



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

NEUROFISIOLOGÍA DE LA CATEGORIZACIÓN DE
INTERVALOS DE TIEMPO EN EL ÁREA MOTORA
PRESUPLEMENTARIA DEL PRIMATE

T E S I S

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA:

GERMÁN MENDOZA MARTÍNEZ

DIRECTOR DE TESIS

DR. HUGO MERCHANT NANCY
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

COMITÉ TUTOR

DR. PABLO RUDOMÍN ZEVNOVATY
CINVESTAV
DR. ALFREDO VARELA ECHAVARRÍA
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

CAMPUS JURIQUILLA, QUERÉTARO. OCTUBRE DE 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

“Para ser aceptadas, todas las ideas nuevas deben superar normas rigurosas de evidencia [...] La ciencia es una creación del libre examen [y del libre pensamiento] y a él está consagrada. Toda hipótesis, por extraña que sea, merece ser considerada en lo que tiene de meritorio. La eliminación de ideas incómodas [sin una evaluación seria] puede ser normal en religión y política, pero no es el camino al conocimiento; no tiene cabida en la empresa científica. No sabemos por adelantado quien dará con nuevos conceptos fundamentales.”

Carl Sagan, Cosmos, 1980

“La vida de una sola persona, aunque estuviera toda ella dedicada [...] sería insuficiente para investigar una materia tan vasta [...] este conocimiento sólo se podrá desarrollar a lo largo de sucesivas edades. Llegará una época en la que nuestros descendientes se asombrarán de que ignoráramos cosas que para ellos son tan claras [...] Muchos son los descubrimientos reservados para las épocas futuras, cuando se haya borrado el recuerdo de nosotros [...] La naturaleza no revela sus misterios de una vez para siempre.”

Séneca, Cuestiones Naturales, libro 7, siglo primero

“Los hombres deben saber que es del encéfalo, y sólo del encéfalo, de donde surgen nuestros placeres, alegrías, risas y bromas, así como nuestras penas, dolores, tristezas y lágrimas. Concretamente, a través de él pensamos, vemos, oímos y distinguimos lo feo de lo hermoso, lo malo de lo bueno, lo agradable de lo desagradable [...] nos produce insomnio, errores inoportunos, preocupaciones, falta de motivación y actos contrarios a nuestros hábitos. Estas cosas proceden todas del encéfalo, cuando no está sano [...] Sin embargo, cuando el encéfalo está tranquilo, un hombre puede pensar correctamente.”

Atribuido a Hipócrates, siglo V a.C.

Dedicatoria

A mis padres Carmen y Espiridión.

Las dos personas que admiro más: ustedes son fe, esperanza, inteligencia, trabajo duro y humildad. Gracias por su gran amor, esfuerzo y ejemplo.

A mis hermanos Celina, Mario, Silvia y Nancy.

Mi compañía en la niñez y mi ejemplo siempre.

A mis sobrinos Paola, Miriam, Emmanuel, Fernando, Saúl y Sofía.

Son todos mi alegría y orgullo; futuro de nuestra familia.

A Isela.

Por la amistad, compañía, apoyo, paciencia, amor y gran ejemplo que me diste desde que te conocí. Tú sabes lo que implica esta tesis.

Contenido	
Agradecimientos.....	1
Resumen	2
Abstract.....	2
Parte 1. Introducción.....	3
1.1. La categorización como proceso cognitivo: importancia, características y modelos conductuales de estudio	3
1.2. Teorías tempranas de categorización basadas en datos conductuales	4
1.3. Neurofisiología de la categorización	6
1.4. Un modelo neuronal de categorización.....	8
1.5. Bases neurobiológicas de la categorización flexible	9
1.6. Percepción categórica del paso del tiempo	10
1.7. El papel del área motora presuplementaria en el procesamiento de información temporal	12
Parte 2. Hipótesis y Objetivos.....	17
2.1. Planteamiento del problema.....	17
2.2. Hipótesis	17
2.3. Objetivo	17
Parte 3. Métodos	18
3.1. Animales	18
3.2. Sistema de entrenamiento y registro conductual	18
3.3. Tarea de categorización relativa de intervalos de tiempo	19
3.3.1. Control de los aspectos relacionados con el movimiento de respuesta.....	20
3.3.2. Fase de entrenamiento	20
3.3.3. Fase de prueba.....	20
3.3.4. Intervalos de tiempo empleados en la tarea de categorización	21
3.4. Registros de actividad neuronal extracelular	22
3.4.1. Ubicación del sitio de registro.....	22
3.4.2. Cirugía de implantación de la cámara de registro	22
3.4.3. Sistema de registro electrofisiológico	23
3.4.4. Señales colectadas	23
3.5. Análisis de datos conductuales	24

3.6. Análisis de las señales neurofisiológicas	24
3.6.1. Estabilidad de la actividad neuronal	24
3.6.2. Identificación de neuronas con actividad relacionada al límite entre categorías	24
3.6.3. Decodificación de la decisión perceptual empleando la actividad de las neuronas relacionadas con el límite entre categorías.....	26
3.6.4. Selectividad neuronal al intervalo, a la categoría y a las consecuencias de la decisión	26
3.6.4.1. Medición del grado de selectividad neuronal a la categoría seleccionada por los monos	27
3.6.4.2. Medición del grado de selectividad neuronal a las consecuencias de la decisión durante el inter-ensayo	28
3.6.5. Control del efecto de los movimientos oculares sobre la actividad de las neuronas asociadas al resultado de la decisión.....	29
Parte 4. Resultados	30
4.1. Conducta	30
4.2. Registros electrofisiológicos.....	32
4.2.1. Neuronas de pre-AMS representan el límite subjetivo entre categorías	32
4.2.1.1 La actividad de algunas neuronas de pre-AMS está asociada al límite entre categorías de cada bloque de ensayos	32
4.2.1.2. La actividad de las neuronas de límite predice la decisión perceptual de los monos en cada ensayo de la tarea de categorización	35
4.2.2. Representación neuronal de la categoría seleccionada por los monos.....	37
4.2.3. Representación neuronal de las consecuencias de la decisión	40
4.2.4. Organización secuencial de las respuestas neuronales.....	42
Parte 5. Discusión	44
5.1. Discusión general.....	44
5.2. Conclusión	48
Literatura citada	49
Apéndice A. Currículum Vitae	56
Apéndice B. Artículos publicados como primer autor en revistas internacionales indizadas durante el doctorado	60

Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México

Al Programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas

Al personal de la Coordinación del Programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas: Dra. Aurea Orozco Rivas (Coordinadora), Lic. Ivonne Torres Cortés (Secretaria Técnica), Angélica Téllez Garmendia (Responsable de Apoyos), Zenaida Martínez Estrella (Responsable de Servicios Escolares).

Al CONACYT, agradezco la beca para estudios de Doctorado (No. Becario: 164310).

Al Instituto de Neurobiología.

Al personal de la Unidad de Enseñanza del Instituto de Neurobiología: M. en C. Leonor Casanova Rico (jefa de la Unidad de Enseñanza y Auxiliar del PDCB en la Entidad Académica), Leticia Segovia (Secretaria).

Al personal de la Biblioteca del Campus Juriquilla: Dr. Francisco Javier Valles Valenzuela (Coordinador), Lic. Teresa Soledad Medina Malagón (Desarrollo de Colecciones).

A los miembros del Comité Tutor: Dr. Pablo Rudomín Zevnovaty (CINVESTAV, IPN) y Dr. Alfredo Varela Echavarría (INB, UNAM).

Al director de este proyecto de tesis, Dr. Hugo Merchant Nancy – Investigador Tit. C T.C a cargo del Laboratorio de Neurofisiología de Sistemas en Primates.

Al Ing. Luis Antonio Prado Loeza, Técnico Académico, por su apoyo técnico.

Al Sr. Raúl Paulín Pineda, Auxiliar de Laboratorio, por su apoyo técnico.

Al Ing. Juan José Ortiz, por su apoyo técnico en la adquisición de imágenes por Resonancia Magnética.

A todos los colegas del laboratorio de Neurofisiología de Sistemas en Primates —sin quienes esta tesis no habría sido posible— con quienes compartimos más que sólo tiempo y espacio: Abraham Betancourt, Cynthia De León, Dobromir G. Dotov, Itzamná C. Sánchez, Jorge A. Gámez, Juan C. Méndez, Karyna Yc, Luis A. Prado, Nissyen Y. Campuzano, Oswaldo Pérez, Pamela García, Ramón Bartolo, Raúl Paulín, Wilbert Zarco y Yaneri A. Ayala.

A los miembros del Jurado: Dr. Ranier Gutiérrez Mendoza (Presidente), Dr. Aurelio Campos Romo (Vocal), Dr. Pavel Rueda Orozco (Vocal), Dr. Víctor Hugo de Lafuente Flores (Vocal), Dr. Hugo Merchant Nancy (Secretario).

Resumen

La capacidad de categorizar de forma flexible los estímulos del ambiente es crucial para proporcionarles significado y responder rápidamente con la conducta adecuada. Un caso particular, el de la clasificación de intervalos de tiempo como cortos o largos, depende, en teoría, de la percepción del paso del tiempo y de la asignación de los intervalos a las correspondientes categorías con base en la noción teórica de prototipos o límites categóricos flexibles. Para determinar si pre-AMS codifica información crucial para la categorización de intervalos, registramos la actividad de las neuronas de monos que ejecutan una tarea de categorización de intervalos en la que el límite corto/largo cambiaba entre bloques de ensayos dentro de la misma sesión de registro. Encontramos que una población de células codificó el límite entre las categorías al alcanzar un pico de actividad constante cerca del límite de tiempo subjetivo entre los intervalos cortos y largos. Este pico de actividad cambió su posición en el tiempo dependiendo del límite entre categorías del bloque de intervalos que era categorizado. Notablemente, la representación neuronal del límite permitió decodificar la categoría seleccionada por los animales en cada ensayo de la tarea. Por otra parte, encontramos que las células de pre-AMS también representan la categoría seleccionada por los monos y las consecuencias de la decisión perceptual. Estos resultados sugieren que pre-AMS codifica de manera adaptativa el límite subjetivo entre duraciones cortas y largas y representa información crucial para categorizar intervalos y evaluar el resultado de la decisión.

Abstract

The ability to flexibly group stimuli into categories is crucial for providing meaning to events in the environment and selecting the proper behavioral responses towards them. For example, the classification of intervals as short or long depends not only on the perception of the passage of time, but also on the assignment of different durations to specific categories based, in theory, on flexible categorical prototypes or boundaries. To determine if prototypes or boundaries are neurally encoded, we recorded the activity of pre-SMA neurons of monkeys executing an interval categorization task in which the short/long limit changed between blocks of trials within a session. A large population of cells encoded the boundary between categories by reaching a constant peak of activity close to the subjective time limit between the short and long intervals. Notably, these cells moved their activity peak depending on the categorical boundary of the current block of trials. In addition, pre-SMA cells also represented the category selected by the monkeys and the outcome of the decision. These results suggest that the pre-SMA adaptively encodes the subjective boundary between short and long durations and contains crucial information to categorize intervals and evaluate the outcome of such perceptual decisions.

Parte 1. Introducción

1.1. La categorización como proceso cognitivo: importancia, características y modelos conductuales de estudio

Los animales están expuestos continuamente a una gran cantidad de estímulos de todas las modalidades sensoriales a los cuales deben responder adecuadamente para sobrevivir; por ejemplo, huir de los depredadores o ir tras las presas potenciales. ¿Cómo hacen para seleccionar la conducta correcta si existe un número prácticamente ilimitado de estímulos distintos? Una posible solución consiste en almacenar una representación de todos y cada uno de los estímulos, así como de la respuesta conductual más adecuada a cada uno de ellos. Este proceso se conoce como *identificación* y requiere, en teoría, un mapeo estímulo-respuesta de uno-a-uno (Kéri 2003). Una desventaja de esta estrategia es que implica almacenar una gran cantidad de información en cerebros cuya capacidad es limitada (Seger y Miller 2010). Otra desventaja es que para aprender la relación estímulo-respuesta adecuada se requiere experimentar previamente cada uno de los estímulos posibles. En el caso de estímulos peligrosos esta estrategia es claramente desventajosa. Por tanto, se ha propuesto que, para una buena parte de las actividades cotidianas, el cerebro resuelve el problema empleando una estrategia diferente llamada categorización.

La categorización es definida como el proceso de asignar diferentes elementos, que pueden ser estímulos o conceptos, a grupos bien delimitados (Ashby and Maddox 2005). Cada categoría de estímulos puede ser asociada con una respuesta conductual particular con lo cual se genera un mapeo estímulo-respuesta de varios-a-uno (Kéry 2003). Es un consenso que la principal característica y ventaja de la categorización es la llamada *transferencia a estímulos novedosos*. Esto es, los sujetos son capaces de usar respuestas conductuales específicas de categoría para estímulos a los que no han sido expuestos anteriormente (Kéri 2003). Una vez que un estímulo novedoso es asignado a una categoría ya aprendida, la experiencia previa con dicha categoría puede ser utilizada para determinar la mejor respuesta conductual ante el nuevo evento (Barsalou 2003). Así, los animales se benefician de la generalización y del conocimiento previo para actuar de manera rápida ante situaciones nuevas; aquí la importancia adaptativa de la categorización (Posner y Keele, 1968).

En teoría, la categorización puede llevarse a cabo con base en características compartidas por los estímulos (Ashby and Maddox 2005). Como ejemplo, para ser clasificado como mamífero, un animal debe poseer pelo y glándulas mamarias entre otros rasgos. Alternativamente, las categorías pueden no estar explícitamente representadas en los estímulos o entradas sensoriales y depender, en cambio, de un umbral arbitrario (Seger y Miller 2010). Por ejemplo, una especie de grillo tiene respuestas conductuales totalmente distintas a sonidos que pertenecen a dos grupos de frecuencia de tono. Estos animales son atraídos por los tonos con frecuencias menores a 16 kHz y repelidos por frecuencias mayores. No es una coincidencia que las llamadas de apareamiento para esta especie se encuentren en la banda de los 4-5 kHz mientras que las señales de ecolocación de los murciélagos que los depredan rondan entre los 25-80 kHz (Wytttenbach et al. 1996). En este

caso, la ejecución de una u otra respuesta categórica depende de un valor umbral que divide una dimensión sensorial continua¹.

De los ejemplos anteriores se desprende que la categorización perceptual requiere de atender a una o más dimensiones relevantes de los estímulos. Estas dimensiones pueden ser la forma, la intensidad, la duración, el patrón temporal o espacial, entre muchas otras. Prácticamente cualquier característica que el cerebro sea capaz de procesar es susceptible de ser categorizada. Además, un mismo estímulo puede ser incluido en categorías diferentes dependiendo de la o las dimensiones que sean consideradas relevantes al momento de categorizarlo o dependiendo de dónde se ubica la división o umbral entre una categoría y otra (Méndez et al., 2011). Esto implica que los sujetos pueden emplear distintas reglas o criterios de integración de información para categorizar dependiendo del contexto, del objetivo particular o del tipo de tarea de categorización (Ashby y Maddox 2005). Por tanto, otro rasgo fundamental de la categorización es su alta flexibilidad.

El fenómeno de la categorización ha sido un modelo útil para el estudio de las habilidades perceptuales y de toma de decisiones en distintas especies animales. Se han diseñado tareas psicofísicas en donde los parámetros importantes, como los estímulos utilizados o los límites entre las categorías, son modificados sistemáticamente. En una típica tarea de categorización a los sujetos no humanos o humanos se les presentan distintos estímulos que varían a lo largo de una o varias dimensiones sensoriales. La tarea requiere asignar cada estímulo a una de dos o más categorías contrastantes. Generalmente los sujetos responden realizando una acción condicional dependiente de una regla categórica. Se utilizan análisis de psicofísica para describir y cuantificar la capacidad de los sujetos para procesar la información sensorial relevante. Con estas técnicas es posible determinar, por ejemplo, la capacidad de los sujetos para detectar cambios en la dimensión sensorial de interés o el límite que cada sujeto asigna a las distintas categorías. Estos experimentos han arrojado una serie de resultados que son comunes a la categorización por sujetos humanos y no humanos, especialmente primates. Es bien sabido, por ejemplo, que los tiempos de reacción aumentan para los estímulos cercanos al límite entre categorías lo cual refleja una mayor dificultad para categorizar dichos estímulos (Ashby et al., 1994; Méndez et al., 2014). Esta y otras observaciones sugieren que los primates comparten, al menos hasta cierto grado, un sustrato biológico para la categorización (Zarco et al., 2009; Merrit et al., 2010; Smith et al., 2010; Méndez et al., 2011).

1.2. Teorías tempranas de categorización basadas en datos conductuales

Con base en estudios de psicofísica se han propuesto varias teorías para explicar el aprendizaje de categorías; tres de las más tempranas y discutidas son la teoría de los ejemplares, la teoría de los prototipos y la teoría del límite de decisión. Estas teorías implican distintos mecanismos o cómputos neuronales; en particular, las tres difieren en la información que es comparada para asignar los diferentes estímulos a sus correspondientes categorías.

¹ Aunque este es un buen ejemplo de una respuesta conductual categórica (Seger y Miller 2010), también es probablemente una conducta poco flexible. En cambio, la categorización en otros animales, especialmente primates, es notablemente más flexible, lo que podría deberse al mayor número de nodos y regiones corticales ubicadas entre la entrada sensorial y la salida motora y a la consecuente capacidad para integrar múltiple información sensorial, de memoria, de reglas, de recompensa y de la historia previa, entre otras.

