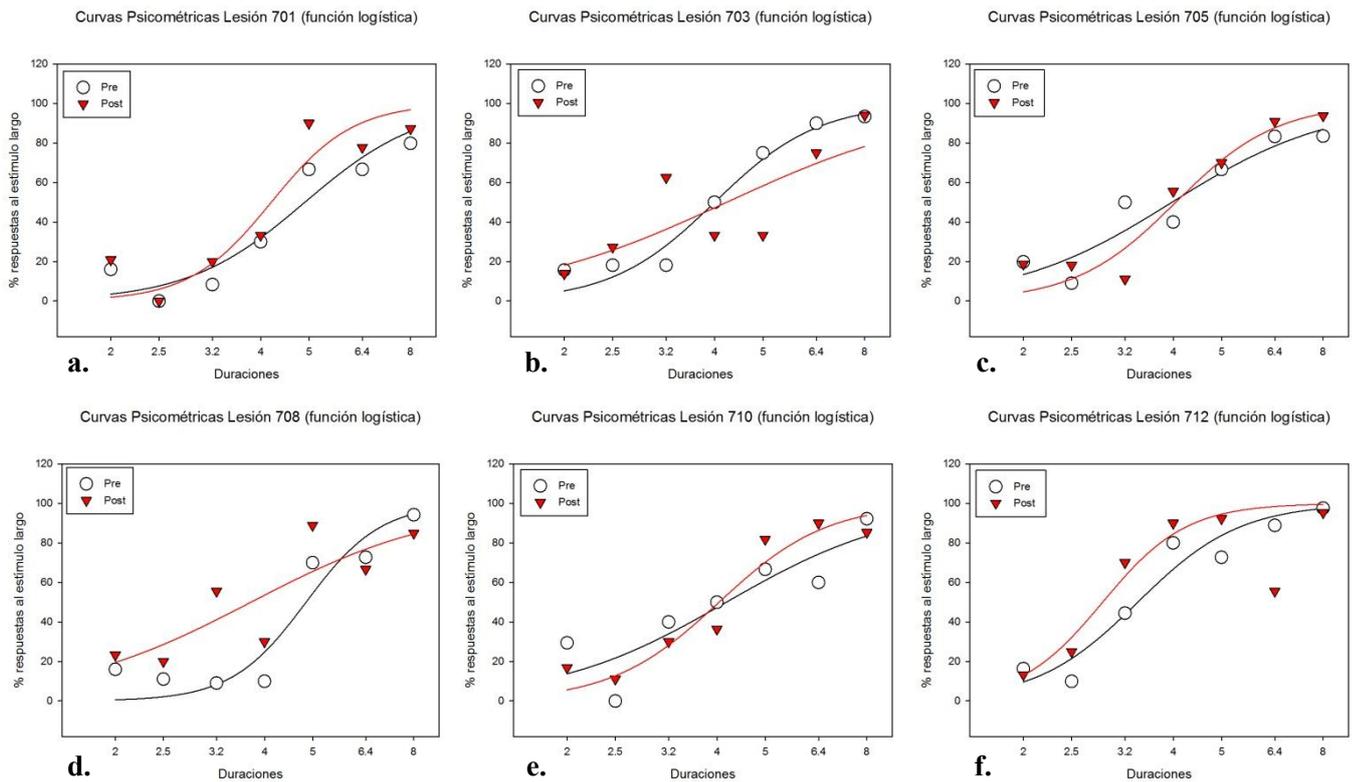
Gráfica 13: curvas psicométricas de las ratas pertenecientes al grupo sham, obtenidas mediante el ajuste de una función logística. Se observó un pequeño incremento en la pendiente de algunas de las curvas correspondientes a la evaluación postquirúrgica (paneles *a*, *b*, *c* y *e*). La rata 707 exhibió un ligero aplanamiento de la misma curva (panel *d*).

Se comparó el valor del punto de bisección entre evaluaciones (ver gráfica 14). Las ratas 704 (panel *b*) y 711 (panel *e*) no mostraron diferencias gráficas claras en el valor de este indicador y, de manera previsible, no registraron diferencias estadísticamente significativas ($[t = 0.141, p > 0.05]$ y $[t = 0.002, p > 0.05]$). En el resto de las ratas (paneles *a*, *c* y *d*) se observó un pequeño decremento en el punto de bisección, mismo que no resultó estadísticamente significativo ($[t = 0.476, p > 0.05]$; $[t = -0.168, p > 0.05]$ y $[t = -0.074, p > 0.05]$, respectivamente).



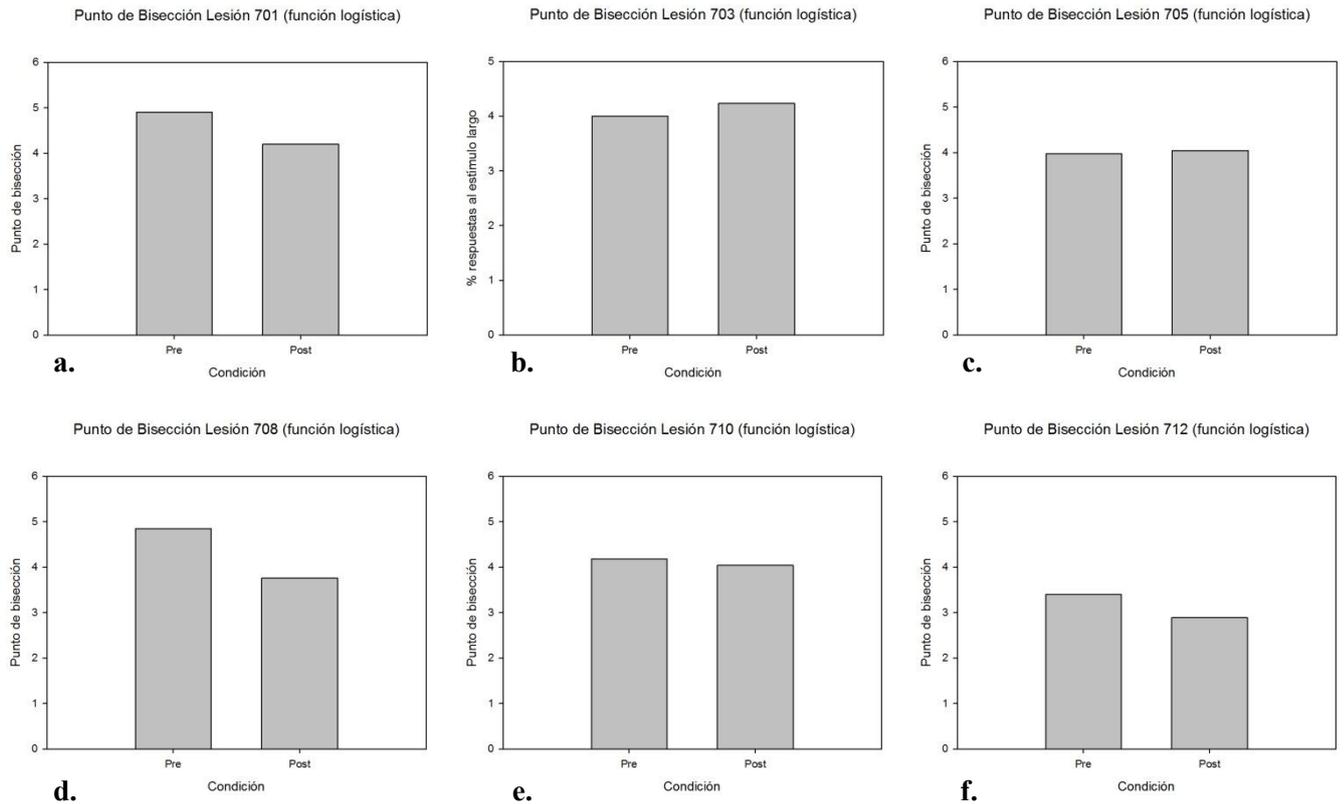
Gráfica 14: puntos de bisección de las ratas sham. Las ratas 704 (panel *b*) y 711(panel *e*) no mostraron diferencias gráficas importantes. En los paneles *a*, *c* y *d* se observa un pequeño decremento en el punto de bisección. Ninguna de las diferencias fue estadísticamente significativa.