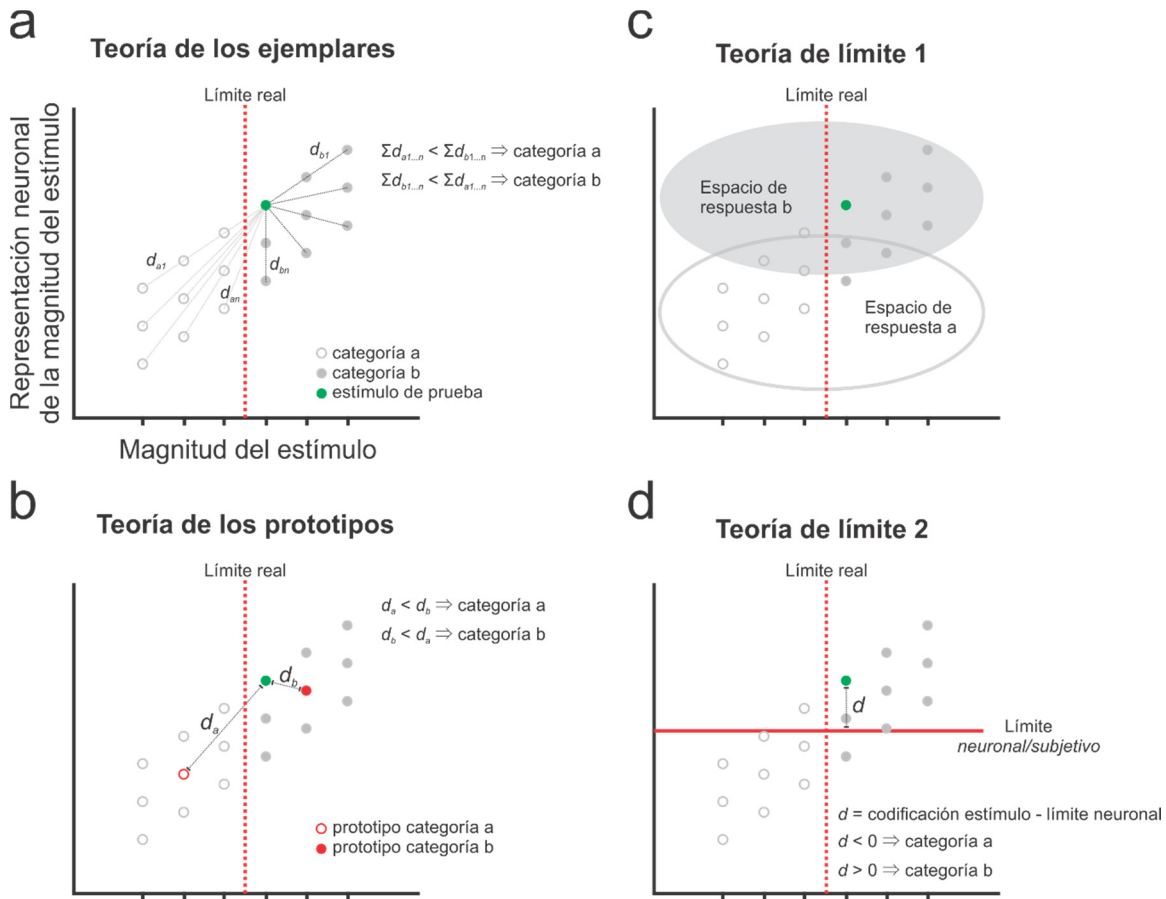


Figura 1. Representación gráfica simplificada de algunos de los mecanismos de categorización que se han teorizado con base en datos conductuales. Para ejemplificarlos se ha empleado una dimensión sensorial escalar (i.e. magnitud física; v.g. intensidad luminosa, temperatura, masa, duración, distancia, etc.) y se presupone correlación entre la magnitud de los estímulos y su codificación neuronal. Para dimensiones sensoriales codificadas de manera no escalar (v.g. forma física, dirección de movimiento, posición en el espacio) la *teoría de límite 1* es la más adecuada. Note que la representación neuronal de los estímulos es variable por naturaleza. **a)** Teoría de los ejemplares: para categorizar un estímulo novedoso se calcula su similitud/disimilitud con la representación neuronal de cada ejemplar previamente observado. El estímulo es asignado a la categoría para la cual la suma de las diferencias es menor. **b)** Teoría de los prototipos: el cerebro genera un prototipo o modelo abstracto que representa la tendencia central de la categoría. Los estímulos novedosos son comparados con los prototipos y asignados a la categoría cuyo prototipo sea el más similar. **c)** Teoría del límite de decisión 1: el espacio neuronal de estímulos es dividido en regiones asociadas a cada categoría. El cerebro determina en que región del espacio se encuentra el estímulo a categorizar y emite la respuesta asociada a dicho espacio (para más detalles de una posible implementación neuronal de este mecanismo ver la sección 1.4) **d)** Teoría del límite de decisión 2: el estímulo es comparado directamente con un límite de decisión neuronal/subjetivo que funciona como un valor umbral.

La *teoría de los ejemplares* asume que la categorización requiere almacenar en memoria la información de todos los ejemplares previamente experimentados que pertenecen a cada categoría. Para categorizar un estímulo novedoso se calcula su similitud (o diferencia) con la representación de cada uno de los ejemplares previamente observados pertenecientes a las categorías relevantes. El estímulo es entonces asignado a la categoría para la cual la suma de dichas similitudes es mayor (Figura 1a; Estes 1986; Hintzman 1986; Nosofsky 1986; Lamberts 2000).

La *teoría de los prototipos* propone que para cada categoría el cerebro genera la representación de un prototipo o modelo abstracto (Posner y Keele 1968; Homa et al. 1981; Smith y Minda 1998). Este prototipo representa la *tendencia central* de la categoría y es generado de manera empírica, durante la clasificación de estímulos pertenecientes a las distintas clases. En teoría, los prototipos se generarían extrayendo y almacenando la información que es común a los estímulos individuales. Para categorizar un estímulo novedoso, éste se compara con los prototipos previamente generados y es asignado a la categoría cuyo prototipo sea el más similar (Figura 1b; Posner y Keele 1968).

La *teoría del límite de decisión* asume que los sujetos dividen el espacio de estímulos en distintas regiones, cada una asociada a una categoría. La división entre distintos espacios es llamada límite de decisión. Este modelo tiene dos variantes. En la primera variante, el sujeto determina en que región del espacio de estímulos se encuentra el estímulo a categorizar y emite la respuesta asociada a la categoría en cuestión (Figura 1c). En la segunda variante, el estímulo es comparado directamente con el límite de decisión que funciona como un valor umbral (Figura 1d). Por tanto, en esta teoría, el aprendizaje de categorías es el proceso de aprender el límite de decisión o las regiones del espacio de estímulos asociadas con cada categoría (Ashby y Townsend 1986; Ashby y Gott 1988; Maddox y Ashby 1993).

Muchos estudios de psicofísica se han llevado a cabo para probar las predicciones conductuales de los tres modelos, lo que ha producido una cantidad de valiosa información conductual (Posner y Keele 1968; Estes 1986; Nosofsky 1986; Homa et al. 1981; Maddox y Ashby 1993; Smith y Minda 1998); sin embargo, la validez biológica de los modelos aún no ha sido determinada. En la siguiente sección se presenta una visión general actual de las bases neuronales de la categorización.

1.3. Neurofisiología de la categorización

El registro de la actividad neuronal extracelular en distintas regiones corticales y subcorticales combinado con técnicas de condicionamiento operante en primates ha aportado mucha información sobre el sustrato biológico de la categorización de estímulos sensoriales.

Uno de los primeros hallazgos de la neurofisiología de la categorización fue que las neuronas de ciertas regiones corticales representan la pertenencia subjetiva de los estímulos a determinada categoría. Por ejemplo, Romo y colaboradores entrenaron a monos Rhesus a categorizar la velocidad/duración de estímulos somatosensoriales que se desplazaban por la piel glabra de una mano (Romo et al., 1993; Romo et al., 1997). Los monos debían cerrar uno u otro interruptor si la velocidad del estímulo era considerada baja o alta. Los registros extracelulares de actividad mostraron que neuronas de la Corteza Premotora Medial —que incluye a las áreas motoras suplementaria (AMS) y presuplementaria (pre-AMS)— representan la categoría elegida por los monos (Figura 2). Este hallazgo implica que la decisión de los monos es codificada por neuronas con actividad selectiva a categoría, ello tanto a nivel individual como poblacional, se entiende.

A la fecha se han descrito neuronas selectivas a categoría en varias regiones corticales y subcorticales del cerebro de primates que categorizan estímulos somatosensoriales o visuales. Estas regiones incluyen a la corteza premotora medial, al neocórtex, al área

intraparietal lateral (LIP), al área 7a y a la corteza prefrontal entre otras (Romo et al., 1993; Romo et al., 1995; Merchant et al., 1997; Romo et al., 1997; Freedman et al., 2001; Freedman y Assad 2006; Cromer et al., 2010; Roy et al., 2010; Antzoulatos y Miller 2011; Merchant et al., 2011a; Goodwin et al., 2012; Rishel et al., 2013; Merchant et al., 2014).

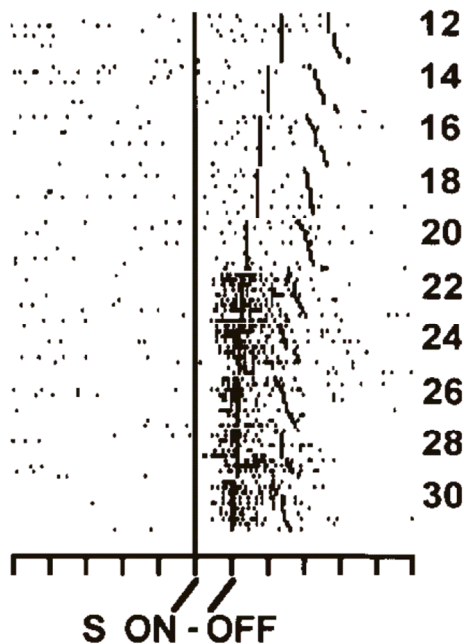


Figura 2. Gráfica de ráster de la actividad de una neurona de la Corteza Premotora Medial de un mono Rhesus trabajando en una tarea de categorización de la velocidad de estímulos táctiles. El momento de ocurrencia de los potenciales de acción está indicado como marcas pequeñas. Cada fila de marcas representa un ensayo de la tarea. S ON: inicio del estímulo, S OFF: fin del estímulo. La velocidad de desplazamiento de los estímulos está indicada a la derecha. La escala inferior indica 200 ms por división. Observe que la neurona tiene mayor actividad en respuesta a los estímulos de velocidad alta (22-30 mm/s). Notablemente, esta actividad neuronal puede ser utilizada para inferir con alta precisión la respuesta categórica del mono en cada ensayo de la tarea (tomado de Romo y cols. 1997).

Otra de las observaciones más robustas es que en el cerebro ocurre una transición de la representación de información sensorial a la representación de la información relacionada con la decisión categórica: así, las regiones corticales que se encuentran más cercanas a la entrada sensorial presentan más información relacionada a las características de los estímulos individuales, mientras que las regiones más relacionadas con la toma de decisiones y la salida motora representan más robustamente la decisión categórica de los animales. Por ejemplo, Miller y colaboradores (Freedman et al., 2003; Meyers et al., 2008; McKee et al., 2014) entrenaron monos Rhesus a categorizar la forma de estímulos visuales mientras registraban extracelularmente la actividad de neuronas en las cortezas temporal inferior y prefrontal. Encontraron mayor actividad selectiva a estímulo —sintonía— en la corteza temporal y mayor actividad selectiva a categoría, mayor efecto de memoria y codificación de la información en términos del significado conductual en la corteza prefrontal. Una tendencia similar se observó en las cortezas parietal posterior y prefrontal de monos categorizando estímulos visuales de acuerdo con su posición con respecto a una referencia espacial (arriba/abajo, izquierda/derecha; Goodwin et al., 2012). Ambas regiones presentaron actividad selectiva a la posición del estímulo, a la referencia espacial y a la categoría seleccionada por los monos; sin embargo, la representación de categorías fue más fuerte, mejor modulada por la regla y emergió antes en la corteza prefrontal (Goodwin et al., 2012).

En general, las observaciones sugieren que algunas de las regiones corticales reclutadas en tareas de categorización participan de forma contexto-dependiente mientras que otras

participan de forma más general (revisado en Seger y Miller 2010). Así, mientras que la categorización de la forma visual de los objetos recluta a la corteza temporal inferior (Freedman et al., 2003; Meyers et al., 2008; McKee et al., 2014), la categorización de estímulos visuales en movimiento evoca actividad en el lóbulo parietal inferior (Freedman y Assad 2006; Freedman y Assad 2009). En cambio, las regiones prefrontales y premotoras directamente relacionadas con la toma de decisiones —especialmente pre-AMS—, participan en las tareas de categorización independientemente de la dimensión sensorial relevante² (Romo et al., 1993; Romo et al., 1997; Freedman et al., 2002; Freedman et al., 2003; Meyers et al., 2008; Roy et al., 2010; Cromer et al., 2010; Cromer et al., 2011; Antzoulatos y Miller 2011; McKee et al., 2014). Esto último es cierto siempre y cuando la tarea requiera de la selección de una acción con base en una regla categórica (Minamimoto et al., 2010), lo cual ocurre en prácticamente todos los paradigmas de categorización que se han desarrollado hasta la fecha (pero ver Minamimoto et al., 2010 para una elegante excepción).

Hasta aquí resulta claro que para comprender la categorización, es crucial saber cómo ocurre en el cerebro la transición de la representación de la información sensorial a la representación de la elección categórica, es decir, cuál es el cómputo neural que permite la asignación de los estímulos a las diversas categorías. Como se mencionó previamente, los datos de psicofísica han llevado a la propuesta de que el cerebro podría comparar el estímulo a categorizar con los ejemplares de las categorías, con los prototipos o con el límite de decisión. Sin embargo, ninguno de los estudios neurofisiológicos de categorización ha demostrado, hasta la fecha, codificación alguna, a nivel de neurona única y/o poblacional, de los prototipos ni de los límites de categorías en los circuitos investigados.

1.4. Un modelo neuronal de categorización

Un modelo, reciente y relativamente bien fundamentado en datos neurofisiológicos, sugiere que la categorización de direcciones de movimiento depende de un re-mapeo funcional de la conectividad entre circuitos sensoriales, motores y de asociación tras el entrenamiento. Engel y colaboradores modelaron la actividad de neuronas de MT y LIP de monos Rhesus categorizando la dirección de estímulos visuales en movimiento (Figura 3a). En el modelo, que consta de una capa sensorial, una de asociación y otra de decisión, los estímulos son codificados mediante la actividad sintonizada de las *neuronas sensoriales* (Figura 3b). Tras el entrenamiento, actividad selectiva a categoría emergió en la capa de *neuronas de asociación* a través de plasticidad dependiente de recompensa y requirió de la presencia de fluctuaciones, ensayo por ensayo, de la tasa de disparo correlacionadas con las elecciones conductuales (Figura 3b; Engel et al., 2015). Este modelo implica que la experiencia categorizando distintos estímulos genera una modificación de la conectividad funcional del circuito (i.e. cambio de pesos sinápticos), originando un mapeo estímulo-respuesta de muchos-a-uno (Figura 3b). Así, este modelo concuerda más con la *teoría de límite de decisión* en su versión del espacio de estímulos la cual propone que los sujetos dividen el espacio de estímulos en distintas regiones de respuesta (ver figura 1c; Ashby y Gott 1988). Es importante notar que, aunque este modelo requiere de representaciones neuronales

² Si bien los estudios que sugieren un papel ubicuo de pre-AMS en la categorización son menos numerosos que aquellos para las cortezas prefrontales, la suposición es muy probable dada la afinidad funcional y de conectividad que existe entre ambas regiones. Los resultados de esta tesis también apoyan esta idea.

explícitas de los estímulos y de la decisión categórica —mediante sintonía y selectividad a estímulo y categoría, respectivamente— no requiere una codificación neuronal explícita de los prototipos ni del límite entre categorías (Figura 3b) y tampoco requiere de comparar la representación neuronal del estímulo a categorizar con una traza de memoria de los estímulos previos, como suponen las teorías de los ejemplares y de los prototipos (ver figura 1a,b) y como se ha observado en las cortezas premotoras en tareas de discriminación perceptual (Hernández et al., 2002).

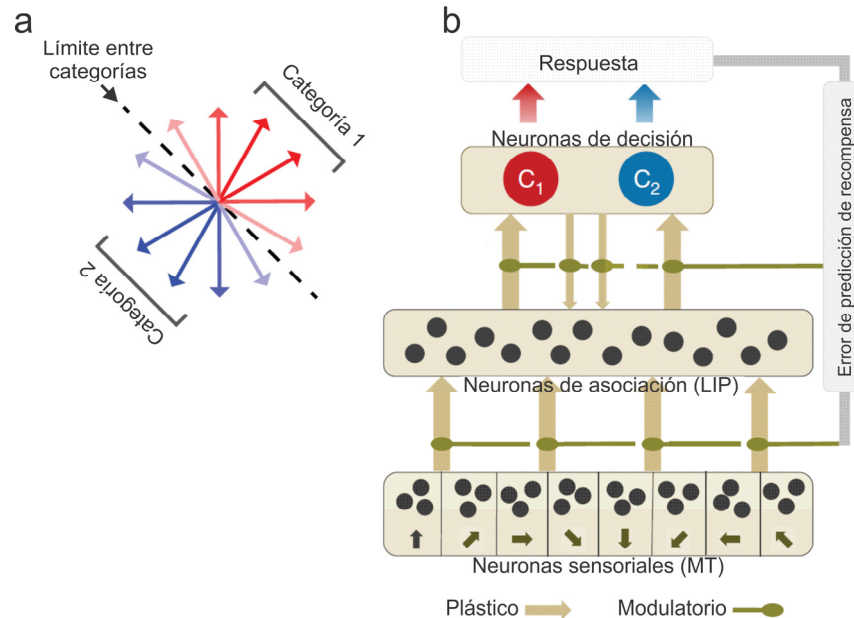


Figura 3. Modelo de red neuronal para la categorización de la dirección de estímulos visuales en movimiento. **a)** Representación simplificada de los estímulos utilizados y su asignación a las correspondientes categorías. **b)** Modelo de red neuronal. Observe que los estímulos individuales son codificados por neuronas con actividad sintonizada a la dirección del movimiento (neuronas *sensoriales*). Tras el entrenamiento, neuronas selectivas a la categoría emergen en la capa de neuronas de *asociación*. Por otro lado, las neuronas de *decisión* están asociadas de inicio a una u otra decisión categórica (C1, C2) y tras el entrenamiento tienen sus conexiones recíprocas más fuertes con las neuronas selectivas a la correspondiente categoría en la capa de asociación. El mapeo funcional entre los estímulos y la correspondiente respuesta categórica ocurre gracias a cambios sinápticos dependientes de recompensa en las conexiones entre las distintas capas. Note que este modelo no requiere una codificación neuronal explícita de los prototipos ni del límite entre categorías (Modificado de Engel et al., 2015).