Se ajustó la misma función logística a los datos de las ratas pertenecientes al grupo lesión (ver gráfica 15). Todas las ratas mostraron cambios en las pendientes de las curvas correspondientes a la evaluación postquirúrgica. Las ratas 701 (panel *a*), 705 (panel *c*), 710 (panel *e*) y 712 (panel *f*) presentaron un aumento en dicha pendiente, mientras que las ratas 703 (panel *b*) y 708 (panel *d*) produjeron curvas con pendiente disminuida en la segunda medición.



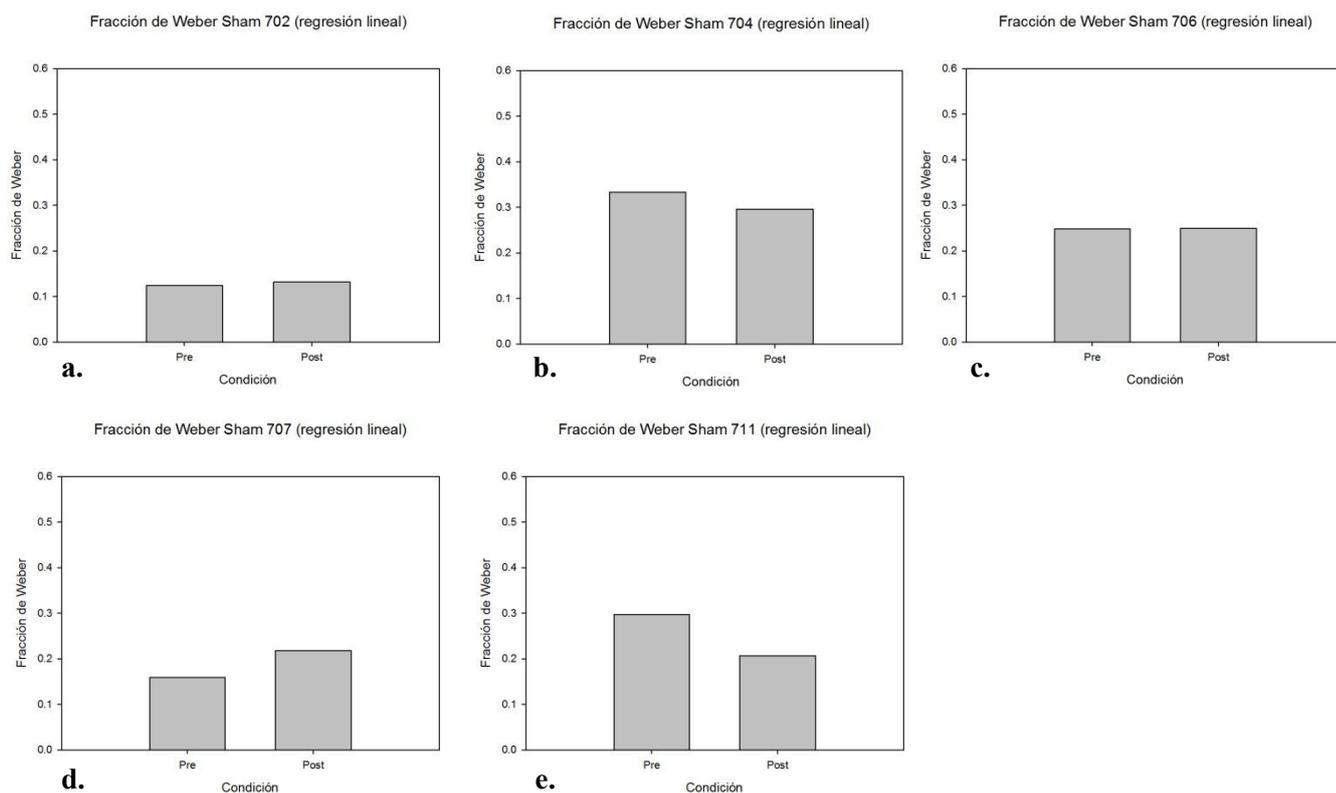
Gráfica 15: curvas psicométricas de las ratas del grupo lesión, obtenidas mediante el ajuste de una función logística. Todas presentaron cambios en la pendiente de la curva correspondiente a la evaluación postquirúrgica. Cuatro de las ratas (paneles *a*, *c*, *e* y *f*) exhibieron un incremento en la pendiente, misma en la que las restantes (paneles *b* y *d*) mostraron una disminución.

La gráfica 16 muestra las gráficas del punto de bisección generado por cada rata. Se observó un decremento en el valor de este indicador en las ratas 701 (panel *a*), 708 (panel *d*), 710 (panel *e*) y 712 (panel *f*), como consecuencia del cambio previamente observado en la pendiente de las curvas postquirúrgicas. Ninguno de estos cambios fue estadísticamente significativo ($[t = -0.921, p > 0.05]$; $[t = 0.674, p > 0.05]$; $[t = 0.067, p > 0.05]$ y $[t = -0.815, p > 0.05]$). Las ratas 703 (panel *b*) y 705 (panel *c*) registraron un incremento en el punto de bisección, igualmente no significativo ($[t = 0.000, p > 0.05]$ y $[t = -0.064, p > 0.05]$).



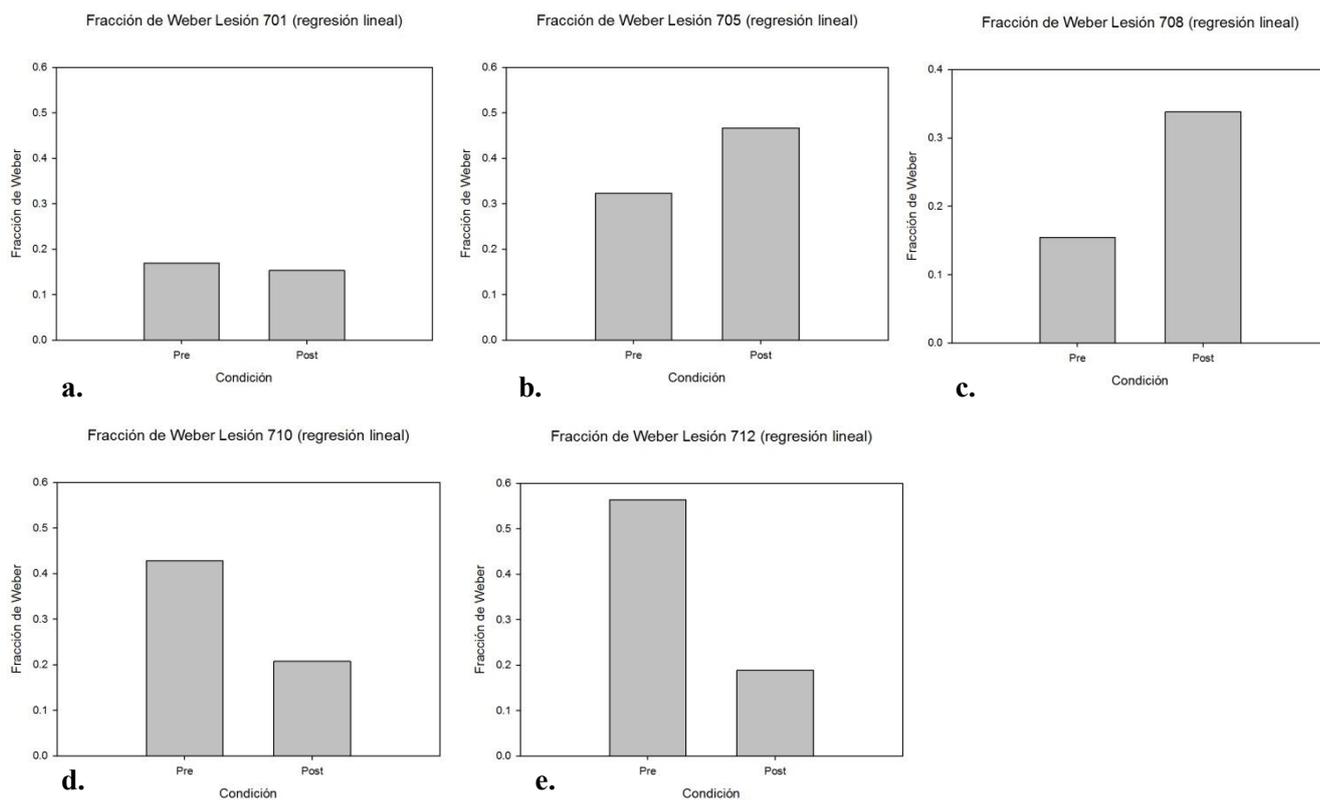
Gráfica 16: puntos de bisección de las ratas del grupo lesión, obtenidas mediante el ajuste de una función logística. Cuatro de las ratas (paneles *a*, *d*, *e* y *f*) mostraron un decremento en el valor de este indicador. Los paneles *b* y *c* ilustran un pequeño incremento en el mismo valor. Ninguno de los cambios fue estadísticamente significativo.

Se obtuvo la Fracción de Weber para cada rata (ver gráfica 17) del grupo sham, ajustando la función lineal anteriormente aplicada. Las ratas 702 (panel a) y 706 (panel c) no mostraron diferencias gráficas importantes ni estadísticamente significativas ($[t = 0.103, p > 0.05]$ y $[t = -0.428, p > 0.05]$). Las ratas 704 (panel b) y 711 (panel e) registraron un decremento en el valor de la Fracción de Weber, mientras que la rata 707 (panel d) incrementó dicho valor. Ninguno de estos cambios fue estadísticamente significativo ($[t = 0.090, p > 0.05]$; $[t = 0.137, p > 0.05]$ y $[t = 0.496, p > 0.05]$, respectivamente).



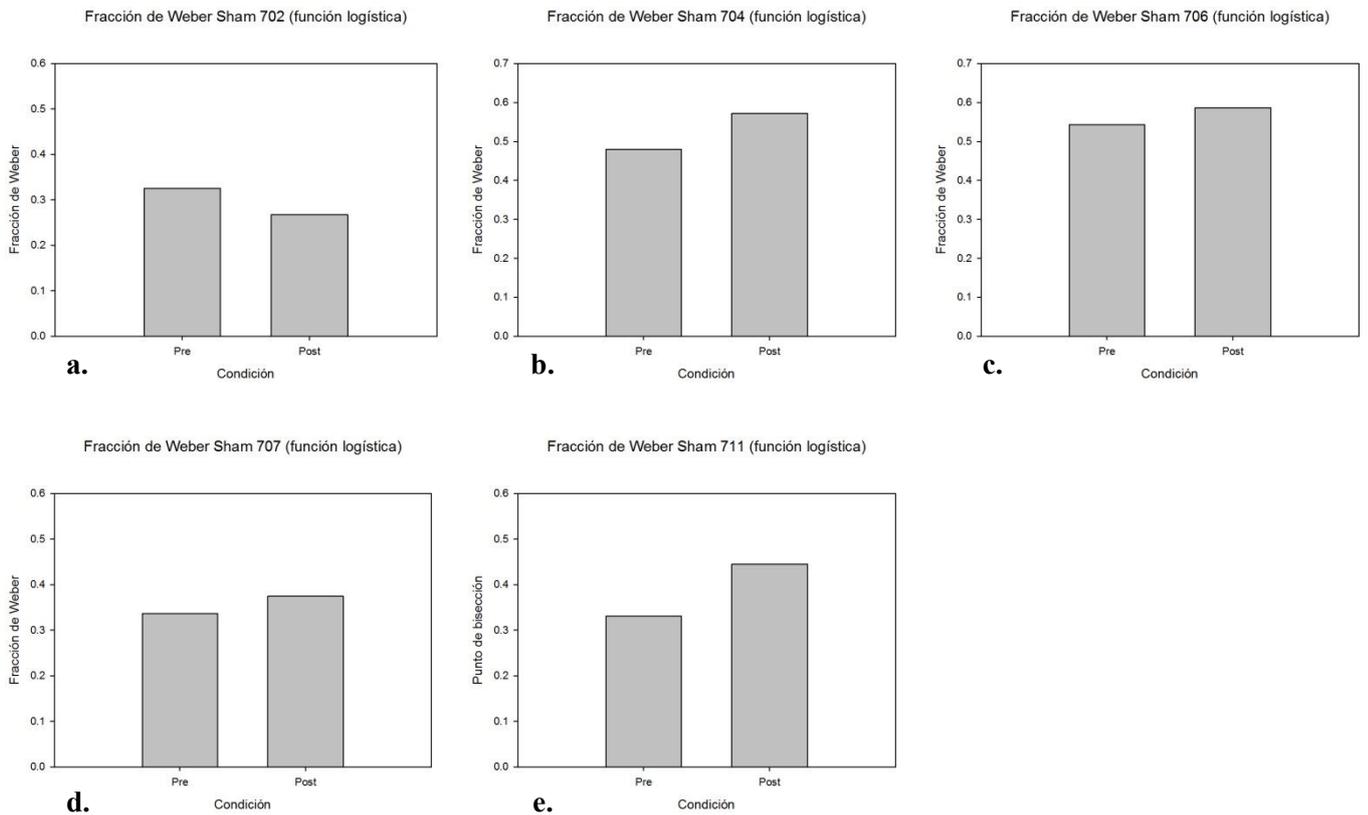
Gráfica 17: Fracciones de Weber de las ratas del grupo sham, obtenidas mediante el ajuste de una regresión lineal. Los paneles *a* y *c* no muestran diferencias gráficas importantes. En los paneles *b* y *e* registran una disminución en la Fracción de Weber, cuyo valor mostró un aumento en el panel *d*. Ninguno de los cambios entre mediciones fue estadísticamente significativo.

Al obtener la Fracción de Weber para cada rata del grupo lesión (gráfica 18), obtenida mediante el ajuste de una regresión lineal, se observó que este indicador exhibió un incremento en las ratas 705 (panel b) y 708 (panel c), que resultó no ser significativo ($[t = 0.636, p > 0.05]$ y $[t = 0.500, p > 0.05]$). Las ratas 701 (panel a), 710 (panel d) y 712 (panel e) mostraron una disminución claramente perceptible en la gráfica, pero igualmente no significativa ($[t = 0.702, p > 0.05]$; $[t = 0.000, p > 0.05]$ y $[t = 0.011, p > 0.05]$).