1.5. Bases neurobiológicas de la categorización flexible

Hasta aquí se han discutido los hallazgos en tareas donde los grupos de estímulos a categorizar, y por tanto los límites entre categorías, son fijos y los sujetos de estudio han finalizado el aprendizaje. Sin embargo, como se mencionó previamente, la categorización es un proceso cognitivo flexible; un mismo estímulo puede ser incluido en categorías diferentes dependiendo de la o las dimensiones que sean consideradas relevantes al momento de categorizarlo o dependiendo de dónde es ubicado el límite entre una categoría y la otra (Ashby y Maddox 2005; Méndez et al., 2011). A la fecha, pocos estudios neurofisiológicos han abordado tal flexibilidad. En uno de esos trabajos, Roy y colaboradores registraron neuronas de la corteza prefrontal de monos Rhesus que categorizaron la forma visual de un grupo de estímulos usando primero un límite entre

categorías particular y pasando después al aprendizaje de un segundo límite, distinto (ortogonal) al primero. De manera importante, el grupo de estímulos categorizados con uno u otro límite fue el mismo. Se observó que cada esquema de categorización fue representado en su mayor parte por poblaciones neuronales diferentes —i.e., una neurona selectiva para una categoría en el primer caso tendía a no presentar selectividad a categoría en el segundo caso— por tanto, la actividad selectiva a las categorías del límite previo (ahora irrelevante) fue más débil al categorizar empleando el nuevo límite (Roy et al., 2010). En otro ejemplo, Cromer y colaboradores analizaron la actividad de neuronas de la corteza prefrontal en una tarea de categorización de la forma de estímulos visuales. En este caso, los monos categorizaron de manera alternada dos grupos de estímulos independientes y cada uno con su límite particular: *gato/perro*, y *auto_sedán/no_sedán*. Se observó que muchas neuronas representaron ambos esquemas categóricos —v.g., la misma neurona podía ser selectiva a las categorías *perro* y *sedán*—. De hecho, las neuronas *multi-categoría* tuvieron los efectos de categoría más fuertes (Cromer et al., 2010). Estos resultados indican que cuando el cerebro debe categorizar el mismo grupo de estímulos empleando límites distintos, se reclutan distintas poblaciones neuronales para evitar interferencia entre los distintos esquemas categóricos (Roy et al., 2010). En cambio, cuando el cerebro requiere categorizar dos o más grupos independientes de estímulos cada uno con su respectivo límite, los circuitos relacionados con cada esquema categórico no se interfieren y pueden traslaparse (Cromer et al., 2010). Esto al menos en lo que respecta a la codificación de la categoría elegida por los monos.³

Por lo tanto, tras 25 años de investigación neurofisiológica se sabe que el cerebro es capaz de generar decisiones categóricas binarias a partir de información sensorial que puede variar de forma continua; que la información sensorial y de la decisión categórica se codifican desde el nivel de neurona única —y por tanto también a nivel poblacional— en regiones corticales y subcorticales, algunas de las cuales son reclutadas de forma contexto dependiente y otras de las cuales participan de manera más general. Además, también se conocen algunos correlatos neurofisiológicos de la categorización flexible de estímulos sensoriales. Sin embargo, otras preguntas fundamentales siguen sin respuesta. Por ejemplo, ¿existe en el cerebro, como se ha especulado, una representación de los prototipos de las categorías o del límite subjetivo que serviría para asignar a los estímulos a sus correspondientes clases? Los modelos computacionales recientes sugieren que estos aspectos están implícitos en la conectividad funcional del circuito, pero ¿pueden estos modelos generalizarse a la categorización de cualquier dimensión sensorial? ¿Qué ocurre, por ejemplo, con una dimensión más abstracta, como lo es, el paso del tiempo?

1.6. Percepción categórica del paso del tiempo

La del paso del tiempo es un caso especial de percepción ya que su materia prima se origina, más que de la transducción de una energía por algún receptor sensorial, de un cálculo interno del cerebro. Los primates y otros animales tenemos la habilidad de calcular la duración de los eventos en el ambiente o, alternativamente, el intervalo de tiempo que ha

³ Estas observaciones permiten predecir que, en animales entrenados a categorizar grupos de estímulos independientes —como por ejemplo categorizar intervalos de tiempo o distancia como cortos o largos— con mucha probabilidad se observarán neuronas simultáneamente selectivas a las categorías de ambas dimensiones sensoriales (tiempo y distancia). La base de datos de esta tesis nos permitirá poner a prueba dicha hipótesis en el futuro.

transcurrido entre distintos eventos. Esta habilidad es crítica para muchas formas de conducta; por ejemplo, para algunos animales, los intervalos y la estructura temporal de las vocalizaciones son componentes importantes en la comunicación. De manera general puede decirse que el aprendizaje de intervalos y periodicidades, permite a los animales anticipar la ocurrencia de los eventos y ajustar su atención y/o conducta de manera apropiada (Coull 2004; Mendoza y Merchant 2014; Paton y Buonomano 2018).

Un caso particular de procesamiento temporal es la categorización de intervalos como cortos o largos. Tareas de este tipo, también conocidas como de bisección temporal, han sido ampliamente utilizadas desde finales de los años 70's para tratar de entender el mecanismo por el cual los animales perciben el paso del tiempo en la escala de los milisegundos a segundos (Church y Deluty, 1977; Allan y Gibbon 1991; Wearden 1991). En estos paradigmas los sujetos son entrenados para realizar una respuesta *R1* a un intervalo prototipo de duración corta *S* y emitir otra respuesta *R2* a un intervalo prototipo de duración larga *L*. Las duraciones pueden presentarse como *intervalos llenos* que son estímulos sensoriales de distintas duraciones o *intervalos vacíos* en los cuales los estímulos sensoriales sólo se presentan brevemente al inicio y al final del intervalo de tiempo a categorizar, delimitándolo. Las respuestas, por otra parte, son acciones condicionales, como presionar uno u otro botón si la duración fue juzgada como *corta* o *larga*. Cuando los sujetos son capaces de diferenciar *S* de *L* se presentan duraciones de prueba intermedias *t*, donde $S \leq t \leq L$. La tarea de los sujetos es categorizar cada duración intermedia *t* como *corta* o *larga* utilizando la respuesta conductual adecuada (Figura 4a; Trujano y Zamora 2013). Se construyen curvas psicométricas graficando la probabilidad del sujeto de responder *largo* para cada una de las duraciones de prueba (Figura 4b).

Se ha encontrado que humanos y monos tienen desempeños similares en tareas de bisección temporal. Por ejemplo, en ambas especies la función psicométrica tiene forma sigmoidea. Esto implica que hay más respuestas correctas para los intervalos más cortos y más largos de cada bloque y más errores de decisión para los intervalos intermedios (Figura 4c; Penny et al., 2008; Kopec y Brody 2010; Merrit et al., 2010; Méndez et al., 2011). Además, tanto en humanos como en monos, el *punto de bisección* o *punto de igualdad subjetiva* —el intervalo de tiempo al cual la probabilidad de respuesta ‘largo’ es de 0.5 y que representa el límite subjetivo entre la categoría *corto* y la categoría *largo* (Church y Deluty, 1977; Allan y Gibbon, 1991; Wearden, 1991; Gescheider 1997)— es cercano a la media de las duraciones de prueba (Penny et al., 2008; Kopec y Brody 2010; Merrit et al., 2010; Méndez et al., 2011). Interesantemente, en un estudio realizado en nuestro laboratorio se observó que humanos y monos Rhesus muestran umbrales relativos similares y un aumento en la variabilidad temporal en función del intervalo implícito, siguiendo la propiedad escalar en tareas de categorización de intervalos de tiempo (Figura 4c; Méndez et al., 2011). Por tanto, tanto humanos como monos tienen habilidades similares para la percepción categórica del paso del tiempo, al menos cuando se trata de intervalos únicos en el rango de cientos de milisegundos y cuando no se toma en cuenta el tiempo de entrenamiento requerido (Méndez et al., 2011).

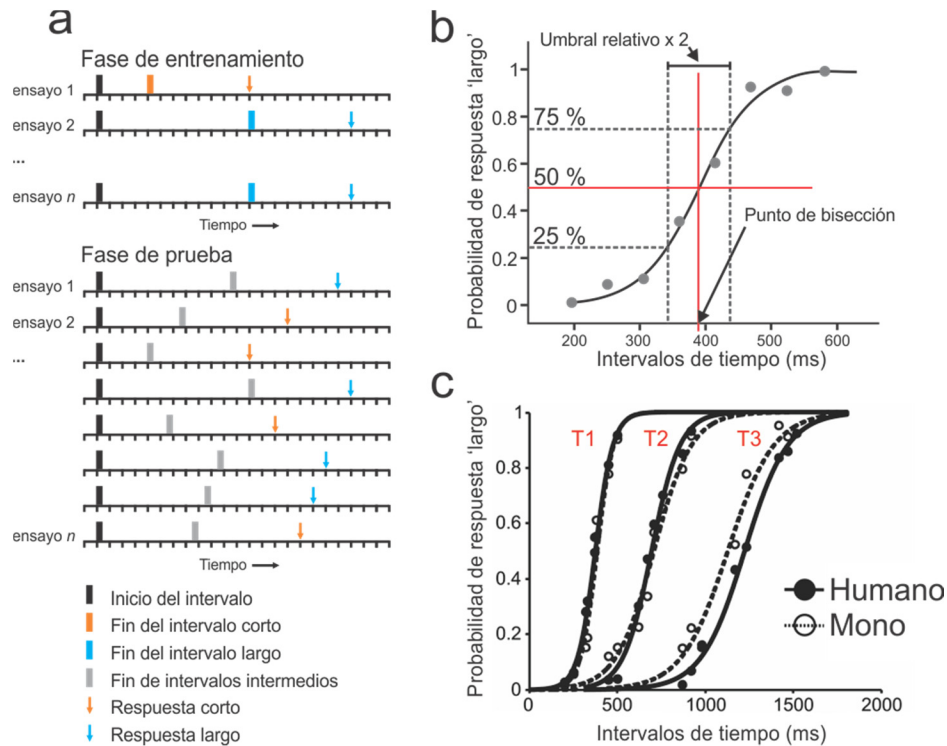


Figura 4. Tarea de bisección temporal y análisis psicométrico. **a)** Representación simplificada de la tarea. En la fase de entrenamiento se presenta en cada ensayo un intervalo que puede ser el prototipo corto o el prototipo largo. La tarea del sujeto es categorizar cada intervalo como *corto* o *largo* efectuando la correspondiente respuesta motora. En la fase de prueba los sujetos categorizan intervalos de duración intermedia. **b)** La curva psicométrica se construye graficando la probabilidad de respuesta largo para cada uno de los distintos intervalos y ajustando una sigmoidea a los puntos. Se indican el umbral relativo y el punto de bisección; este último corresponde al intervalo de tiempo que para el sujeto *representa* el límite entre las categorías *corto* y *largo* **c)** Curvas psicométricas de sujetos humanos y monos Rhesus que categorizaron tres grupos de intervalos de tiempo (T1, T2 y T3). Observe que, para cada grupo de intervalos, las curvas psicométricas son muy similares entre las dos especies (*a* y *b* adaptados de Kopec y Brody 2010, *c* Modificado de Méndez et al., 2011).

Como para la categorización en general, se ha propuesto que el proceso de decisión en tareas de bisección temporal dependería de representaciones neuronales de los prototipos *corto/largo*, de umbrales de respuesta obtenidos a partir de esas dos duraciones, de información obtenida de los intervalos ejemplo de cada categoría (ver por ejemplo Kopec y Brody 2010) o de mecanismos más complejos (Méndez et al., 2014). Sin embargo, a falta de datos neurofisiológicos directos, estos modelos siguen siendo de caja negra y las bases biológicas de la categorización de intervalos son aún desconocidas (pero ver Ng et al., 2011 para un atisbo). Si bien, existe evidencia neurofisiológica indirecta, pero sólida, de que las cortezas premotoras, pre-AMS en particular, pueden jugar un papel importante en la percepción del paso del tiempo y por tanto en la categorización de intervalos (Macar et al., 2002; Macar et al., 2006).

1.7. El papel del área motora presuplementaria en el procesamiento de información temporal

pre-AMS es una región premotora con una combinación particular de características microestructurales, histoquímicas, de conectividad y funcionales (Geyer et al., 1998;

Matsuzaka et al., 1992; Lupino et al., 1993). Se ubica en la parte medial del lóbulo frontal y está delimitada en su parte anterior por la corteza prefrontal; en su parte posterior por AMS; en la parte medial por la corteza motora del cíngulo y en la parte lateral por la porción rostral de la corteza premotora dorsal (Figura 5; Dum y Strick 1991; Luppino et al., 1993; Geyer et al., 2000). La microestructura de pre-AMS, como la de las otras regiones pre motoras, es agranular y como tal, carece de una capa IV diferenciada, lo que la distingue de las regiones prefrontales (Matelli et al. 1991). En cuanto a la histoquímica, pre-AMS posee un patrón de distribución laminar de sitios de unión glutamatérgicos y muscarínicos que le distingue de las regiones adyacentes (Zilles et al.1995; Geyer et al. 1998). En cuanto a conectividad, pre-AMS tiene nexos importantes con varias regiones pre-centrales incluyendo a las cortezas premotoras rostrales (Luppino et al., 1993; Takada et al., 2004), la corteza prefrontal (Luppino et al., 1993; Wang et al., 2005), AMS y la corteza del cíngulo anterior (Luppino et al., 1993). También recibe conexiones de regiones post-centrales como el surco temporal superior (Luppino et al., 1993; Luppino et al., 2001) y las áreas PG y PFG del lóbulo parietal posterior (Luppino et al., 1993). Es destacable la falta de conexiones directas con la corteza motora primaria y con la médula espinal (Luppino et al., 1993; Geyer et al., 2000; Figura 5). Este patrón de conectividad permite diferenciar a pre-AMS de otras regiones cercanas muy afines, como por ejemplo AMS, la cual, por ejemplo, si presenta conexiones directas con la corteza motora primaria y con la médula espinal. (ver Mendoza y Merchant 2014 en el apéndice B de esta tesis para una revisión extensa de la conectividad de pre-AMS).

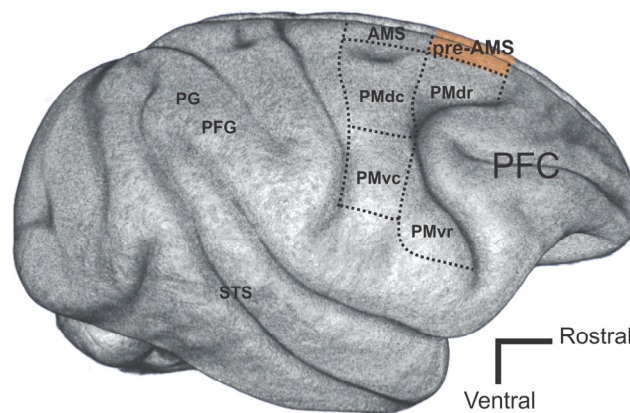


Figura 5. Reconstrucción por MRI del hemisferio cerebral de un mono Rhesus mostrando la ubicación de pre-AMS y de algunas las regiones corticales con las que tiene conexiones. AMS: área motora suplementaria; PFC: corteza prefrontal; PMdc: porción caudal de la corteza premotora dorsal; PMdr: porción rostral de la corteza premotora dorsal; PMvc: porción caudal de la corteza premotora ventral; PMvr: porción rostral de la corteza premotora ventral; STS: surco temporal superior; PG y PFG: áreas del lóbulo parietal posterior (la división anatómica se basa en Geyer et al., 2000; la reconstrucción tridimensional de cerebro de mono Rhesus es cortesía de Pamela García, laboratorio del Dr. Hugo Merchant).

En cuanto a las características funcionales, estudios electrofisiológicos y de resonancia magnética funcional han mostrado que pre-AMS contiene una representación somatotópica de los movimientos del brazo y se ha propuesto su participación preferencial en diversos aspectos motores como la selección, planificación, control y aprendizaje de movimientos únicos o de secuencias complejas de movimientos, la ejecución de movimientos desencadenados de forma interna –en contraposición a los movimientos en respuesta a

estímulos sensoriales– y la coordinación bimanual, entre otros (Tanji 1996; Geyer et al., 1998; Hikosaka et al., 1999; Geyer et al., 2000; Nachev et al., 2008). De manera interesante, neuronas de pre-AMS también presentan actividad en respuesta a estímulos sensoriales que son conductualmente relevantes (Matsuzaka et al., 1992; Hoshi y Tanji 2004). Asimismo, se ha descrito su papel en funciones más cognitivas como la toma de decisiones basada en información sensorial o la evaluación de las consecuencias de las acciones (ver figura 2; Romo et al., 1997; Hernández et al., 2002; Schall et al., 2002; Ito et al., 2003; Ridderinkhof et al 2004; de Lafuente y Romo 2006; Bonini et al., 2014; Phillips y Everling 2014; Zarr y Brown 2016). Por ejemplo, en tareas de discriminación somatosensorial se ha descrito que pre-AMS participa en la codificación de los estímulos sensoriales *on* y *offline* (traza de memoria), del proceso de comparación y de la decisión perceptual (Hernández et al., 2002). En humanos también se han descrito funciones de alto orden para pre-AMS, incluso en aspectos relacionados con el habla, como la selección y organización secuencial de fonemas y palabras (Alario et al., 2006).

En general, podemos decir que pre-AMS está involucrada en determinar qué acciones realizar y/o cuándo realizarlas. En algunos contextos dichas acciones y sus tiempos son seleccionados y ejecutados de una forma relativamente estereotipada, como en la realización repetitiva de secuencias aprendidas de movimientos; en otros contextos, las acciones deben elegirse con base en la integración de información sensorial, de memoria de trabajo, de reglas, de recompensas y bajo la influencia del historial previo, como ocurre en la toma de decisiones. La evidencia sugiere que pre-AMS tiene participación importante en el aprendizaje y ejecución en el primer contexto y en la codificación e integración de la información requerida en el segundo contexto (ver Mendoza y Merchant 2014 en el apéndice B de esta tesis para una revisión extensa de las funciones de alto orden asociadas a las cortezas premotoras, especialmente pre-AMS).

Con respecto al procesamiento explícito de información temporal, estudios neurofisiológicos recientes en monos han mostrado que neuronas de la Corteza Premotora Medial representan información necesaria para el control temporal voluntario de los movimientos (Mita et al., 2009; Merchant et al., 2011b; Merchant et al., 2013b). Por ejemplo, Tanji y colaboradores entrenaron macacos japoneses (*Macaca fuscata*) a generar distintos intervalos de tiempo en la escala de los segundos (Mita et al., 2009). En dicha tarea, los animales debían mantener presionado un botón durante un intervalo de tiempo mínimo para recibir una recompensa (2, 4 u 8 segundos; Mita et al., 2009). Tanto en AMS como en pre-AMS se observaron neuronas con actividad selectiva al intervalo de tiempo instruido y neuronas cuya tasa de disparo se incrementó en función del tiempo transcurrido (Figura 6a). En otro estudio, realizado en nuestro laboratorio, se registró la actividad de neuronas de AMS y pre-AMS en monos Rhesus realizando múltiples intervalos de tiempo. En dicha tarea los animales debían presionar un botón de manera sincronizada con un estímulo auditivo o visual rítmico. Después de varios movimientos, el estímulo dejaba de ser presentado y el mono debía continuar presionando el botón con el mismo ritmo sin la guía de la información sensorial. Se encontró que sub-poblaciones de neuronas codifican distintos aspectos temporales de la tarea como el tiempo transcurrido desde el último movimiento realizado y el tiempo que falta para la realización del siguiente movimiento así como la identidad del intervalo producido, codificada esta por medio de sintonía (Figura

6b, c; Merchant et al., 2011b; Merchant et al., 2013b). Estos hallazgos demuestran claramente que las neuronas de pre-AMS participan en el llamado *timing* motor.