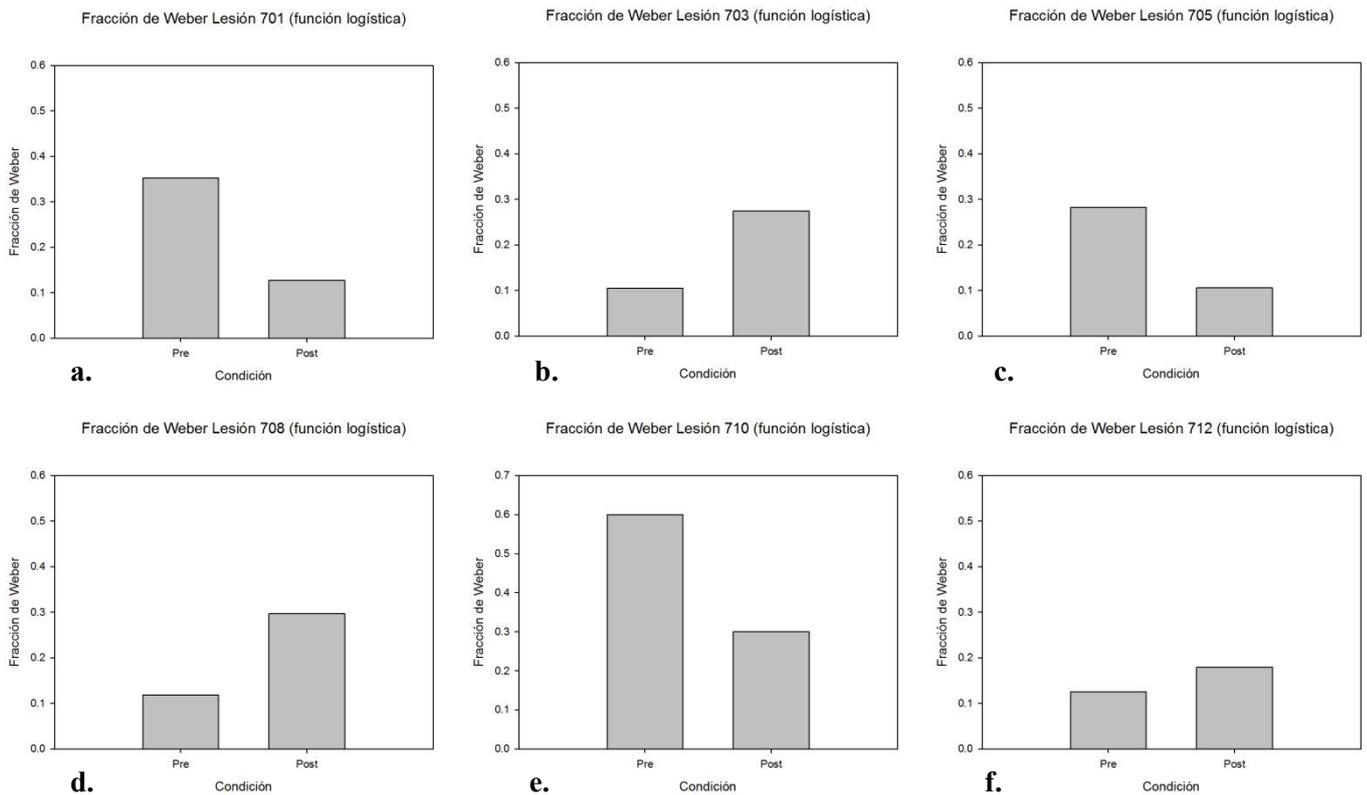
Gráfica 18: Fracciones de Weber para las ratas del grupo lesión, obtenidas mediante una regresión lineal. Los paneles *a*, *d* y *e* muestran decrementos en el valor de este indicador temporal, mientras que los paneles *b* y *c* ilustran un incremento en el mismo. Ninguno de los cambios entre evaluaciones fue estadísticamente significativo.

La comparación estadística de la Fracción de Weber, empleando la función logística, en las ratas del grupo sham reveló algunas diferencias gráficas entre evaluaciones (ver gráfica 19). La rata 702 (panel a) mostró un decremento no significativo en el valor de este indicador [$t = 0.943$, $p > 0.05$]. Las ratas 704 (panel b), 706 (panel c), 707 (panel d) y 711 (panel e) registraron un incremento en dicho valor, que resultó igualmente no significativo ($[t = 0.102, p > 0.05]$; $[t = 0.436, p > 0.05]$; $[t = 0.928, p > 0.05]$ y $[t = 0.450, p > 0.05]$).



Gráfica 19: Fracción de Weber de las ratas del grupo sham, obtenida mediante una función logística. Una de las ratas (panel *a*) registró un decremento en el valor de este indicador, mientras que las restantes (paneles *b*, *c*, *d* y *e*) mostraron un incremento en el mismo. Ninguno de los cambios fue estadísticamente significativo.

Al comparar la Fracción de Weber en las ratas del grupo lesión (ver gráfica 20), se observó que las ratas 702 (panel *a*), 705 (panel *c*) y 710 (panel *e*) registraron un decremento en el valor de este indicador, mismo que no resultó estadísticamente significativo ($[t = 0.0459, p > 0.05]$; $[t = 0.0454, p > 0.05]$ y $[t = 0.286, p > 0.05]$). Las ratas 703 (panel *b*), 708 (panel *d*) y 712 (panel *e*) exhibieron un incremento en la Fracción de Weber, igualmente no significativo ($[t = 0.427, p > 0.05]$; $[t = 0.408, p > 0.05]$ y $[t = 0.006, p > 0.05]$). Los cambios observados en las gráficas son consistentes con los cambios en la pendiente de las curvas psicométricas previamente presentadas.



Gráfica 20: Fracción de Weber de las ratas del grupo lesión, obtenida mediante el ajuste de una función logística. Tres de las ratas (paneles *a*, *c* y *e*) mostraron un decremento en el valor de dicho indicador. Las restantes (paneles *b*, *d* y *f*) presentaron una disminución en el mismo valor. Ninguno de los cambios fue estadísticamente significativo.

6.3. Histología.

La localización de la lesión fue comprobada visualmente, observando al microscopio las rebanadas obtenidas y determinando su extensión con base en esquemas de Paxinos y Watson (1997). Se observó que, tanto las inyecciones de 6 – hidroxidopamina como las de vehículo, se infundieron con éxito (ver figura 9). No se detectaron variaciones importantes en las áreas afectadas, por lo que ninguna rata fue excluida del análisis.