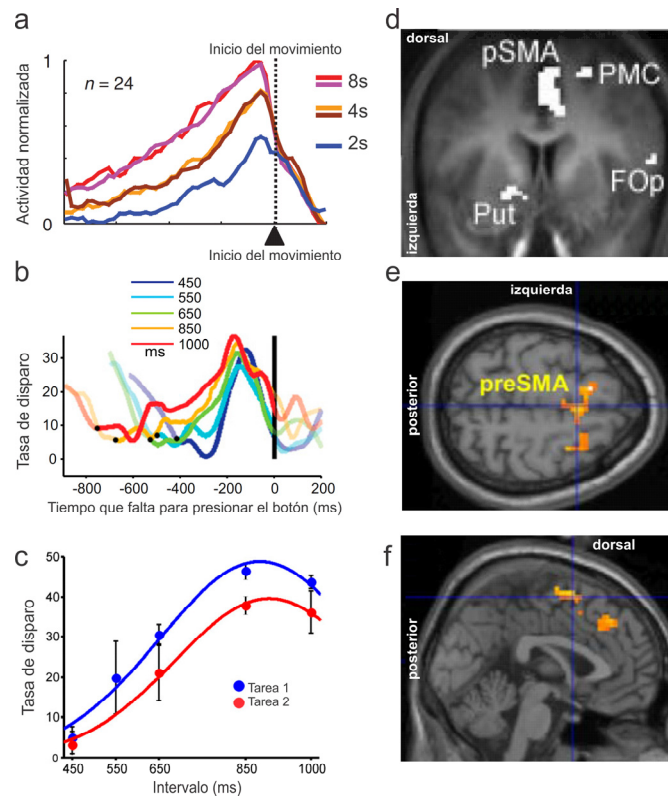


Figura 6. pre-AMS de primates participa en el procesamiento de información temporal. **a)** Función de densidad de espigas promedio de neuronas de pre-AMS de macaco japonés (*Macaca fuscata*) trabajando en una tarea de producción de intervalos en el rango de los segundos. El animal fue entrenado para liberar un botón después de un intervalo de tiempo mínimo particular. Observe que la tasa de disparo se incrementa en función del tiempo transcurrido y que la tasa de incremento de actividad (pendiente) es similar entre las tres duraciones (2, 4 y 8 segundos). La actividad está alineada a la liberación del botón. **b)** Actividad de una neurona de pre-AMS de un mono Rhesus (*Macaca mulatta*) trabajando en una tarea de producción de múltiples intervalos de tiempo en el rango de los milisegundos. Observe que la tasa de incremento de actividad disminuye a medida que la duración del intervalo producido aumenta (400 – 1000 milisegundos) y que la actividad alcanza un máximo relativamente constante para los distintos intervalos antes de la ejecución del movimiento. Este patrón de actividad codifica el tiempo que falta para la ejecución del siguiente movimiento. **c)** Actividad promedio y función de sintonización de una neurona de pre-AMS de un mono Rhesus trabajando en dos tareas de producción de intervalos en el rango de milisegundos. **d)** Plano coronal, **e)** transversal y **f)** sagital de imágenes de resonancia magnética funcional de humanos (*Homo sapiens*) que muestran un incremento de actividad BOLD en pre-AMS asociado a la realización de una tarea perceptual de discriminación de duraciones. SMA, preSMA: área motora suplementaria y presuplementaria, Put: putamen, FOp: opérculo frontal, PMC: corteza premotora dorsal. (a modificado de Mita et al., 2009; b modificado de Merchant et al., 2011b; c modificado de Merchant et al., 2013b; d modificado de Coull et al., 2004; e y f modificados de Macar et al., 2006).

Aquí es importante resaltar la distinción entre el *timing* motor y el *timing* sensorial (Merchant y de Lafuente 2017). El primero se refiere a la imposición de una estructura temporal en el mundo externo a través de la acción (Paton y Buonomano 2018); por tanto, en este caso la cuantificación del paso del tiempo se realiza con la finalidad de temporalizar los movimientos. De hecho, las observaciones sugieren que, en el *timing* motor, la

cuantificación del tiempo y la preparación motora ocurren de manera simultánea e incluso llegan a estar acopladas o ser una misma (Mita et al., 2009; Merchant et al., 2011b). Observe, por ejemplo, que la actividad de la neurona mostrada en la Figura 6b se correlaciona con el tiempo que falta para la realización del siguiente movimiento en la tarea de producción de intervalos. Se ha postulado que, alcanzado un umbral de disparo, este tipo de neuronas podría desencadenar el comando motor correspondiente (Merchant et al., 2011b). El *timing* sensorial, en cambio, implica el análisis de las relaciones temporales presentes en el mundo externo; si bien las tareas de *timing* sensorial requieren de una respuesta motora, la decisión se basa en las propiedades temporales de un evento sensorial y el momento de la respuesta motora —y por lo tanto su control— es, en teoría, irrelevante (Paton y Buonomano 2018). En este caso, la planeación/ejecución motora y la cuantificación del paso del tiempo están totalmente desacopladas.⁴

Por tanto, una pregunta relevante es si pre-AMS —considerada históricamente como una área premotora— también procesa información temporal en tareas puramente perceptuales. Algunos estudios de resonancia magnética funcional (fMRI) con sujetos humanos apoyan esta hipótesis. Por ejemplo, Macar y colaboradores entrenaron a sujetos humanos en una tarea perceptual de discriminación de duraciones. En la tarea, se presentaban a los sujetos dos estímulos visuales consecutivos que podían diferir en su duración o en su color. Los sujetos debían comparar la duración o el color de ambos estímulos. Antes de cada ensayo se les indicaba a los participantes a cuál de las dos características debían atender más. Se encontró que cuando los participantes atienden más a la duración, pre-AMS presenta mayor actividad. De manera importante, tal aumento de actividad se correlacionó con una disminución del número de errores en la comparación de la duración que realizaban los sujetos (Figura 6d; Coull et al., 2004; Macar et al., 2006). Estas observaciones sugieren que pre-AMS participa en el procesamiento de información temporal en tareas de *timing* puramente perceptual. Sin embargo, aunque la técnica de fMRI es útil para saber si una región cerebral está relacionada con algún proceso cognitivo, su relativamente baja resolución temporal y espacial no aporta muchos detalles sobre el mecanismo neuronal subyacente. En cambio, el registro extracelular de la actividad de neuronas en animales en libre movimiento puede proveer de información más detallada. Desafortunadamente, no existían estudios electrofisiológicos que abordaran de manera directa la posible participación de pre-AMS en la *percepción* del paso del tiempo. Aportar este tipo de información fue una de las metas de nuestro estudio.

⁴ La distinción entre *timing* motor y no motor (sensorial) es intuitiva y generalmente aceptada (Coull et al., 2004; Ivry y Spencer 2004; Mauk y Buonomano 2004; Lewis y Miall 2006; Macar et al., 2006; Merchant et al., 2008a y b; Merchant y de Lafuente 2017). Sin embargo, existen detalles en los que conviene ahondar. Si bien en las tareas de *timing* motor la cuantificación del tiempo se realiza con la finalidad principal de temporalizar los movimientos, no está del todo ausente un componente de *timing* sensorial. Por ejemplo, en las tareas de *reproducción* de intervalos, los sujetos *reproducen* un intervalo de tiempo que previamente se les presentó por medio de estímulos en alguna modalidad sensorial. Por tanto, los sujetos deben primero percibir la duración del estímulo en el mundo externo y después trasladar este patrón temporal a sus acciones. Incluso tareas más puramente motoras como la de *producción* de intervalos, en donde a los sujetos no se les muestra previamente un estímulo de determinada duración, sino que se les instruye a producir intervalos de duración específica (v.g. “produzca un intervalo de 2 segundos de duración”), tienen probablemente un componente de *timing* sensorial asociado al resultado de las propias acciones: propiocepción, somatosensación, visión, audición, etc. Para una clasificación más completa del procesamiento neuronal de información temporal ver Merchant y de Lafuente 2017.

Parte 2. Hipótesis y Objetivos

2.1. Planteamiento del problema

La categorización de intervalos de tiempo es un proceso perceptual complejo que requiere, en teoría, de la cuantificación del tiempo transcurrido entre distintos eventos sensoriales y de la asignación de tales intervalos a clases bien delimitadas, ambas funciones cognitivas de gran importancia adaptativa. A pesar de haber sido el objeto de una larga historia de estudios de psicofísica, sus bases neurobiológicas son prácticamente desconocidas. Se desconoce, por ejemplo, si el cerebro codifica los prototipos o los límites entre categorías que —se ha teorizado— servirían para asignar los distintos intervalos a las correspondientes categorías. Por otro lado, aunque se sabe bastante sobre las bases neuronales de la ejecución de movimientos temporalizados —el llamado *timing* motor— los detalles del mecanismo neuronal de la cuantificación del paso del tiempo en tareas puramente perceptuales —*timing* sensorial— aún son desconocidos. ¿Dependen ambos del mismo mecanismo o de mecanismos diferentes? No está de más remarcar que la falta de información se debe, en parte, a la inexistencia de estudios funcionales con alta resolución espacial y temporal en animales despiertos que realizan tareas cognitivas.

Por sus características funcionales y de conectividad, pre-AMS es un buen candidato para la búsqueda de tal sustrato neuronal. Estudios de actividad neuronal unitaria muestran que pre-AMS participa en la toma de decisiones basada en información sensorial, en la categorización de estímulos y en el control secuencial y temporal de los movimientos voluntarios. Aún más, evidencia de fMRI apunta a que también participa en la cuantificación del paso del tiempo en tareas puramente perceptuales. Desafortunadamente, la baja resolución espacial y temporal de la fMRI impide conocer más detalles sobre el mecanismo neuronal subyacente. Nosotros pretendimos aportar esta información registrando extracelularmente la actividad de neuronas de pre-AMS de monos realizando una tarea perceptual de categorización relativa de intervalos de tiempo.

2.2. Hipótesis

Si pre-AMS participa en la categorización de intervalos de tiempo, entonces neuronas de esta región codificarán con su actividad, alguno de los parámetros clave de la tarea:

1. La duración de los intervalos a categorizar
2. Los prototipos *corto/largo* de las categorías
3. El límite entre categorías
4. La comparación de los estímulos con los prototipos o los límites de las categorías
5. La elección categórica de los animales
6. Las consecuencias de la decisión perceptual

2.3. Objetivo

Determinar si la actividad de neuronas de pre-AMS de monos Rhesus codifica los parámetros clave de una tarea de categorización relativa de intervalos: la duración de los intervalos, los prototipos de las categorías, el límite entre categorías, el proceso de comparación, la elección categórica o las consecuencias de la decisión perceptual.

Parte 3. Métodos

La parte experimental de este trabajo incluyó dos etapas principales. La primera consistió en el entrenamiento de dos monos Rhesus en tres tareas de categorización de intervalos de tiempo, tres tareas de categorización de distancias y una tarea de discriminación de color. La segunda etapa comprendió el registro de la actividad de neuronas en pre-AMS de los animales durante la ejecución de las tareas. Es importante mencionar que, aunque también registramos la actividad neuronal en la corteza parietal y prefrontal (datos no analizados/publicados), en esta tesis sólo se reportan los resultados de la tarea de categorización de intervalos de tiempo y de la correspondiente actividad neuronal en pre-AMS.

3.1. Animales

Se utilizaron dos machos de mono Rhesus (*Macaca mulatta*, Aji e Yko, 5.5 y 7.0 kilogramos de peso, respectivamente) alojados en condiciones de bioterio, con suministro de alimento *ad libitum* y acceso limitado al agua de bebida.

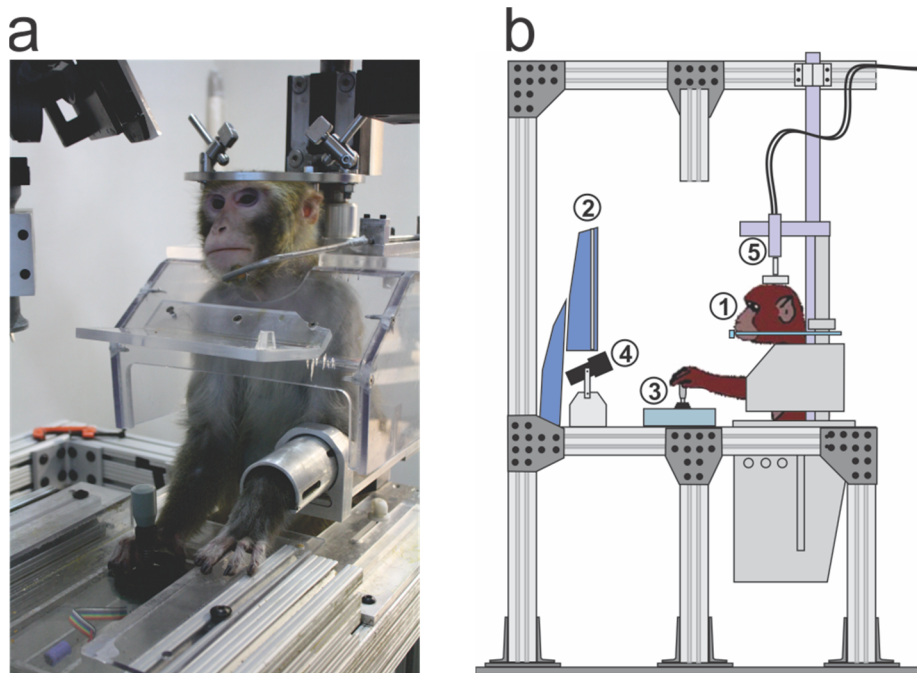


Figura 7. a) Se muestra al mono 2 en las instalaciones de entrenamiento y registro. **b)** Esquema del sistema de entrenamiento y registro conductual y neurofisiológico. Se observa el mono en la silla para primates (1), el monitor en el cual se presentaron los estímulos visuales (2), la palanca que el mono manipulaba para controlar el cursor (3), la cámara para el monitoreo de los movimientos oculares (4) y la matriz de electrodos de registro de actividad neuronal extracelular (5) (la figura b es cortesía de Wilbert Zarco).

3.2. Sistema de entrenamiento y registro conductual

Durante la ejecución de la tarea, cada animal fue colocado en una silla especial para primates y su cabeza se inmovilizó mediante un implante para la fijación del cráneo. A una distancia de 56 cm de la cara, se ubicó un monitor de computadora de 15 pulgadas. En una posición accesible se colocó una palanca que los monos manipulaban con la mano dominante (Figura 7a). Mediante dicha palanca, los monos controlaban la posición de un

cursor circular rojo presentado en el monitor. Los movimientos oculares de los animales se registraron continuamente mediante un sistema infrarrojo de seguimiento ocular (Iscan, Inc. Figura 7b). Durante el entrenamiento, un mecanismo automatizado de recompensa suministraba gotas de jugo cada vez que los animales realizaban un ensayo correcto de la tarea. La presentación de los estímulos visuales en el monitor, el registro del movimiento de la palanca y de los movimientos oculares, así como la administración de recompensa fue controlada por un programa diseñado en el lenguaje de programación Visual Basic.

3.3. Tarea de categorización relativa de intervalos de tiempo

Los animales fueron entrenados, mediante condicionamiento operante y aproximaciones sucesivas, en tres tareas de categorización relativa de intervalos de tiempo, tres tareas de categorización relativa de distancias y una tarea de discriminación de color. En la tarea de categorización de intervalos, los monos debían clasificar como corta o larga la duración de distintos intervalos de tiempo. Los intervalos fueron presentados mediante estímulos visuales. Cada tarea constó de 120 ensayos y cada ensayo consistió en lo siguiente:

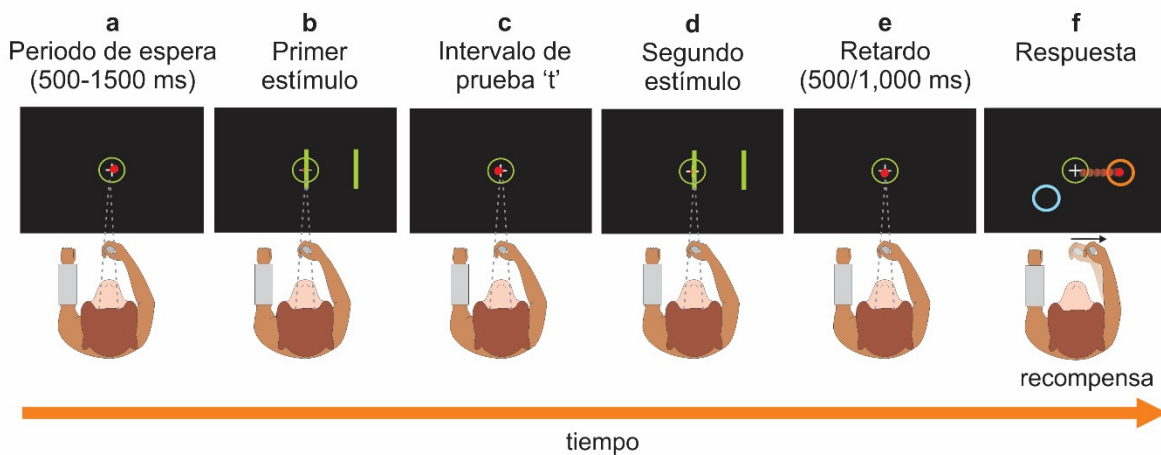


Figura 8. Secuencia de un ensayo de la tarea de categorización de intervalos de tiempo. **a)** Periodo de espera (500-1500 ms), **b)** Presentación del primer estímulo, **c)** Intervalo de prueba ‘t’, **d)** Presentación del segundo estímulo, **e)** Retardo fijo (500 para el mono 2 y 1000 ms para el mono 1), **f)** Respuesta. Los animales debían indicar si el intervalo de tiempo ‘t’ entre la primera (b) y segunda (d) presentación del estímulo era *corto* o *largo*. Para ello, debían introducir el cursor rojo en el círculo anaranjado si el intervalo fue corto, o en el círculo azul si fue largo (f). Los monos mantenían fija la vista en el centro de la pantalla durante todo el ensayo excepto después de la presentación de los círculos de respuesta.