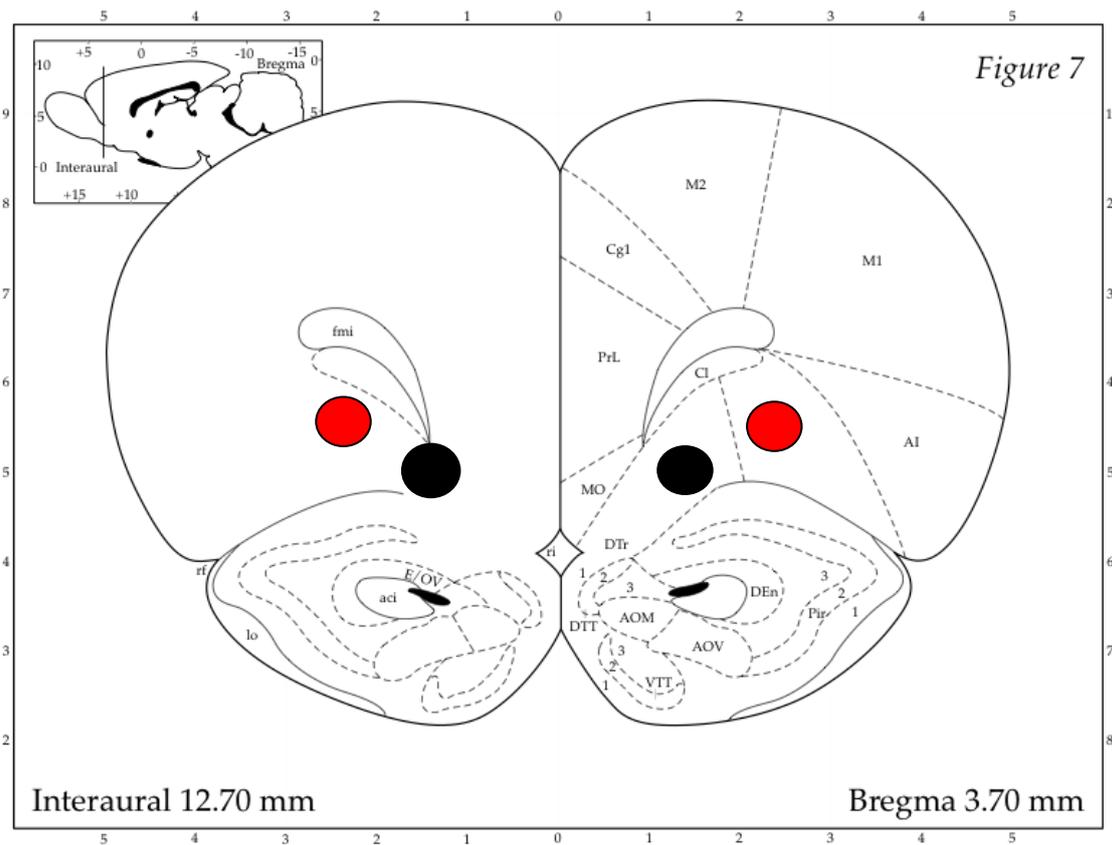


Figura 9: El esquema ilustra la localización de las lesiones efectuadas, luego de la observación y mapeo de las mismas. Los puntos negros corresponden al sitio 1 (AP +3.7 mm, L \pm 1.2 mm, DV - 4.8 mm). Los puntos rojos muestran el sitio 2 (AP +3.7 mm, L \pm 2.5 mm, DV - 4.4 mm). Ambos conjuntos de círculos representan de forma aproximada el área abarcada por cada infusión.

7. Discusión y conclusiones.

El objetivo principal del presente estudio era determinar el papel de la dopamina en la corteza orbitofrontal en la estimación temporal retrospectiva. El limitado tamaño de la muestra no permitió obtener resultados estadísticamente significativos en la evaluación grupal, por lo que los datos aportados por el presente estudio deben ser tomados como preliminares, en espera de una replicación con una muestra mayor. Si bien las pruebas paramétricas empleadas no encontraron diferencias significativas, se apreciaron claras diferencias gráficas que señalan una tendencia en los datos. A partir de estas apreciaciones, se decidió aplicar una prueba no paramétrica, con el fin de describir los cambios entre mediciones.

La prueba del signo sugirió un cambio en el valor del punto de bisección, ocurrido en la evaluación postoperatoria y observable en el grupo lesión. Las gráficas de ambos grupos (lesión y sham) exhibieron una disminución en el valor de este indicador en la evaluación postoperatoria. La diferencia es perceptible sólo en el caso de la función logística, pues las gráficas de punto de bisección obtenidas mediante la regresión lineal muestran un cambio mucho menor, que no fue considerado significativo por ninguna de las pruebas estadísticas. Las diferencias entre los resultados aportados por las funciones pueden deberse al número de duraciones considerado por cada una: la regresión lineal toma en cuenta conjuntos de tres duraciones y sólo puede calcular el punto de bisección a partir del que genere la mayor pendiente. En este caso, varias de las ratas mostraron mayores variaciones entre mediciones al graficar los conjuntos que incluyen los estímulos extremos. Dichas variaciones no fueron tomadas en cuenta, debido a que las curvas en que se observan no tienen la mayor pendiente y, por tanto, no pueden ser la fuente de los datos que permiten calcular el punto de bisección. En este sentido, la función logística resulta más útil, al permitir una apreciación completa de los datos experimentales, pues considera todos los estímulos presentados durante la prueba.

El cambio en el punto de bisección es apreciable con mayor facilidad en las gráficas individuales, donde tres de las ratas del grupo lesión exhibieron un desplazamiento a la izquierda de la curva correspondiente a la evaluación postquirúrgica en las gráficas generadas por ambas funciones, mientras que el grupo sham no mostró variaciones considerables. Estos cambios sugieren la participación de la dopamina en corteza orbitofrontal en la regulación de la velocidad del hipotético reloj interno.

Dicha participación puede explicarse a través de las conexiones que mantiene la región con estructuras que han sido tradicionalmente relacionadas con la estimación de intervalos. Se ha determinado que la corteza orbitofrontal mantiene aferencias y eferencias con regiones prefrontales (Carmichael y Price, 1995), tálamo mediodorsal, mismo que también mantiene conexiones con corteza prefrontal medial (Cavada et al. 2000), y estriado, así como con las regiones ventromediales del núcleo caudado y putamen (Selemon y Goldman-Rakic, 1985). Estas conexiones sugieren la participación de la corteza orbitofrontal en el circuito descrito por Meck (1996) como sustento biológico del hipotético reloj interno. El circuito inicia con inputs generados en la corteza, principalmente en el lóbulo frontal, que son recibidos por el

estriado. Es en el putamen y caudado que se localiza el componente perceptual del reloj, ya que se atribuye a estas áreas el funcionamiento del marcapasos y del switch atencional. La información generada en este nivel es enviada, ya sea directamente o a través del núcleo subtalámico, al núcleo entopeduncular, que cumple la función del integrador. Las señales se envían, a través del tálamo, de vuelta a la corteza, que lleva a cabo el proceso de toma de decisión (Meck, 1996; 2006).

De acuerdo con esta propuesta, la participación del lóbulo frontal estaría relacionada con el componente de toma de decisiones y, en conjunto con el lóbulo temporal, con la memoria de referencia que almacena las duraciones de eventos relevantes (Meck, 1996). Asimismo, se ha documentado que los receptores D_2 localizados a lo largo de la vía cortico-estriatal, son críticos para el control asociativo de la velocidad del reloj interno (Meck, 2006). Por otra parte, tradicionalmente se ha considerado que la disminución en los niveles de dopamina produce una deceleración del reloj interno (Maricq y Church, 1983), reflejada en un desplazamiento de las curvas psicométricas a la derecha y en un incremento sustancial en el punto de bisección, caso contrario al efecto producido por la lesión efectuada en el presente estudio. Sin embargo, debe considerarse que la lesión en la corteza orbitofrontal pudo producir un desbalance en los niveles dopaminérgicos entre esta región y el estriado, produciendo hipersensibilidad en este último.

Los antecedentes mencionados permiten suponer que la lesión en la corteza orbitofrontal no tiene un efecto directo sobre la velocidad del reloj, sino sobre la regulación cortical del circuito propuesto por Meck. El desplazamiento a la izquierda de las curvas psicométricas producidas por el grupo lesión es consistente con las diversas observaciones que han vinculado a la corteza orbitofrontal con respuestas impulsivas (Schoenbaum et al. 2006) y con la sobreestimación y subproducción de intervalos de tiempo, indicadores de una sensación subjetiva del tiempo más rápida que la de sujetos sanos (Berlin et al. 2004). Estas observaciones constituyen otra posibilidad que da cuenta de la aparente contradicción relativa a la posición de las curvas psicométricas.

Además del desplazamiento, se observaron cambios en la pendiente de las curvas del grupo lesión, correspondientes a la evaluación postquirúrgica. Estos cambios se reflejaron en la Fracción de Weber, cuyo valor fue distinto entre mediciones, aumentando en tres casos y disminuyendo en los restantes. Los cambios en el valor de este indicador sugieren que la lesión no tuvo un efecto único sobre el

funcionamiento del reloj, ya que no sólo alteró su velocidad, sino la sensibilidad de cada sujeto al paso del tiempo. Una explicación a este fenómeno consiste en la posibilidad de que la lesión produjera alteraciones en la evaluación del reforzador. Se ha observado que ratas con lesiones en esta región eligen reforzadores entregados tras una mayor demora, una vez transcurridos intervalos cuya duración provoca que ratas sham cambien su preferencia al reforzador menos demorado (Winstanley et al. 2004), lo que sugiere que el papel de la corteza orbitofrontal puede no ser la inhibición de conductas impulsivas, sino la actualización del valor del reforzador bajo condiciones cambiantes. Estos datos son aplicables al experimento realizado en el presente estudio, si se considera que las ratas pudieron haber aumentado sus respuestas al estímulo largo, aún cuando se les presentaban las duraciones más cortas. Puede apreciarse en las gráficas que los cambios en las pendientes de algunos de los sujetos ocurrieron debido a la mayor cantidad de respuestas para el estímulo de ocho segundos. Un efecto de esta naturaleza sería observable con mayor facilidad en una tarea de elección inter-temporal. Los datos arrojados por el presente estudio no sustentan completamente esta posibilidad, aunque tampoco la excluyen. Probablemente sea más plausible que los cambios en la Fracción de Weber ocurran como consecuencia de dificultades en el proceso de toma de decisiones, que podrían verse reflejadas en cambios en los valores de este indicador.