Para iniciar un ensayo de la tarea de categorización de intervalos, el mono debía mantener la vista fija en un área de 4 grados de ángulo visual en el centro del monitor además de manipular la palanca para colocar y mantener el cursor rojo dentro de un círculo verde (Figura 8a). Después de un periodo de espera variable (500-1500 ms) se presentaban durante 50 ms dos líneas verticales separadas por una distancia fija (Figura 8b). Estas líneas desaparecían durante un intervalo de prueba ‘t’ (Figura 8c) y volvían a presentarse por 50 ms más en la misma posición (Figura 8d). La primera y segunda presentación de dichas líneas indicaba el inicio y el fin, respectivamente, del intervalo de tiempo a categorizar. Es importante mencionar que el intervalo de prueba ‘t’ cambiaba entre ensayos de la tarea. Tras la desaparición de las líneas y después de un retardo fijo (1000 ms para el mono 1 y 500 ms para el mono 2, Figura 8e) se mostraban dos círculos en alguno de 8 puntos en la

periferia al círculo central, uno de ellos de color anaranjado y el otro de color azul. El animal debía entonces introducir el cursor en el círculo anaranjado si el intervalo de prueba ‘t’ presentado fue *corto* o en el círculo azul si fue *largo* (Figura 8f). Si la respuesta era correcta el mono recibía recompensa finalizando así el ensayo. El tiempo entre ensayos fue de 1500 ms.

3.3.1. Control de los aspectos relacionados con el movimiento de respuesta

Para evitar confundir la actividad neuronal relacionada con la respuesta categórica de los monos con aquella relacionada con la dirección del movimiento del brazo (por ejemplo: respuesta *corto* = movimiento hacia la izquierda, respuesta *largo* = movimiento hacia la derecha), en cada ensayo de la tarea los círculos de respuesta podían ser mostrados en una de varias posiciones distintas alrededor del círculo central (Figura 9). Entre ensayos, dichas posiciones fueron asignadas de manera aleatoria.

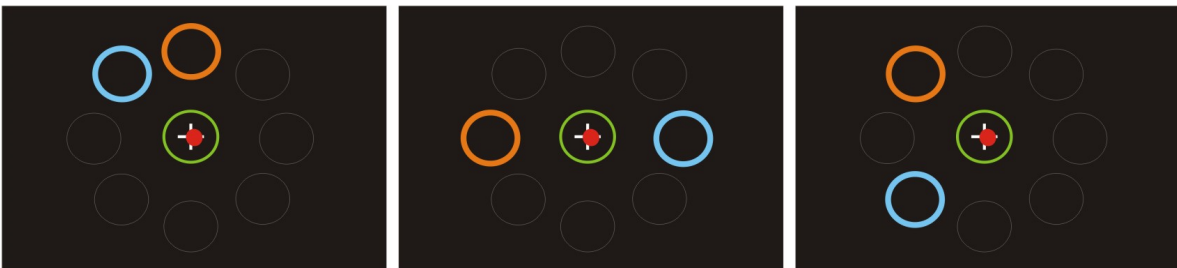


Figura 9. Ejemplos de la disposición de los círculos de respuesta. En cada ensayo, los círculos podían ocupar una de varias posibles posiciones alrededor del círculo central. Los círculos grises marcan tales posiciones y no fueron visibles para los monos durante la tarea.

3.3.2. Fase de entrenamiento

Para ‘indicar’ a los monos qué intervalos debían ser considerados *cortos* y cuáles *largos*, los primeros 24 ensayos de la tarea constituían la *fase de entrenamiento*. En cada ensayo de esta fase, ‘t’ podía tomar uno de dos valores claramente diferenciables entre sí: un prototipo *corto* y un prototipo *largo* (por ejemplo 200 y 500 ms). En esta fase, el color de las líneas verticales correspondía al color del círculo que representaba la respuesta correcta. Es decir, el intervalo corto era presentado con líneas anaranjadas y el largo con líneas azules (Figura 10, izquierda). El objetivo de la fase de entrenamiento era mostrar a los animales los prototipos *corto* y *largo* del correspondiente bloque y lograr que asociaran cada categoría de duración con el color del círculo de respuesta correcto.

3.3.3. Fase de prueba

Inmediatamente después de la fase de entrenamiento los monos realizaban una fase de prueba que constaba de 96 ensayos. En este caso, además de los prototipos corto y largo utilizados durante la fase de entrenamiento, también se presentaban seis intervalos intermedios. De estos ocho valores, los cuatro menores debían ser considerados como *cortos* y los siguientes cuatro como *largos*. En esta fase no se ‘indicaba’ a los animales cuál era la respuesta correcta ya que las líneas verticales eran siempre de color verde independientemente de la categoría a la que pertenecían los intervalos (Figura 10, derecha). Cada intervalo era presentado 12 veces de manera pseudo-aleatoria. Al conjunto de dos intervalos extremos (prototipos *corto-largo* de entrenamiento) y los correspondientes seis intervalos intermedios (intervalos de prueba) le denominamos bloque (Figura 11).

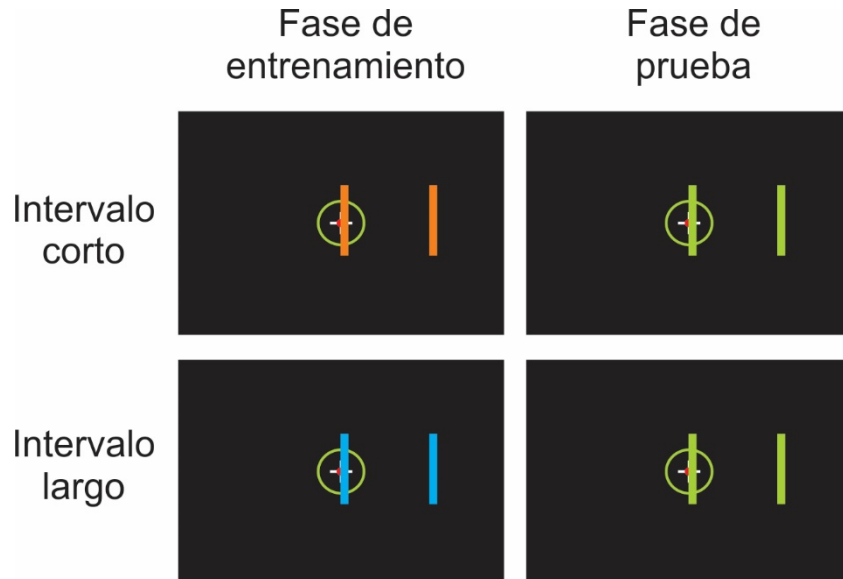


Figura 10. Diferencia en la presentación de los estímulos en la fase de entrenamiento y la fase de prueba. En la fase de entrenamiento el intervalo corto era presentado con líneas anaranjadas y el largo con líneas azules. En la fase de prueba tanto los intervalos cortos como los largos eran presentados con líneas de color verde.

3.3.4. Intervalos de tiempo empleados en la tarea de categorización

En nuestro diseño experimental, los animales realizaron las tareas de categorización de tiempo empleando tres bloques distintos de valores ‘t’. Cada bloque constaba de ocho intervalos: un mínimo, un máximo y seis intermedios (Figura 11a-c). Es importante notar que algunos de los intervalos asignados a un bloque también formaban parte de otro bloque. Tal arreglo de estímulos hace de la tarea una de categorización relativa, ya que un intervalo que es considerado como largo dentro de un bloque (por ejemplo 500 ms en el bloque 1, Figura 11a), debe ser considerado como corto en otro bloque (500 ms en el bloque 2, Figura 11b). Este arreglo de estímulos fue pensado para diferenciar la actividad neuronal asociada a la representación del valor relativo del intervalo (*corto*, *largo*) de aquella actividad relacionada con la representación de su valor absoluto (duración total del intervalo).

Por tanto, en una sesión de registro los animales debían realizar de 5 a 7 tareas: tres tareas de categorización de intervalos de tiempo (una para cada uno de los bloques de ‘t’), tres (mono 1) o una (mono 2) tarea de categorización de distancias y una tarea de discriminación de color (48 ensayos). Es importante recordar que para esta tesis sólo se reportan los resultados de la tarea de categorización de intervalos de tiempo. Cada una de las tareas de categorización constaba de 120 ensayos. De estos 120 ensayos, 24 eran ensayos de entrenamiento (12 repeticiones x 2 intervalos ‘prototipo’) y 96 eran ensayos de prueba (12 repeticiones x 8 intervalos de prueba). Durante la ejecución de las tareas un programa especial diseñado en el lenguaje de programación Visual Basic colectaba la información relevante como el orden e identidad de los estímulos presentados, la ocurrencia y duración de cada uno de los eventos del ensayo, la respuesta motora y oculo-motora de los animales, así como el número de errores y aciertos.

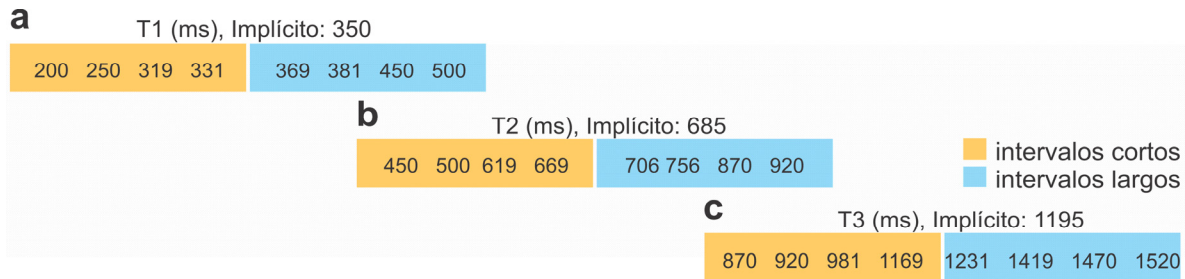


Figura 11. Valores de ‘t’ para los tres bloques de categorización relativa de tiempo, **a)** T1, **b)** T2 y **c)** T3. Dentro de cada bloque los cuatro valores menores son considerados como *cortos* y los siguientes cuatro como *largos*. El límite implícito indica el límite teórico entre las categorías *corto* y *largo* de cada bloque. Note que el límite nunca fue presentado como intervalo de prueba a los monos, de allí su carácter implícito.

3.4. Registros de actividad neuronal extracelular

Una vez que los monos lograron un desempeño constante mínimo de 75 % de aciertos en las tareas de categorización se realizan registros extracelulares de la actividad neuronal en pre-AMS durante la ejecución de éstas. Para ello implantamos una cámara de registro en la región frontal del cráneo sobre el área que corresponde a pre-AMS.

3.4.1. Ubicación del sitio de registro

Para determinar el sitio de implantación de la cámara de registro obtuvimos imágenes de resonancia magnética estructural. Para ello los monos fueron anestesiados con ketamina (7 mg/kg)-xylazina (0.6 mg/kg), montados en un aparato estereotáxico compatible con MRI y sometidos a un protocolo de escaneo desarrollado en la Unidad de Resonancia Magnética del Instituto de Neurobiología. Utilizamos un resonador de 1.0 Tesla (Phillips Intera MRI Scanner) para adquirir secuencias de alta resolución (64 cortes coronales, resolución = 1.0 x 1.0 x 1.0 mm). Una vez obtenidos los volúmenes de imágenes, los archivos digitales fueron analizados mediante el programa MRICro (Chris Rorden, 199-2005, versión 1.4.) con la finalidad de determinar las coordenadas estereotáxicas de la ubicación de pre-AMS (Figura 12a,b).

3.4.2. Cirugía de implantación de la cámara de registro

Después de obtener las coordenadas de la ubicación de pre-AMS se realizó una cirugía para implantar las cámaras de registro que nos permitieron tener acceso al cerebro de los monos. Es importante señalar que, de acuerdo con las normas de uso ético de animales de laboratorio, nuestro protocolo es similar al que se utiliza en cirugías de humanos. Previo al procedimiento quirúrgico, los monos fueron anestesiados con una dosis intramuscular de ketamina-xilazina (7 mg/kg-0.6 mg/kg), intubados endotraquealmente y posteriormente mantenidos bajo anestesia con sevoflurano (0.8-1.5 %). Durante la cirugía, la frecuencia respiratoria, la frecuencia cardíaca y el porcentaje de saturación de oxígeno de la hemoglobina en sangre fueron monitoreados constantemente. Los monos fueron montados en un aparato estereotáxico y posteriormente se localizaron las coordenadas de la ubicación de pre-AMS sobre el eje anteroposterior y tomando como referencia la línea inter-aural. Se realizó un trépano en el cráneo en el cual se fijó la cámara de registro con cemento para hueso y tornillos de titanio (Oliveira and Dimitrov 2008). Al final de la cirugía y durante los días subsiguientes, a los animales se les administró analgésico (Tramadol, 50-100 mg/4-6 h) y antibiótico de amplio espectro (Enrofloxacin, 5 mg/kg/día) por vía intramuscular.

3.4.3. Sistema de registro electrofisiológico

Después del periodo postoperatorio, se registró extracelularmente la actividad de neuronas en pre-AMS durante la ejecución de las tareas de categorización. Para ello utilizamos arreglos de 7 o 16 microelectrodos de platino-tungsteno (impedancia: 0.5-2.5 M Ω). En cada sesión de registro los electrodos fueron insertados a través de la dura en la corteza cerebral empleando un micromotor (Eckhorn systems, Uwe Thomas Recording). El sistema permitía cambiar la posición y profundidad de registro de una sesión a otra (Figura 12c).

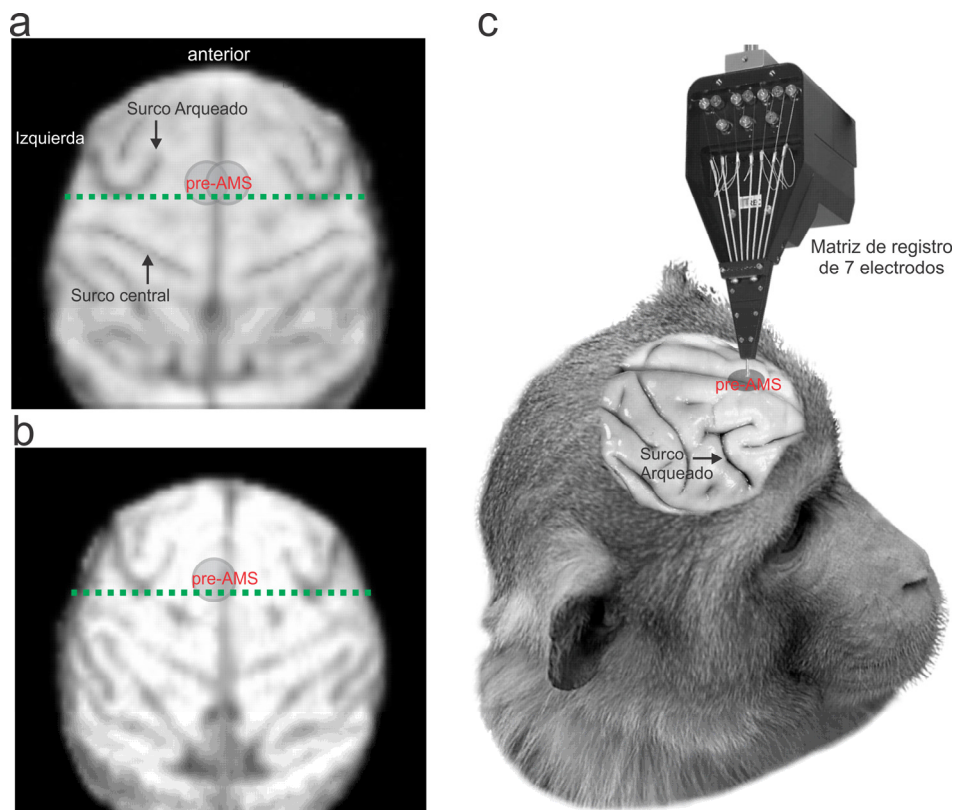


Figura 12. Sitios de registro. Reconstrucciones por Resonancia Magnética Estructural del cerebro del mono 1 **a)** y del mono 2 **b)** que muestran la localización de pre-AMS así como la ubicación de las cámaras de registro (círculos grises). La línea punteada indica el nivel de la rodilla del surco arqueado que coincide con el límite entre AMS y pre-AMS. **c)** Fotomontaje que muestra el sistema utilizado para registrar la actividad extracelular en pre-AMS. Se utilizaron matrices de registro de 7 o 16 electrodos de platino-tungsteno. La profundidad de cada electrodo podía controlarse de forma independiente.

3.4.4. Señales colectadas

Para el mono 1, la actividad neuronal registrada en cada sitio fue amplificada (100 000x), digitalizada (40 kHz, 12 bits), filtrada (pasabanda: 0.4-6 kHz) y almacenada como registros de actividad celular multiunitaria. Este tipo de registros contiene los potenciales de acción de varias neuronas detectados en un electrodo a lo largo de la sesión de registro. Posteriormente se utilizó el programa Offline Sorter v2.8.6 (Plexon Inc. Dallas, TX) para separar, mediante análisis de componentes principales, los potenciales de acción de cada una de las distintas neuronas registradas con base en su forma. Este proceso se conoce como discriminación fuera de línea de los potenciales de acción. En el caso del mono 2, la discriminación se realizó en línea, es decir, durante los registros electrofisiológicos y

empleando discriminadores de ventana (Blackrock Microsystems LLC, Salt Lake City, UT, USA).

3.5. Análisis de datos conductuales

A partir de los datos del desempeño de los monos se construyeron curvas psicométricas para cada bloque de la tarea de categorización de intervalos. Este análisis nos permitió describir y cuantificar la capacidad de los monos para procesar la información temporal en la tarea de categorización. Para construir las curvas psicométricas, se calculó la probabilidad (p) de que los animales respondieran *largo* para cada uno de los intervalos presentados. Posteriormente, se graficó p en función de la magnitud del estímulo (Figura 4b). A los datos de probabilidad se les ajustó una función logística que permitió calcular varios parámetros: el *punto de igualdad subjetiva* (*punto de bisección*) o intervalo al cual la probabilidad de reportar *largo* es de 0.5 (Figura 4b). Este parámetro representa el límite subjetivo entre la categoría *corto* y la categoría *largo*. El *error constante* que calculamos como la diferencia entre el *punto de igualdad subjetiva* y el límite teórico entre categorías. Este parámetro indica la diferencia entre el límite entre categorías real y el límite subjetivo de cada mono. El *umbral relativo* calculado como la mitad de la diferencia entre los valores de los estímulos a los cuales p es de 0.75 y 0.25 (Figura 4b). El *umbral relativo* es una medida de la capacidad de los monos para detectar cambios en la duración de los distintos intervalos presentados. Adicionalmente calculamos el *tiempo de reacción* como el tiempo transcurrido entre la presentación de los círculos de respuesta y el inicio del movimiento de respuesta del mono.

3.6. Análisis de las señales neurofisiológicas

Para los análisis estadísticos se utilizaron subrutinas escritas en Matlab (Matworks v. 7.6.0.324) y el paquete estadístico SPSS (versión 20, SPSS Inc., Chicago, IL, 2011). El nivel de significación estadística para rechazar la hipótesis nula fue $\alpha = 0,05$.

3.6.1. Estabilidad de la actividad neuronal

Utilizamos criterios previamente validados para evaluar la estabilidad de la actividad neuronal durante las sesiones de registro. Para cada neurona se calcularon los histogramas de intervalo inter-espiga para cada bloque de la tarea (Dickey et al. 2009). Posteriormente, calculamos la similitud de los histogramas entre bloques contiguos de la tarea para generar un índice de estabilidad. Utilizamos un índice de estabilidad de 10.5 que previamente fue reportado como un valor aceptable en registros de corteza promotora (Dickey et al. 2009). Del total de neuronas registradas (259 del mono 1 y 620 del mono 2), 816 neuronas mostraron una puntuación de similitud por debajo del umbral de 10,5 en al menos dos bloques consecutivos y fueron considerados estables para tales bloques (196 de Mono 1 y 620 Mono 2).

3.6.2. Identificación de neuronas con actividad relacionada al límite entre categorías

Algunas neuronas presentaron un aumento y disminución de actividad cuyo pico máximo parecía indicar el límite entre las categorías *corto* y *largo* de cada bloque de estímulos. Este pico de actividad ocurría siempre al mismo tiempo con respecto al inicio del intervalo de prueba. Debido a esto, el final del intervalo de prueba tendía a ocurrir antes del pico de actividad en los intervalos cortos y después del pico en los intervalos largos (Figura 18a-b). Para identificar estas neuronas de forma sistemática se utilizó un algoritmo iterativo que

empleó regresiones lineales para identificar el incremento y la disminución de actividad. El algoritmo realizó los siguientes pasos:

1. Para cada ensayo, se calculó la función de densidad de espigas (SDF) mediante una convolución entre los tiempos de ocurrencia de las espigas y un kernel gaussiano ($\sigma = 30$ ms). La SDF se calculó con la actividad neuronal, alineada al primer estímulo, desde 500 ms antes hasta 500 ms después del intervalo de prueba (Figura 13a).
2. Se identificaron los tiempos a los cuales ocurrieron el mínimo y el máximo de actividad durante la presentación del intervalo y el período de retardo (Figura 13b).

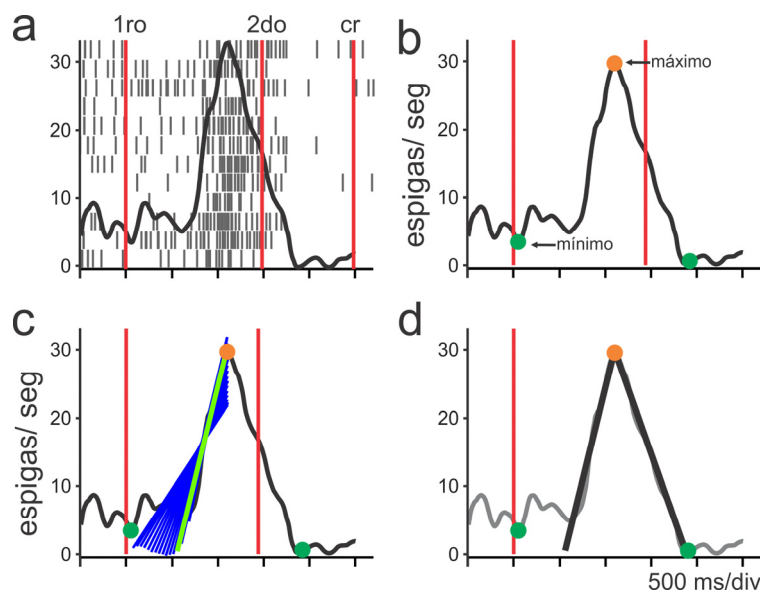


Figura 13. Método para la identificación de neuronas con actividad relacionada al límite entre categorías. **a)** Cálculo de la SDF (línea negra) **b)** Identificación del máximo y mínimos de actividad. **c)** Búsqueda iterativa del mejor ajuste lineal. **d)** Rampas positiva y negativa definidas con el mejor ajuste lineal.

3. Se identificaron los incrementos y decrementos (rampas) de actividad. Para ello, primero se realizaron varias regresiones de la tasa de disparo instantánea a lo largo del tiempo, disminuyendo, en pasos de 20 ms, el intervalo desde la actividad mínima hasta la máxima (Figura 13c, líneas azules). Consideramos que el algoritmo alcanzó la convergencia cuando la regresión R^2 disminuyó en menos del 5% en las iteraciones posteriores. Posteriormente, se encontró el mejor modelo de regresión en términos de R^2 ajustado (Figura 13d, líneas negras). Finalmente se catalogaron como rampas aquellas regresiones cuyo máximo estaba por encima de 8 Hz, tenían una duración mayor de 100 ms y la p de la regresión fue $p < 0,01$.

4. Clasificamos una neurona como relacionada al límite entre categorías si cumplía tres requisitos: 1) se detectó una rampa ascendente en al menos 5 de los 8 intervalos de prueba de un bloque; 2) la tasa de disparo instantánea máxima, considerando todos los ensayos, fue superior a 8 Hz; y 3) no hubo diferencias significativas en el momento de ocurrencia de la actividad máxima con respecto a la presentación del primer estímulo para los distintos intervalos de prueba (ANOVA, $p > 0,05$).

3.6.3. Decodificación de la decisión perceptual empleando la actividad de las neuronas relacionadas con el límite entre categorías

Para determinar si las neuronas de límite codifican el límite subjetivo entre categorías realizamos un análisis derivado de la teoría de detección de señales. Para ello construimos curvas neurométricas empleando la actividad de las neuronas límite para clasificar los intervalos, ensayo por ensayo, como *corto* o *largo*. Primero cuantificamos el tiempo transcurrido (τ) entre el pico de actividad y la ocurrencia del segundo estímulo (Figura 21a-b). A continuación, encontramos el valor de τ (criterio de decodificación) que minimizó el error para clasificar los estímulos como *corto* o *largo* (Figura 21c). Finalmente, se construyó una curva neurométrica con la probabilidad de asignar un intervalo de prueba como *corto* o *largo* basado en el criterio de decodificación (Figura 21d-e). Además, para medir el grado de relación entre las respuestas decodificadas y las observadas calculamos una tabla de contingencia y un análisis de X^2 . El nivel de significancia para rechazar la hipótesis nula fue $\alpha = 0,05$.

3.6.4. Selectividad neuronal al intervalo, a la categoría y a las consecuencias de la decisión

Primero realizamos un ANCOVA utilizando la tasa de disparo durante el retardo, el tiempo de reacción/movimiento o el inter-ensayo como variable dependiente, la tasa de disparo durante la época control como covariable y el intervalo de prueba, la elección categórica del mono (*corto/largo*), y el resultado de la elección (*correcto/incorrecto*) como variables independientes. 685 células (164 Mono 1 y 521 Mono 2) mostraron efectos significativos en al menos un factor y por lo menos una época de la tarea. Para determinar si la actividad de estas neuronas estaba asociada al intervalo de prueba (duración en ms), a la categoría seleccionada por los monos (*corto/largo*) o a las consecuencias de la decisión (*error/acierto*) realizamos una regresión lineal múltiple y una prueba de permutación en ventanas deslizantes de 250 ms con pasos de 25 ms. El modelo de regresión lineal es el siguiente:

$$r = \beta_0 + \beta_1 M + \beta_2 C + \beta_3 O \text{ (Ecuación 1)}$$

Donde r es la tasa de disparo de la célula, M es la duración del intervalo de prueba, C es la elección categórica (*corto/largo*) y O es el resultado de la elección (*correcto/incorrecto*).

Para determinar si los coeficientes del modelo eran significativos se utilizó una prueba de permutación: para cada neurona las respuestas neuronales de los 96 ensayos (12 repeticiones x 8 intervalos de prueba) se permutaron 100 veces. La regresión múltiple se calculó para cada permutación y se obtuvo una distribución "nula" de valores de p . La regresión múltiple se consideró significativa si el valor de p no permutado era menor que el valor p de la distribución "nula" al 95% de confianza. El análisis de ventanas deslizantes se realizó para la época del retardo alineando la actividad neuronal al momento de presentación del segundo estímulo y para el período inter-ensayo alineando la actividad al momento de recompensa. Se consideró que una neurona tenía actividad asociada a uno de los parámetros de la tarea si la prueba de permutación de dos ventanas consecutivas era $p < 0,05$. Es importante mencionar que no se encontró colinealidad entre M , C y O . Esto indica que entre los regresores no hubo relaciones lineales que impidieran cuantificar con precisión el efecto de cada regresor sobre la variable independiente (pruebas de colinealidad, SPSS).

3.6.4.1. Medición del grado de selectividad neuronal a la categoría seleccionada por los monos

El grado de selectividad de la actividad neuronal a la respuesta categórica (Figura 14a) de los monos se cuantificó con dos métodos:

1. *Choice Probability Index*: este índice cuantifica el grado de asociación entre la actividad de una neurona y la respuesta conductual de los sujetos en tareas de elección forzada de doble alternativa; para ello, se vale de los ensayos correctos e incorrectos para descartar representaciones neuronales asociadas a los estímulos sensoriales (Britten et al., 1996; Romo et al., 2002). Para cada neurona, construimos dos distribuciones de tasa de disparo, una asociada a las respuestas *corto* y otra asociada a las respuestas *largo* (Figura 14a-b). Se restringió el análisis a los intervalos en los cuales había un número equilibrado de ensayos correctos e incorrectos, es decir, del tercero al octavo intervalo de cada bloque (Figura 11). Empleamos estas distribuciones para calcular una curva ROC (Figura 14b-c). El área bajo la curva ROC indica la superposición entre ambas distribuciones. Un valor de 0.5 indica superposición total, mientras que un valor de 1 indica una separación completa entre ambas distribuciones (Figura 14b-c). Por lo tanto, el *Choice Probability Index* mide el grado de selectividad de una neurona a las decisiones categóricas *cortas* o *largas*. Todas las neuronas con un *Choice probability index* mayor a 0.6 fueron consideradas selectivas a la decisión categórica de los monos.

2. Curvas neurométricas y prueba de X^2 : para cada neurona y bloque de ensayos encontramos el valor tasa de disparo (criterio) que mejor delimitaba las distribuciones de tasa de disparo asociadas a elecciones *corto* y *largo*. Posteriormente se construyó una curva neurométrica calculando la probabilidad de asignar un intervalo de prueba como *corto* o *largo* con base en el criterio de decodificación de la neurona. Finalmente, se realizó una prueba de X^2 sobre la tabla de contingencia calculada con los datos de la respuesta de los monos y la respuesta decodificada en cada uno de los 96 ensayos de cada bloque. El nivel de significancia para rechazar la hipótesis nula fue $\alpha = 0.05$.

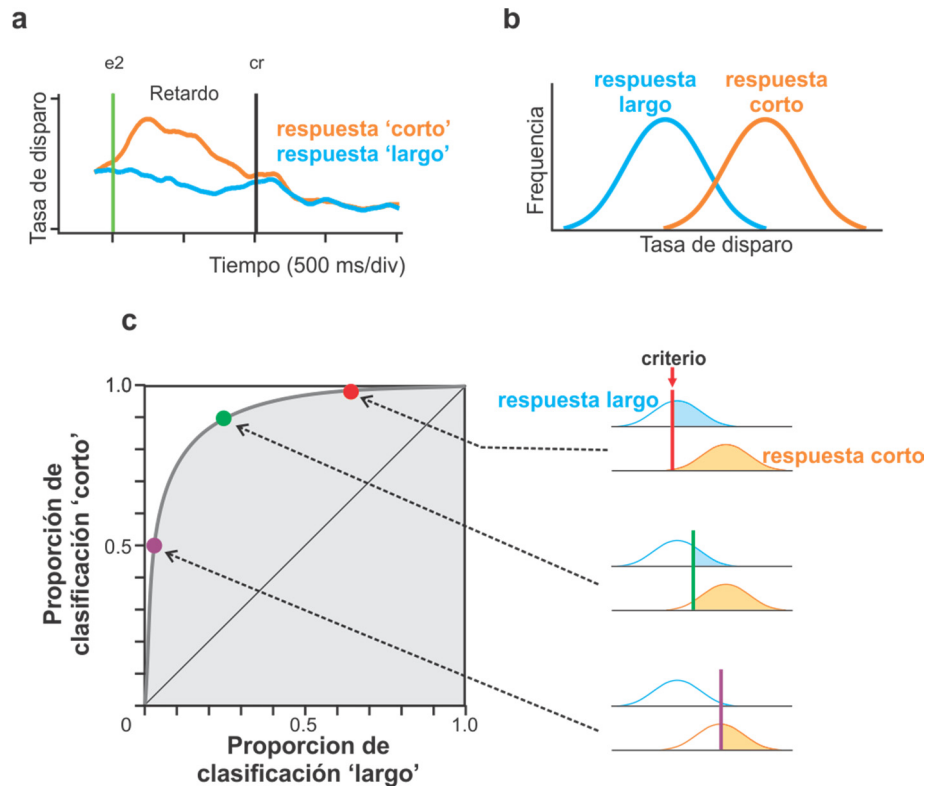


Figura 14. Cálculo del *choice probability index*. **a)** Tasa de disparo normalizada promedio de una neurona que tiene mayor actividad en el retardo para ensayos en los que el mono respondió *corto*. La línea verde vertical indica el momento de presentación del segundo estímulo (e2) al cual está alineada la actividad neuronal. **b)** Para cada neurona, construimos dos distribuciones de tasa de disparo, una asociada a las respuestas *corto* y otra asociada a las respuestas *largo*. **c)** Las distribuciones se emplearon para calcular una curva ROC. Para ello, se utilizaron criterios de 0 a 100 Hz en pasos de 1 y se calculó la proporción de respuestas *corto* y *largo* con base en los elementos de cada distribución que superaban el valor criterio. El área bajo la curva ROC (sombreado gris) refleja el grado de superposición entre ambas distribuciones. Un valor de 0.5 indica superposición total, mientras que un valor de 1 indica una separación completa.

3.6.4.2. Medición del grado de selectividad neuronal a las consecuencias de la decisión durante el inter-ensayo

El grado de asociación entre la actividad neuronal y el resultado de la decisión (ensayo correcto/incorrecto) se evaluó con dos métodos:

1. *Error Probability Index*: calculamos este índice como un análogo del *Choice Probability Index*. Representa una medida de la distancia entre las distribuciones de tasa de disparo asociadas a los ensayos correctos e incorrectos (Figura 15a). Para el cálculo de éste índice sólo se utilizaron los ensayos correspondientes a los intervalos intermedios de cada bloque (intervalos 3 al 6, Figura 11).

2. Prueba de X^2 : se aplicó una prueba de X^2 a la tabla de contingencia calculada con los datos conductuales y los decodificados para los 96 ensayos de cada bloque (Figura 15c-d).

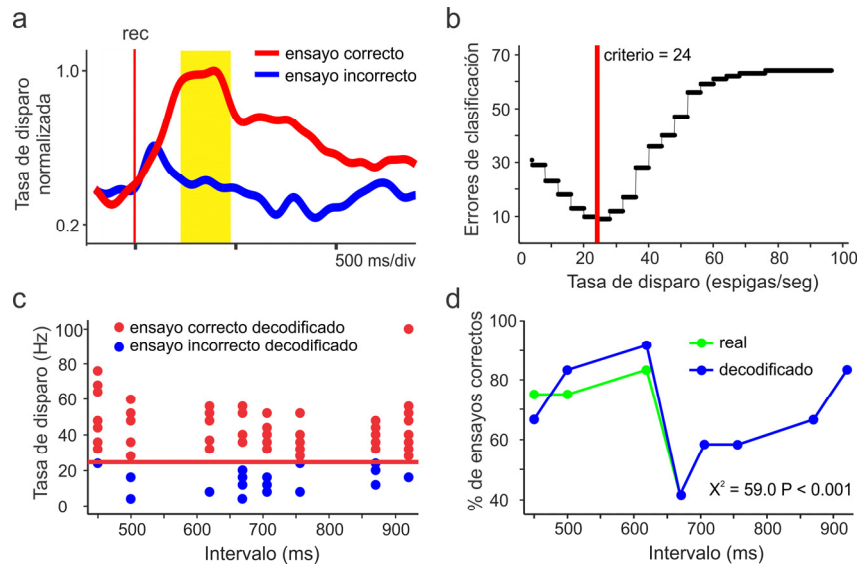


Figura 15. Cálculo del *error probability index*. **a)** Tasa de disparo normalizada promedio de una neurona que tiene mayor actividad para ensayos correctos durante el periodo inter-ensayo. La línea roja vertical indica el momento de recompensa (rec) al cual está alineada la actividad neuronal. **b)** Número de errores de clasificación en función del umbral de tasa de disparo utilizado. La actividad neuronal del periodo indicado en amarillo en el panel *a* se utilizó para clasificar los 96 ensayos de un bloque como correcto o incorrecto con base en un valor umbral (criterio) de tasa de disparo. Se utilizaron criterios de 0 a 100 Hz en pasos de 1. En este caso, el menor criterio que minimiza los errores de clasificación es 24 Hz (línea vertical roja) **c)** Tasa de disparo de la neurona (del período indicado en amarillo en el panel *a*) en función de los intervalos de prueba. Los ensayos con tasa de disparo mayor o menor al criterio (línea roja) fueron considerados correctos (rojo) e incorrectos (azul), respectivamente **d)** Porcentaje de ensayos correctos en función del intervalo de prueba. La línea verde indica los valores reales y la azul los decodificados. Se aplicó una prueba de χ^2 a la tabla de contingencia calculada con los datos conductuales y los decodificados para los 96 ensayos.