El único análisis que encontró cambios significativos fue el de latencias de respuestas correctas e incorrectas, encontrándose que las ratas del grupo lesión exhibieron una mayor latencia en la emisión de respuestas correctas a ambos estímulos (dos y ocho segundos), en comparación con su desempeño previo a la cirugía. En apariencia, este resultado puede parecer contradictorio con las observaciones que vinculan la corteza orbitofrontal con la impulsividad, ya que se esperaría que la lesión generara una disminución en las latencias de respuesta. Esta aparente contradicción sugiere que la lesión pudo afectar el proceso de toma de decisiones, sin interrumpirlo por completo. Esto implicaría que la rata sigue siendo capaz de integrar la información proveniente del núcleo entopeduncular, pero presenta dificultades en el momento de tomar una decisión con respecto a la respuesta a emitir. El número de errores no resultó significativo, lo cual apoya la noción de que el sistema de toma de decisiones no es completamente suprimido. Cabe recordar que la corteza orbitofrontal ha sido tradicionalmente relacionada con el proceso de toma de decisiones (Gottfried et al. 2003), a través de diversos procesos, que incluyen el mantenimiento de representaciones flexibles de valores predichos, la codificación de errores en la predicción y la señalización de la elección conductual futura (O'Doherty y Dolan, 2006). Sin embargo, los datos

aportados por el presente experimento son insuficientes para determinar cuál de los factores que influyen en la toma de decisiones es afectado por la lesión. Asimismo, no es posible determinar si existe algún tipo de sistema compensatorio, que comparta este papel con la corteza orbitofrontal y participe en la estimación de intervalos, aunque es probable que otras regiones del lóbulo frontal colaboren en esta tarea.

A modo de conclusiones puede decirse que los resultados del presente estudio sugieren la participación de la corteza orbitofrontal en la estimación de intervalos, en el rango de segundos a minutos. De acuerdo con estudios previos, la región estudiada no lleva a cabo las funciones perceptuales del reloj interno, como la emisión e integración de pulsos, sino que se dedica a funciones ejecutivas y de toma de decisión. Por tanto, los cambios en la posición de las curvas psicométricas, reflejados en el valor del punto de bisección, no obedecen a una aceleración *per se* del reloj interno, sino que se relacionan con conductas impulsivas, cuya emisión es característica de lesiones en la corteza orbitofrontal. Los cambios en la Fracción de Weber pueden deberse a distintos factores y se ha contemplado la posibilidad de que obedezcan a alteraciones en la evaluación de los reforzadores presentados tras la presentación de cada estímulo, siendo éste un factor determinante para la elección flexible de pautas conductuales. También es posible que se deba a alteraciones en el proceso de toma de decisiones, cuyo impacto es mucho más claro al considerar los cambios significativos en la latencia de respuestas correctas, observados en la medición postquirúrgica del grupo lesión. El fenómeno de elección al estímulo corto también constituye una opción, dado el comportamiento de las latencias ante ambos estímulos.

Los datos recabados por el presente experimento resultan insuficientes para determinar con total exactitud el papel de la corteza orbitofrontal en la estimación de intervalos, por lo que se han propuesto diversas alternativas, concernientes a funciones conocidas desempeñadas por la región. Aún no existe una subdivisión clara de esta porción del lóbulo frontal. Algunos estudios de neuroimagen en humanos, mencionados anteriormente, han identificado subregiones que parecen desempeñar funciones específicas, pero sus observaciones siguen siendo inconsistentes. Por otra parte, la homologación de estructuras entre especies no es del todo precisa. La posibilidad de que la infusión de 6 – Hidroxidopamina se difundiera a distintas subregiones de la corteza orbitofrontal no puede excluirse, ya que no se han definido con claridad las divisiones funcionales dentro de la región en ratas, si bien fue comprobada la localización de la lesión a través de la observación del tejido teñido con azul de metileno. La realización de experimentos

que persigan este propósito, tanto en roedores como en otros mamíferos, es necesaria para una mayor comprensión de la región. También se requiere la utilización oportuna de métodos histológicos precisos, como la cromatografía líquida de alto desempeño, para descartar completamente la extensión del efecto de la toxina a otros sistemas de neurotransmisión. Igualmente, es recomendable la replicación del presente estudio con una muestra mayor, ya que esto muy probablemente permitiría la obtención de resultados significativos en las pruebas estadísticas aplicadas a los datos de punto de bisección y Fracción de Weber, así como la obtención de curvas psicométricas más definidas. Futuras investigaciones con lesiones selectivas a terminales noradrenérgicas y serotoninérgicas significarían un avance importante en la caracterización de la corteza orbitofrontal dentro del proceso de estimación de intervalos.

En última instancia, la carencia de resultados significativos y las dudas que ésta genera invita a la reflexión con respecto a la solidez de los distintos modelos de estimación temporal. A pesar de la dominancia de grandes modelos como SET y BET, no existe una teoría unificada con suficiente fuerza explicativa para dar respuesta a las preguntas más generales planteadas dentro de este campo de investigación. Existe, por tanto, un vacío conceptual asociado a cada trabajo en el área, que no podrá ser llenado mientras no se realicen estudios dirigidos a este propósito.

Referencias.

Amalric, M., y Koob, G.F. (1987). Depletion of dopamine in the caudate nucleus but not in nucleus accumbens impairs reaction-time performance in rats. *Journal of Neuroscience*. 7: 2129-2134.

Aschoff J. (1985). On the perception of time during prolonged temporal isolation. *Human Neurobiology*. 4(1):41-52.

Bechara, A., Damasio, H., Damasio, A.R., y Lee, G.P. (1999). Different contributions of the human amygdala and ventromedial prefrontal cortex to decision-making. *Journal of Neuroscience*. 19, 5473–5481.

Berlin, H. A., Rolls, E. T., y Kischka, U. (2004). Impulsivity, Time Perception, Emotion and Reinforcement Sensitivity in patients with Orbitofrontal Cortex Lesions. *Brain*, 127: 1108 – 1126.

Berns, G.S., McClure, S.M., Pagnoni, G., y Montague, P.R., (2001). Predictability modulates human brain response to reward. *Journal of Neuroscience*. 21: 2793–2798.

Bizo, L.A., y White, K.G. (1997). The behavioral theory of timing: reinforce rate determines pacemaker rate. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*. 23: 44-55.

Boisvert, M.J., y Sherry, D.F. (2006). Interval Timing by an Invertebrate, the Bumble Bee *Bombus Impatiens*. *Current Biology*, 16(16): 1636 – 40.

Buhusi, C.V., y Meck, W.H. (2002). Differential Effects of Metamphetamine and Haloperidol on the Control of an Internal Clock. *Behavioral Neuroscience*, 116(2): 291 – 7.

Carlson, N. (2006). *Fisiología de la Conducta* (8 ed.). Madrid: Pearson.

Carmichael, S.T., y Price, J.L. (1994). Architectonic subdivision of the orbital and medial prefrontal cortex in the macaque monkey. *The Journal of Comparative Neurology*. 346(3): 366-402.