3.6.5. Control del efecto de los movimientos oculares sobre la actividad de las neuronas asociadas al resultado de la decisión

Debido a que los monos podían romper la fijación ocular durante el inter-ensayo, fue necesario descartar la posibilidad de que la actividad de las neuronas selectivas al resultado de la decisión estuviera contaminada con actividad neuronal asociada a los movimientos oculares. Para ello, realizamos una regresión lineal múltiple entre la actividad neuronal y la posición ocular (ecuación 2) y posteriormente utilizamos los residuales de esta regresión como variable dependiente en el modelo de regresión múltiple de la ecuación (1). 14 de 124 neuronas en el mono 1 y 34 de 392 neuronas en el mono 2 mostraron un efecto significativo de la posición ocular. De éstas, 4 neuronas del mono 1 y 23 del mono 2 perdieron la selectividad al resultado de la decisión después de controlar dicho efecto.

El modelo de regresión de posición ocular empleado fue el siguiente:

$$f_{t-\Delta} = \beta_0 + \beta_1 x_t + \beta_2 y_t \text{ (Ecuación 2)}$$

Donde $f_{t-\Delta}$ es la tasa de disparo instantánea en el tiempo $t - \Delta$, con Δ de 0 a 200 ms, β_0 es una constante, β_1 y β_2 son los coeficientes de regresión de la coordenada horizontal y vertical de la posición ocular en el tiempo t .

Parte 4. Resultados

4.1. Conducta

Las curvas psicométricas de ambos monos mostraron una forma sigmoidea típica (Figura 16a). Para cada bloque de estímulos (T1, T2 y T3), la probabilidad de categorizar como *largo* un intervalo particular aumentó en función de su duración. En consecuencia, hubo más respuestas correctas para los intervalos más cortos y más largos de cada bloque, y más errores de decisión para los intervalos intermedios. Además, las pendientes de las curvas disminuyeron en función del bloque de intervalos (Figura 16a), lo que indica que la sensibilidad de los monos es menor para rangos de tiempo mayores. De hecho, el umbral relativo aumentó linealmente en función del bloque (Figura 16b, $H_2 = 50.95$, $p = 8.62 \text{ e-}12$, $r = 0.71$, $p = 1.13 \text{ e-}13$, Tabla 1), siguiendo la propiedad escalar del procesamiento de información temporal, que es una forma de la ley de Weber que ha sido observada en tareas perceptuales y motoras de procesamiento temporal⁵.

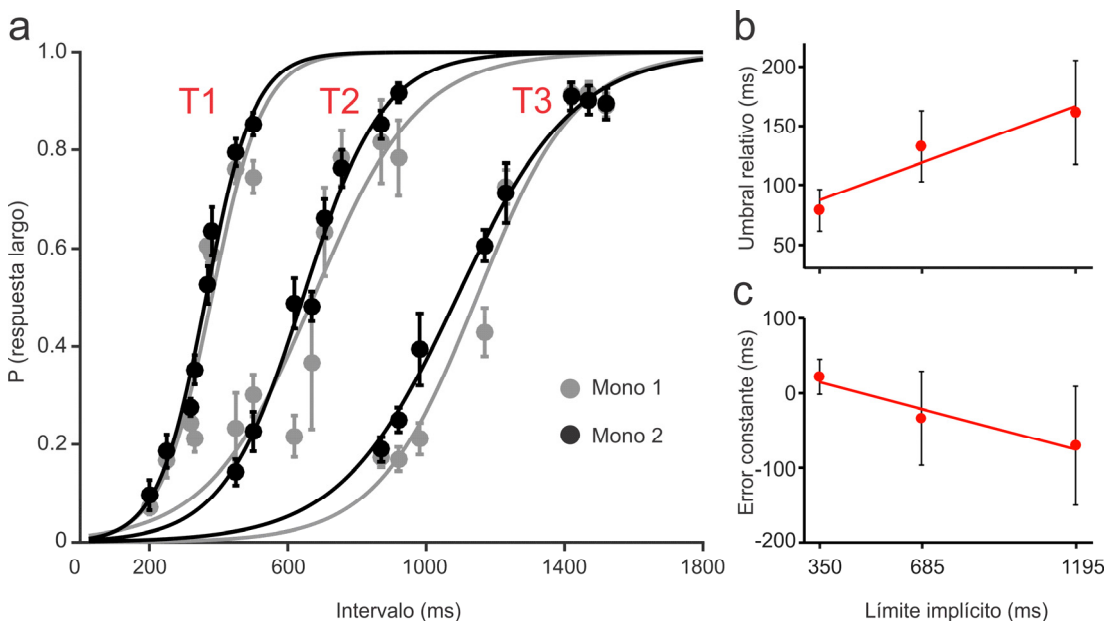


Figura 16. a) Curvas psicométricas de ambos monos para cada uno de los bloques de estímulos (T1, T2, T3). Los círculos representan el promedio de la probabilidad (\pm SEM) de categorizar como largo un intervalo de prueba particular. Las líneas representan el mejor ajuste logístico. **b)** Umbral relativo (promedio \pm SEM) de ambos monos en función del límite implícito de los tres bloques de estímulos (implícito T1: 350, implícito T2: 685, implícito T3: 1195). La línea roja corresponde al mejor ajuste lineal ($p < 0.05$). Obsérvese el incremento lineal del umbral en función de la duración del límite. **c)** Error constante (media \pm SEM) de ambos monos en función del límite implícito de los tres bloques de estímulos. Obsérvese que los animales tienden a sobrestimar el límite del bloque de tiempo más corto (T1) y subestimar el límite del bloque de tiempo más largo (T3).

⁵ Una nota precautoria: es sabido que tanto el espaciamiento —lineal o logarítmico— como el rango de los intervalos de prueba empleados —medido como la diferencia entre el intervalo más largo y el intervalo más corto (L-C), o la razón L/C— modifican la forma de la curva psicométrica incluyendo su pendiente y que, en general, los estudios de psicofísica tratan de mantener estos parámetros constantes cuando realizan comparaciones (Wearden y Ferrara, 1996). En nuestro diseño, tanto el espaciamiento como L-C y L/C difieren entre los tres bloques de estímulos (figura 11), por tanto, no podemos afirmar categóricamente que los cambios en la pendiente se deban únicamente al fenómeno de la propiedad escalar.

El *punto de igualdad subjetiva*, una medida del límite subjetivo entre categorías, se calculó a partir de las curvas psicométricas como el intervalo de tiempo para el cual la probabilidad de respuesta *largo* es de 0.5. Este parámetro puede compararse directamente con el límite real calculando el error constante ($error\ constante = punto\ de\ igualdad\ subjetiva - límite\ implícito$). En ambos monos, el *error constante* fue cercano a cero para los tres bloques, lo que indica que los monos estimaron el límite entre categorías de forma precisa (Figura 16c). Sin embargo, el *error constante* mostró una disminución lineal en función del límite (Fig. 15c, $H_2 = 22.71$, $p = 1,17\ e-5$; $r = -0.51$, $p = 1.18\ e-6$; Tabla 1). Esto indica que los monos subestimaron ligeramente los intervalos del bloque T1 y sobreestimaron los intervalos del bloque T3. Esto corresponde a una sobrestimación del límite entre las categorías corta y larga en T1 y a una subestimación del límite en T3.

Tabla 1. Mediciones psicofísicas						
	Mono 1			Mono 2		
	T1	T2	T3	T1	T2	T3
Límite implícito	350	685	1195	350	685	1195
Punto de igualdad subjetiva media (EEM)	381.4 (7.11)	682.9 (45.22)	1146.4 (17.55)	361.6 (4.42)	643.9 (12.59)	1079.1 (17.88)
Umbral relativo media (EEM)	82.57 (4.43)	156.48 (17.62)	156.93 (9.97)	77.78 (5.26)	123.14 (6.14)	181.22 (7.11)
Error constante media (EEM)	31.41 (7.11)	-2.13 (45.22)	-48.63 (17.55)	11.5 (4.42)	-41.14 (12.59)	-115.88 (17.88)

Por otra parte, observamos que los intervalos cercanos al límite entre categorías, aquellos que en teoría son más difíciles de categorizar, se asociaron con tiempos de reacción mayores (Figura 17a-b). Una ANOVA con el *tiempo de reacción* como variable dependiente y el valor ordinal del intervalo (1 a 8) y el bloque (T1, T2 y T3) como factores mostró efectos significativos para la magnitud ordinal [mono 1: $F_{(7, 320)} = 33.21$, $p < 0.001$; mono 2: $F_{(7, 257)} = 9.89$, $p < 0.001$], pero no para el bloque [mono 1: $F_{(2, 320)} = 1.3$, $p = 0.272$; mono 2: $F_{(2, 257)} = 2.31$, $p = 0.101$] o la interacción ordinal x bloque [mono 1: $F_{(14, 320)} = 0.61$, $p = 0.85$; mono 2: $F_{(14, 256)} = 0.95$, $p = 0.50$]. Esto sugiere que la dificultad para categorizar los intervalos depende de su proximidad al límite entre categorías, no de su duración absoluta.

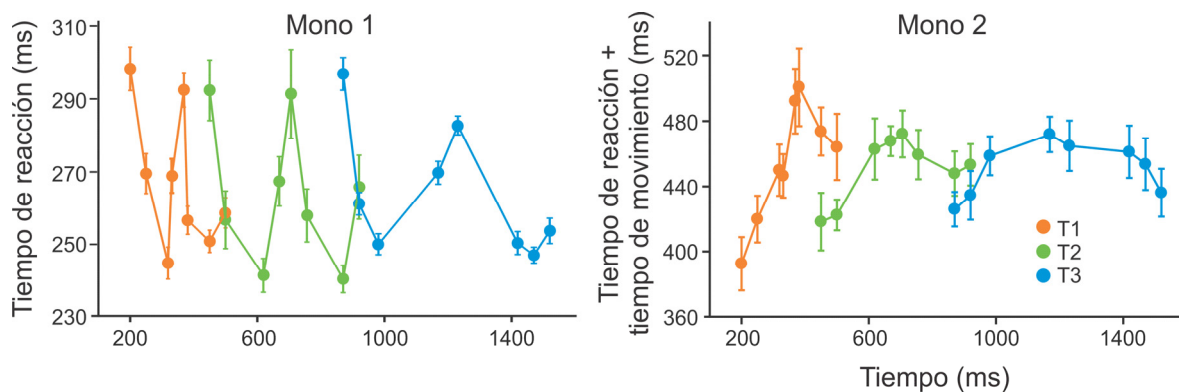


Figura 17. Promedio (\pm EEM) del *tiempo de reacción* del mono 1 y *tiempo de reacción-movimiento* del mono 2 en función de los intervalos de prueba de los tres bloques de estímulos.

En conjunto, los resultados conductuales indican que los monos fueron capaces de utilizar la información temporal entre la presentación de los estímulos visuales para clasificar los intervalos como cortos o largos. Además, el análisis psicométrico demostró que los monos lograron cambiar su criterio de decisión con el fin de clasificar correctamente los intervalos de los tres bloques de estímulos que fueron presentados a lo largo de la misma sesión experimental.

4.2. Registros electrofisiológicos

En total, 259 neuronas fueron registradas en pre-SMA de ambos hemisferios en el mono 1 y 723 neuronas en pre-SMA del hemisferio izquierdo en el mono 2. Para determinar si la actividad de estas neuronas se mantuvo estable durante los registros medimos la similitud de la forma del potencial de acción y de los histogramas de tiempo inter-espiga entre tareas sucesivas de una sesión de registro (ver Métodos). Un total de 816 células se consideraron estables durante al menos dos tareas consecutivas y fueron posteriormente analizadas (196 del mono 1 y 620 del mono 2).

4.2.1. Neuronas de pre-AMS representan el límite subjetivo entre categorías

Durante las sesiones experimentales los monos tenían que cambiar su criterio de decisión para clasificar correctamente los intervalos de prueba de los distintos bloques. Esta habilidad ya había sido observada en primates humanos, no humanos y otros animales; sin embargo, poco se sabía del mecanismo neuronal que permite tal categorización flexible de intervalos de tiempo. En nuestro estudio encontramos evidencia que sugiere que el cerebro resuelve este problema calculando el límite entre categorías *corto* y *largo* y utilizándolo como una regla de decisión. De forma interesante, nuestros datos demuestran que esta representación del límite subjetivo ocurre en pre-AMS desde el nivel de neurona única y por consecuencia también a nivel poblacional.

4.2.1.1 La actividad de algunas neuronas de pre-AMS está asociada al límite entre categorías de cada bloque de ensayos

Nuestro hallazgo más importante fue que la actividad de un grupo de neuronas de pre-AMS estuvo asociada al límite entre las categorías *corto* y *largo* de cada bloque de estímulos. La tasa de disparo promedio de estas neuronas aumentaba después del inicio del intervalo de prueba hasta alcanzar un máximo y después disminuía hasta niveles basales (Figura 18a-b). En el ejemplo de la Figura 18a se observa que el máximo de actividad, indicado por un asterisco, ocurre en un momento relativamente constante después de la presentación del primer estímulo, independientemente del intervalo presentado. Por tanto, el máximo de actividad tiende a ocurrir después de la presentación del segundo estímulo cuando son presentados los intervalos cortos (Figura 18a, cuatro paneles superiores) y antes del segundo estímulo cuando son presentados los intervalos largos (Figura 18a, cuatro paneles inferiores). De forma interesante, cuando el mono categorizó intervalos en un rango de duraciones mayor, la actividad máxima de la misma neurona ocurrió más tardíamente (Figura 18b). Para cuantificar este fenómeno, calculamos el *tiempo al pico* como el tiempo transcurrido entre la presentación del primer estímulo y el máximo de actividad de la neurona (Figura 18b, panel inferior). El *tiempo al pico* promedio (\pm error estándar) de la neurona para el bloque T1 fue de 441 ± 27 ms: un valor cercano al límite entre categorías de este bloque que es de 350 ms (Figura 18a). En cambio, en el bloque T3 la misma neurona presentó el pico de actividad a 1067 ± 25 ms: un valor cercano al límite implícito

del bloque T3 que es de 1195 ms. Por lo tanto, en la misma sesión experimental, la neurona cambió la temporalidad de su patrón de actividad, alcanzando la actividad máxima en un momento que corresponde aproximadamente al límite entre las categorías *corto* y *largo* de cada bloque de estímulos.

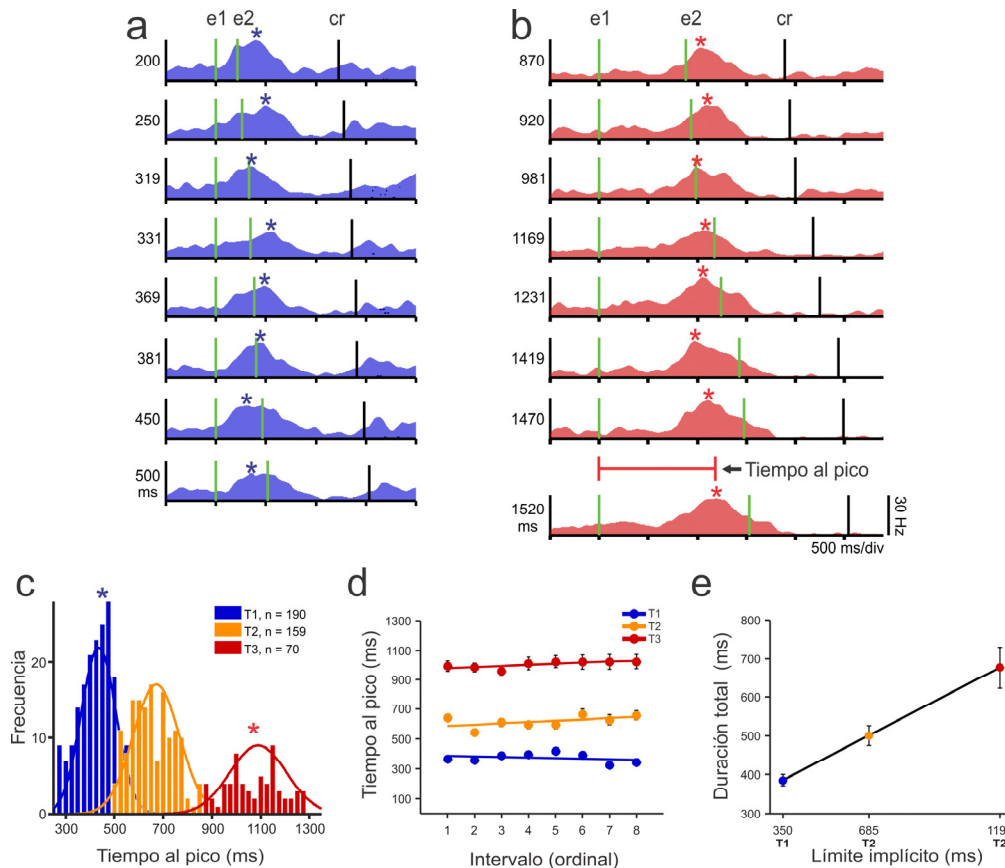


Figura 18. La actividad de neuronas de pre-AMS está asociada al límite entre las categorías *corto* y *largo*. **a)** Tasa de disparo instantánea promedio de una neurona de límite en función del tiempo transcurrido a lo largo del ensayo. La actividad está segregada por intervalo de prueba (intervalos de 200 a 500 ms del bloque T1, indicados a la izquierda). Las líneas verdes indican el momento de presentación de los estímulos que delimitan el intervalo (e1 y e2) y la línea negra indica el momento de presentación de los círculos de respuesta (cr). La actividad neuronal está alineada al primer estímulo. **b)** Actividad de la neurona mostrada en *a* en respuesta a la presentación de los intervalos del bloque T3. En el panel inferior (1520 ms) se representa la forma en que medimos el *tiempo al pico*. **c)** Histogramas de *tiempo al pico* promedio de todas las neuronas de límite observadas en los tres bloques de estímulos. Las líneas de color muestran el mejor ajuste Gaussiano. Los asteriscos indican los valores de la neurona mostrada en *a* y *b*. **d)** *Tiempo al pico* (media \pm SEM) de las neuronas de límite en función de los intervalos (valor ordinal) de los tres bloques de estímulos. **e)** Duración total del patrón de actividad ascendente/descendente de las neuronas de límite en función del límite entre categorías de los tres bloques de estímulos.