- Carmichael, S.T., y Price, J.L. (1995). Limbic connections of the orbital and medial prefrontal cortex in macaque monkeys. *The Journal of Comparative Neurology*. 363(4): 615-641.
- Cavada, C., Company, T., Tejedor, J., Cruz Rizzolo, R.J., y Reinoso Suarez, F., (2000). The anatomical connections of the macaque monkey orbitofrontal cortex: a review. *Cerebral Cortex*. 10, 220-242.
- Cevik, M.O. (2003). Effects of methamphetamine on duration discrimination. *Behavioral Neuroscience*, 117(4), 774-784.
- Chiang, T.J., Al-Ruwaitea, A.S., Mobini, S., Ho, M.Y., Bradshaw, C.M., y Szabadi, E. (2000). The effect of d-amphetamine on performance on two operant timing schedules. *Psychopharmacology*, 150(2), 170-184.
- Church, R.M. (1984). Properties of the internal clock. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 423: 566-582.
- Church, R.M. (1997). Timing and Temporal Search. In Bradshaw C.M. y E. Szabadi (Eds.), *Time and Behaviour: Psychological and Neurobehavioural Analyses*. Netherlands: North-Holland. 41-78.
- Church, R.M. (2003). A Concise Introduction to Scalar Timing Theory. In W. H. Meck (Ed.), *Functional and Neural Mechanisms of Interval Timing*. New York: CRC Press. 3-22.
- Church, R.M., y Broadbent, H.A. (1990). Alternative representations of time, number and rate. *Cognition*. 37:55-81.
- Church, R.M., y Deluty, M.Z. (1977). Bisection of temporal intervals. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*. 3(3): 216 -228.
- Cooper, R.J., Bloom, E.F., y Roth, H.R. (2003). *The Biochemical Basis of Neuropharmacology*. New York: Oxford University Press.
- Cordes, S., King, A.P., y Gallistel, C.R. (2007). Time left in the mouse. *Behavioural Processes*, 74(2), 142-151.

Cropley, V.L., Fujita, M., Innis, R.B., y Nathan, P.J. (2006). Molecular imaging of the dopaminergic system and its association with human cognitive function. *Biological Psychiatry*, 59(10), 898-907.

Curch, RM, y Gibbon, J. (1982). Temporal generalization. *Journal of Experimental Psychology. Animal Behavior Processes*. 8(2):165-86.

Eagleman, DM, Tse PU, Buonomano D, Janssen P, Nobre AC, y Holcombe AO (2005). Time and the Brain: How Subjective Time relates to Neural Time. *The Journal of Neuroscience*. 25 (45): 10369 – 10371.

Elliott, R., Newman, J.L., Longe, O.A., y Deakin, J.F. (2003). Differential response patterns in the striatum and orbitofrontal cortex to financial reward in humans: a parametric functional magnetic resonance imaging study. *Journal of Neuroscience*. 23: 303–307.

Eslinger, P., y Damasio, A., (1985). Severe disturbance of higher cognition after bilateral frontal lobe ablation: patient EVR. *Neurology* 35, 1731–1741.

Fuster, J.M. (1997). Network memory. *Trends in Neuroscience*. 20(10): 451-9.

Gallistel, C.R. (1990). The organization of learning. *Cambridge, MA: Bradford Books/MIT Press*.

Gibbon, J. (1977). Scalar expectancy theory and Weber's law in animal timing. *Psychological Review*. 84(3), 279-325.

Gibbon, J. (1992). Ubiquity of scalar timing with a Poisson clock. *Journal of Mathematical Psychology*. 36:283-93.

Gibbon, J., y Church, R.M. (1981). Time left: linear versus logarithmic subjective time. *Journal of Experimental Psychology and Animal Behavior Processes*. 7(2): 107.

Gibbon, J., y Church, R.M. (1990). Representation of time. *Cognition*, 37(1-2), 54.

Gibbon, J., Church, R.M., y Meck, W.H. (1984). Scalar timing in memory. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 423: 52-77.

Gibbon, J., Fairhurst, S., y Goldberg, B. (1997). Cooperation, conflict and compromise between circadian and interval clocks in pigeons. En C. M. Bradshaw y E. Szabadi (Eds.), *Time and behaviour: Psychological and Neurobehavioural Analyses*. New York: Elsevier. 329-384.

Gibbon, J., Malapani, C., Dale, C.L., y Gallistel, C. (1997). Toward a neurobiology of temporal cognition: advances and challenges. *Current Opinions in Neurobiology*, 7(2): 184.

Gottfried, J.A., O'Doherty, J., y Dolan, R.J. (2002). Appetitive and aversive olfactory learning in humans studied using event-related functional magnetic resonance imaging. *Journal of Neuroscience*. 22: 10829–10837.

Gottfried, J.A., O'Doherty, J., y Dolan, R.J. (2003). Encoding predictive reward value in human amygdala and orbitofrontal cortex. *Science*. 301: 1104–1107.

Grondin, S. (2001). From physical time to the first and second moments of psychological time. *Psychological Bulletin*. 127(1):22-44.

Harper, D.N., Bizo, L.A., y Peters, H. (2006). Dopamine agonists and antagonists can produce an attenuation of response bias in a temporal discrimination task depending on discriminability of target duration. *Behavioural Processes*. 71(2-3): 286-296.

Ho, M.Y., Velazquez-Martinez, D.N., Bradshaw, C.M., y Szabadi, E. (2002). 5-Hydroxytryptamine and interval timing behaviour. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 71(4): 773-785.

Iversen, S.D., y Iversen, L.L. (2007). Dopamine: 50 years in perspective. *Trends in Neurosciences*. 30(5): 188-193.

Kalsbeek, A, Perreau-Lenz, S, y Buijs, RM. (2006). A network of (autonomic) clock outputs. *Chronobiology International*. 23(1-2): 201-15.

Kheramin, S., Body, S., Ho, M., Velazquez-Martinez, D.N., Bradshaw, C.M., Szabadi, E., Deakin, J.F., et al. (2003). Role of the orbital prefrontal cortex in choice between delayed and uncertain reinforcers: a quantitative analysis. *Behavioral Processes*, 64(3): 250.

Killeen, P.R., y Fetterman, J.G. (1988). A behavioral theory of timing. *Psychological Review*, 95(2), 295.

Killeen, P.R., Fetterman, J.G., y Bizo, L.A. (1997). Time's causes. En: Bradshaw CM, Szabadi E (Eds.). *Time and Behavior: Psychological and neurobehavioral analyses*. Amsterdam: Elsevier. 79-132.

Kraemer, P. J., Randall, C. K., Dose, J. M., y Brown, R. W. (1997). Impact of d-amphetamine on temporal estimation in pigeons tested with a production procedure. *Schizophrenia Research*. 35, S67-S73.

Krettek, J.E., y Price (1977). The cortical projections of the mediodorsal nucleus and adjacent thalamic nuclei in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*. 359: 48-68.

Kringelbach, M. L. (2004). The Human Orbitofrontal Cortex: Linking Reward to Hedonic Experience. *Nature Reviews*, 6: 691 – 703.

Lewis, P.A., Miall, R.C., Daan, S., y Kacelnik, A. (2003). Interval timing in mice does not rely upon the circadian pacemaker *Neuroscience Letters*, 348(3): 134.

Lishman, W.A. (1998) *Organic psychiatry*, 3a. ed. Blackwell, Oxford.

Machado, A. (1997). Learning the temporal dynamics of behavior. *Psychological Review*. 104(2), 265.

Machado, A., y Guilhardi, P. (2000). Shifts in the psychometric function and their implications for models of timing. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, 74(1), 54.

Machado, A., y Pata, P. (2005). Testing the scalar expectancy theory (SET) and the learning-to-time model (LeT) in a double bisection task. *Learning y Behavior*. 33(1), 111-122.

Maricq, A.V., y Church, R.M. (1983). The differential effects of haloperidol and methamphetamine on time estimation in the rat. *Psychopharmacology*, 79(1): 10-15.

Maricq, A.V., Roberts, S., y Church, R.M. (1981). Methamphetamine and time estimation. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 7(1): 18-30.

Matell, M. S., y Meck, W. H. (2000). Neuropsychological Mechanisms of Interval Timing Behavior. *BioEssays: news and reviews in molecular, cellular and developmental biology*, 22(1): 94 – 103.

- Matell, M.S., Meck, W.H., y Nicolelis, M.A. (2003). Interval timing and the encoding of signal duration by ensembles of cortical and striatal neurons. *Behav. Neurosci.*, 117(4), 773.
- McClure, E.A., Saulsgiver, K.A., y Wynne, C.D. (2005). Effects of D-amphetamine on temporal discrimination in pigeons. *Behavioral Pharmacology*, 16(4): 193-208.
- Meck, W.H. (1983). Selective adjustment of the speed of internal clock and memory processes. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 9(2): 171-201.
- Meck, W.H. (1986). Affinity for the dopamine D2 receptor predicts neuroleptic potency in decreasing the speed of an internal clock. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 25(6): 1185-1189.
- Meck, W.H. (1996). Neuropharmacology of timing and time perception. *Brain Research: Cognitive Brain Research*, 3(3-4): 227-242.
- Meck, W.H. (2003). Introduction: The Persistence of Time. In W. H. Meck (Ed.), *Functional and Neural Mechanisms of Interval Timing* (pp. xvii-xli). New York: CRC Press.
- Meck, W.H. (2006a). Frontal cortex lesions eliminate the clock speed effect of dopaminergic drugs on interval timing. *Brain Research*. 1108(1):157-67.
- Meck, W.H. (2006b). Neuroanatomical localization of an internal clock: a functional link between mesolimbic, nigrostriatal and mesocortical dopaminergic systems. *Brain Research*. 1109: 93-107.
- Mobini, S., Body, S., Ho, M., Bradshaw, C.M., Szabadi, E., Deakin, J.F.W., y Anderson, I.M. (2002). Effects of lesions of the orbitofrontal cortex on sensitivity to delayed and probabilistic reinforcement. *Psychopharmacology*. 160: 290-298.
- O'Doherty, J.P., y Dolan, R.J. (2006). The role of human orbitofrontal cortex in reward prediction and behavioral choice: insights from neuroimaging. En: Zald, D.H., y Rauch, S.L. (Eds.). *The orbitofrontal cortex*. Oxford University Press. 10: 265-285.
- O'Doherty, J., Kringelbach, M.L., Rolls, E.T., Hornak, J., y Andrews, C., (2001). Abstract reward and punishment representations in the human orbitofrontal cortex. *Nat. Neurosci.* 4, 95–102.

O'Doherty, J., Winston, J., Critchley, H., Perrett, D., Burt, D.M., y Dolan, R.J., (2003). Beauty in a smile: the role of medial orbitofrontal cortex in facial attractiveness. *Neuropsychologia* 41: 147–155.

Odum, A.L., Lieving, L.M., y Schaal, D.W. (2002). Effects of D-amphetamine in a temporal discrimination procedure: selective changes in timing or rate dependency? *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*. 78(2): 195-214.

Ongür, D., y Price, J.L. (1998). Prefrontal cortical projections to the hypothalamus in macaque monkeys. *The Journal of Comparative Neurology*. 401(4): 480-505.

Ongür, D., y Price, J.L. (2000). The organization of networks within the orbital and medial prefrontal cortex of rats, monkeys and humans. *Cerebral Cortex*. 2(3): 206-19.

Paxinos, G., y Watson, C. (1998). The rat brain in stereotaxic coordinates. Academic Press. New York.

Petrides, M., y Pandya, D.N. (1994). Comparative cytoarchitectonic analysis of the human and the macaque frontal cortex. In: Boller, F., Grafman, J. (Eds.), *Handbook of Neuropsychology*, vol. 9. Elsevier, Amsterdam, pp. 17–58.

Petty, R.G. (1999). Prolactin and antipsychotic medications: mechanism of action. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 58: 323-327.

Price, J.L. (2006a). Architectonic structure of the orbital and medial prefrontal cortex. En: Zald, D.H., y Rauch, S.L. (Eds.). *The orbitofrontal cortex*. *Oxford University Press*. 1: 3-19.

Price, J.L. (2006b). Connections of the orbitofrontal cortex. En: Zald, D.H., y Rauch, S.L. (Eds.). *The orbitofrontal cortex*. *Oxford University Press*. 3: 39-57.

Rolls, E.T., Critchley, H.D., Browning, A.S., Hernadi, I., y Lenard, L. (1999). Responses to the sensory properties of fat of neurons in the primate orbitofrontal cortex. *Journal of Neuroscience*. 19(4): 1532-40.

Rolls, E.T., Hornak, J., Wade, D., y McGrath, J. (1994). Emotion-related learning in patients with social and emotional changes associated with frontal lobe damage. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*. 57: 1518–1524.

Santi, A., Coppa, R., y Ross, L. (2001). Effects of the dopamine D2 agonist, quinpirole, on time and number processing in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 68(1): 147-155.

Santi, A., Weise, L., y Kuiper, D. (1995). Amphetamine and Memory for Event Duration in Rats and Pigeons - Disruption of Attention to Temporal Samples Rather Than Changes in the Speed of the Internal Clock. *Psychobiology*, 23(3): 224-232.

Schmajuk, N.A., Buhusi, C.V., y Gray, J.A. (1999). Psychopharmacology of latent inhibition: a neural network approach. *Behavioral Pharmacology*. 9(8):711-30.

Schoenbaum, G., y Roesch, M.R. (2005). Orbitofrontal cortex, associative learning and expectancies. *Neuron*. 47: 633-636.

Schoenbaum, G., Roesch, M.R., y Stalnaker, T.A. (2006). Orbitofrontal cortex, decision-making and drug addiction. *Trends in Neuroscience*. 29(2): 116-124.

Schultz, W. (1997). Dopamine neurons and their role in reward mechanisms. *Current Opinions in Neurobiology*. 7(2): 191-7.

Selemon, L.D., Goldman-Rakic, P.S. (1985). Longitudinal topography and interdigitation of corticostriatal projections in the rhesus monkey. *Journal of Neuroscience*. 5(3): 776-94.

Small, D.M., Zatorre, R.J., Dagher, A., Evans, A.C., y Jones-Gotman, M. (2001). Changes in brain activity related to eating chocolate: from pleasure to aversion. *Brain*. 124: 1720–1733.

Smolensky MH, y Peppas NA. (2007). Chronobiology, drug delivery and chronotherapeutics. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 31;59(9-10): 828-51.

Staddon, J., y Higa, J.J. (1999). Time and memory: towards a pacemaker-free theory of interval timing. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*. 71:215-52.

Trujillo – Pisanty, I. (2007). Efecto de la estimulación de receptores D2 LIKE pre y postsinápticos sobre la estimación temporal retrospectiva. 1-100. Tesis de licenciatura. Facultad de Psicología. Universidad Nacional Autónoma de México.

Velázquez – Martínez DN, Sánchez H, Chávez A, García P, y Balboa – Verduzco AM. (2004). Mecanismos de estimación temporal: participación de mecanismos dopaminérgicos y serotoninérgicos. *Temas Selectos de Neurociencias III, UAM*. 1-10.

Wearden, J.H., Rogers, P., y Thomas, R. (1997). Temporal bisection in humans with longer stimulus durations. *The Quarterly journal of experimental psychology. B, Comparative and physiological psychology*, 50(1): 94.

Winstanley, C.A., Theobald, D.E., Cardinal, R.N., y Robbins, T.W. (2004). Contrasting roles of basolateral amygdale and orbitofrontal cortex in impulsive choice. *Journal of Neuroscience*. 24(20):4718-22.