Considerando a ambos monos, 190, 159 y 70 neuronas presentaron actividad relacionada al límite en T1, T2 y T3, respectivamente. La figura 18c muestra el tiempo al pico promedio en cada bloque de estímulos de la población de neuronas de límite de ambos monos. A nivel poblacional, el *tiempo al pico* de las neuronas de límite mostró diferencias significativas entre bloques de estímulos (ANOVA de dos vías, $F(2, 1254) = 1336.6$, $p < 0.00001$), pero no entre intervalos (valor ordinal) ($F(7, 1254) = 1.82$, $p = 0.081$) o su

interacción ($F_{(14, 1254)} = 1.4, p = 0.145$, figura 18d). También observamos que la duración de la fase de incremento de actividad aumentó en función del bloque de estímulos (ANOVA de una vía, $F_{(2, 416)} = 93.7, p < 0.00001$, figura 18e). La figura 19a muestra la actividad promedio de la población de neuronas de límite en los tres bloques de estímulos. Del total de las neuronas de límite, 87 neuronas (27 %) estuvieron asociadas al límite en dos o más bloques de estímulos (Tabla 2). Es importante mencionar que no observamos diferencias significativas entre el tiempo al pico de las neuronas que codificaban el límite en un bloque y las que codifican el límite en dos o más bloques (Kruskal-Wallis y post hoc Dunn-Sidak, $\chi^2_{(5)} = 312.62, p < 0.001$, figura 19b).

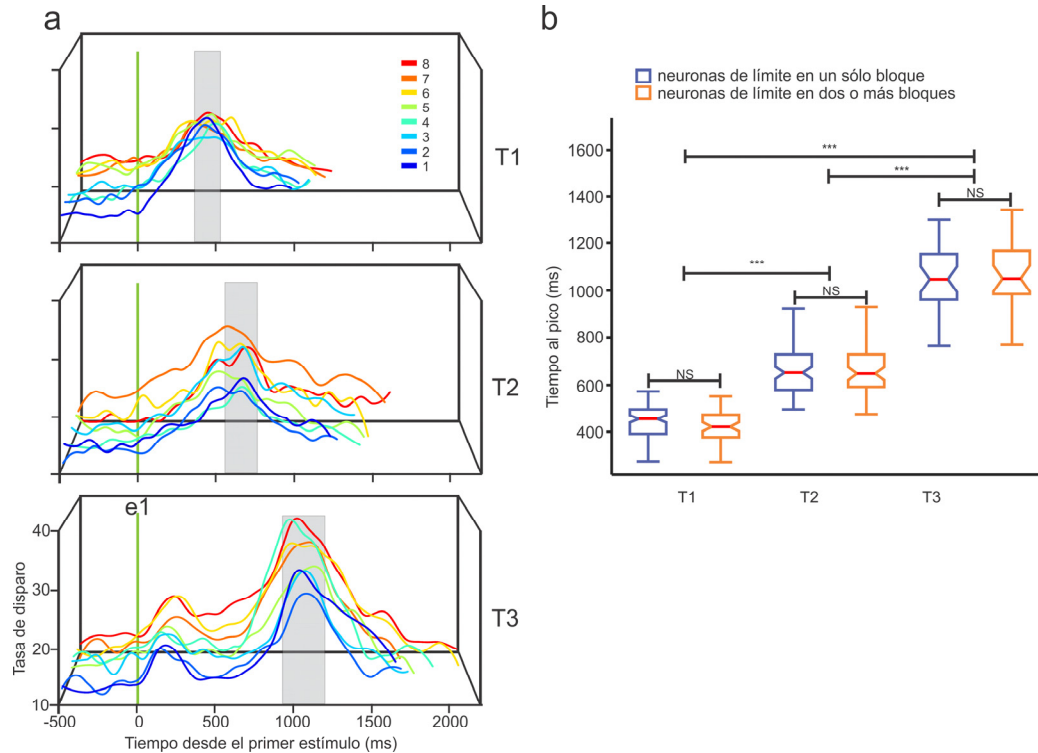


Figura 19. a) Actividad poblacional promedio de las neuronas de ‘límite’ para los tres bloques de la tarea de categorización (T1, T2, T3). El código de color corresponde a los ocho intervalos de prueba como se indica en el recuadro. La línea vertical verde indica la presentación del primer estímulo (e1). El rectángulo gris indica el promedio (± 1 desviación estándar) del tiempo al pico calculado a partir de las distribuciones gaussianas de la figura 18c. **b)** Tiempo al pico en función de los tres bloques de intervalos para neuronas que codificaron el límite en un solo bloque o en más de un bloque (Kruskal-Wallis y Dunn-Sidak post hoc, $\chi^2_{(5)} = 312.62, p < 0.001$).

Tarea		Número (%) de neuronas
T1 T2 T3	10 (03.10)	
T1 T2	49 (15.22)	
T1 T3	15 (04.66)	
T2 T3	13 (04.04)	
T1	116 (36.02)	
T2	87 (27.02)	
T3	32 (09.94)	

El patrón de actividad descrito sugiere que las neuronas codifican el límite subjetivo entre categorías. De ser así, se esperaría encontrar correlación entre el desempeño psicométrico de los monos y los parámetros equivalentes obtenidos de la actividad de dichas neuronas. La Figura 20a muestra el *error constante* promedio de ambos monos y el equivalente calculado a partir de la actividad de las neuronas de límite. Para obtener el equivalente del *error constante* para la población de neuronas de límite, calculamos la diferencia entre la media de las distribuciones de la Figura 18c (435, 660.5 y 1066.4 ms para T1, T2 y T3, respectivamente) y el límite implícito de cada bloque de estímulos (350, 685 y 1195 ms para T1, T2 y T3 respectivamente). Se observa que el *error constante* neuronal siguió la misma tendencia del *error constante* conductual (Figura 20a; constante y pendiente para la conducta 51.4 y -0.11; constante y pendiente para las neuronas: 113.6 y -0.19, ambos ajustes lineales con $p < 0.05$). También encontramos una estrecha correspondencia entre el *umbral relativo* de los monos y el equivalente de la población de las neuronas de límite, calculado éste último como la dispersión de las distribuciones de *tiempo al pico* mostradas en la figura 18c. Ambos parámetros aumentaron con una pendiente similar en función de la duración del límite implícito de cada bloque (Figura 20b; constante y pendiente conducta: 54.5 y 0.09, constante y pendiente neuronas: 46.7 y 0.075, ambos ajustes lineales con $p < 0.05$). Estos hallazgos apoyan la hipótesis de que la actividad de las neuronas de ‘límite’ representa el límite subjetivo entre categorías *corto* y *largo* de cada bloque de intervalos. Por tanto, un lector ideal podría utilizar la relación temporal entre el pico de actividad de las neuronas de límite y la ocurrencia del segundo estímulo para clasificar los intervalos como *corto* o *largo*. En la siguiente sección, probamos esta idea explícitamente.

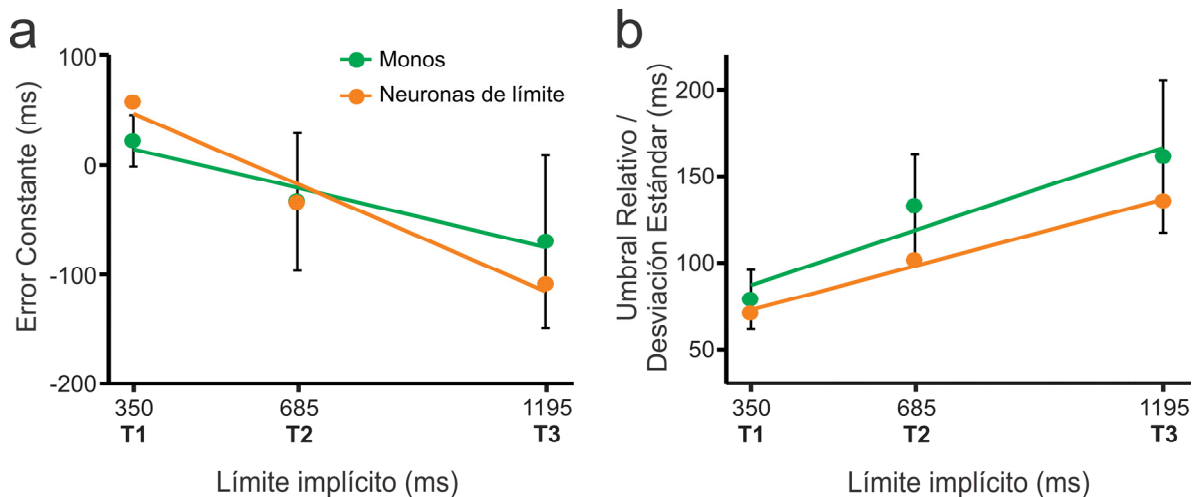


Figura 20. **a)** Error constante ‘conductual’ (media \pm SEM, verde) y ‘neuronal’ (naranja, ver texto para detalles) en función del límite implícito de los tres bloques de estímulos. **b)** Umbral relativo conductual (media \pm EEM, verde) y desviación estándar de las funciones Gaussianas mostradas en la figura 18c (naranja) en función del límite implícito de los tres bloques de estímulos. Las líneas representan los mejores ajustes lineales ($p < 0,05$).

4.2.1.2. La actividad de las neuronas de límite predice la decisión perceptual de los monos en cada ensayo de la tarea de categorización

Como se mencionó previamente, el parámetro más importante parece ser la relación temporal entre el pico de actividad de las neuronas de límite y el final del intervalo indicado por la ocurrencia del segundo estímulo. Por tanto, determinamos si ese parámetro se puede

utilizar para decodificar la decisión categórica de los monos. Para ello, cuantificamos en cada ensayo el tiempo transcurrido (τ) entre el pico de actividad de la neurona de límite y la ocurrencia del segundo estímulo (Figura 21a,b). A continuación, encontramos el valor de τ (criterio de decodificación) que minimizó el error para clasificar los estímulos como *corto* o *largo* (Figura 21c,d). Finalmente, se construyó una curva neurométrica calculando la probabilidad de que un intervalo de prueba fuera categorizado como *corto* o *largo* a partir del número de ensayos en los que τ fue mayor o menor que el criterio de decodificación (Figura 21d,e). Para la neurona de la figura 21 la función neurométrica así calculada fue muy similar a la correspondiente función psicométrica (Figura 21e). En consecuencia, el *umbral relativo* y el *punto de igualdad subjetiva* neurométricos fueron prácticamente idénticos a los correspondientes parámetros psicométricos (*umbral relativo* y *punto de igualdad subjetiva* neurométricos: 111 y 1051 ms; *umbral relativo* y *punto de igualdad subjetiva* psicométricos: 112 y 1052 ms).

Finalmente, calculamos dos medidas del grado de relación entre la respuesta categórica de los monos y la respuesta decodificada a partir de la actividad de las neuronas de límite. La primera es un análogo del *choice probability index* para las neuronas de límite. Este índice indica la proporción de respuestas conductuales que se puede predecir a partir del valor de τ . El índice puede adquirir valores entre 0 y 1, donde 1 indica una completa separación entre las distribuciones de τ asociadas a respuestas *corto* y *largo*. Por otra parte, se realizó una prueba χ^2 de independencia sobre la tabla de contingencia calculada con los datos de la respuesta categórica de los monos y la respuesta decodificada a partir de la actividad de las neuronas de límite en cada uno de los 96 ensayos de cada bloque. Para la neurona de la figura 21, la prueba de χ^2 resultó altamente significativa (96 ensayos, $\chi^2 = 63,8$, $P < 0.00001$) y el *choice probability index* fue cercano a 1 (0.89) indicando que existe una fuerte relación entre los datos psicométricos y neurométricos. En total, 130 neuronas de límite mostraron una relación significativa entre la respuesta decodificada y la observada (χ^2 , $p < 0.05$) y un *choice probability index* mayor a 0,6. Estos hallazgos muestran que la relación temporal entre el final del intervalo y el pico de actividad de las neuronas de límite puede ser utilizada para predecir la decisión perceptual de los monos en cada ensayo. Esto apoya fuertemente la idea de que las neuronas de límite codifican el límite subjetivo entre categorías.

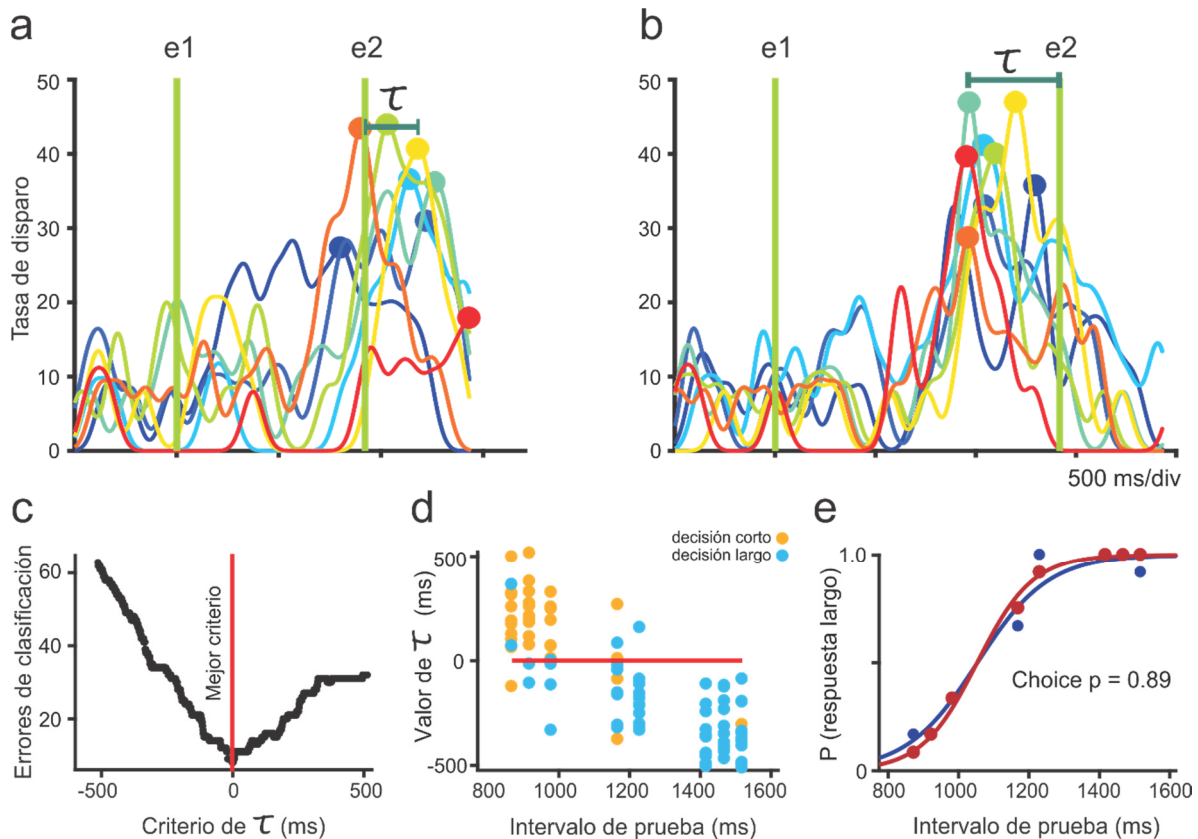


Figura 21. La actividad de neuronas de límite permite decodificar la categoría seleccionada por el mono en cada ensayo de la tarea. **(a)** Función de densidad de espigas de la neurona de la *Figura 18a,b* en ensayos en los que se presentó un intervalo de prueba corto (870 ms, bloque 3). Cada línea de color corresponde a un ensayo. Los círculos indican el momento de la actividad máxima. e1 y e2 indican los momentos de presentación del primer y segundo estímulo respectivamente. El tiempo entre el segundo estímulo y el pico de actividad de la neurona (τ) está indicado para un ensayo. **(b)** Actividad de la misma neurona durante la presentación de un intervalo largo (1470 ms, bloque 3). Se muestra el valor de τ para un ensayo. **(c)** Número de errores de clasificación para un rango de criterios de -500 a 500 ms en pasos de 1 ms. El mejor criterio corresponde al valor de τ que minimizó el número de errores al clasificar cada ensayo como *corto* o *largo*. **(d)** Valores de τ en función de los intervalos de prueba del bloque 3. La línea horizontal roja corresponde al mejor criterio. El código de color indica la categoría elegida por el mono en cada ensayo. **(e)** Función psicométrica (azul) y neurométrica (rojo). La curva neurométrica se construyó calculando, para cada uno de los intervalos de prueba, la proporción de ensayos en los que τ fue menor que el mejor criterio. Las líneas muestran las funciones logísticas ajustadas; el *umbral relativo* y el *punto de igualdad subjetiva* fueron de 112 y 1052 ms para la curva psicométrica y 112 y 1105 ms para la curva neurométrica. Para esta neurona la relación entre la respuesta real y la respuesta decodificada para los 96 ensayos fue significativa ($\chi^2 = 63.8$, $P < 0.00001$) lo que concuerda con un alto *boundary choice probability index* (0.89).

4.2.2. Representación neuronal de la categoría seleccionada por los monos

Una subpoblación de neuronas de pre-SMA mostró actividad selectiva a la categoría elegida por los monos. La actividad de estas neuronas fue similar para los intervalos que los monos clasificaron dentro de la misma categoría y diferente para los intervalos que clasificaron en categorías distintas. Para identificar a estas neuronas, analizamos la actividad neuronal durante el retardo, el tiempo de reacción y de movimiento, así como el

inter-ensayo. Sin embargo, como la mayor parte de la selectividad a la categoría se observó en el retardo, restringimos nuestro análisis a esta época.

La figura 22a muestra una neurona selectiva a la categoría. Durante el retardo, la actividad de esta neurona fue mayor para los ensayos en los que el mono respondió *corto*. El *choice probability index* de la neurona fue de 0.91 y la prueba de χ^2 fue altamente significativa (96 ensayos, $\chi^2 = 54.43$; $p < 0.001$). Como consecuencia, las funciones neurométrica y psicométrica fueron muy similares lo que pudo corroborarse al comparar los correspondientes *puntos de igualdad subjetiva* y *umbrales relativos* (Figura 22b, *punto de igualdad subjetiva* neurométrico/psicométrico: 362.10/356.75; *umbral relativo* neurométrico/psicométrico: 43.57/55.22). La figura 23a-c muestra la actividad promedio normalizada de la población de neuronas selectivas a la categoría *corto* en cada bloque de intervalos (T1, T2 y T3). Puede observarse que la selectividad ocurre durante la mayor parte del retardo. Otro grupo de neuronas presentó mayor actividad cuando los intervalos fueron categorizados como largos (Figura 23d-f). Considerando ambos monos, 134, 146 y 104 neuronas mostraron mayor actividad para intervalos categorizados como *cortos* en T1, T2 y T3 respectivamente. De éstas, 89 neuronas fueron selectivas en dos o más bloques de estímulos. Por otra parte, 113, 92 y 71 neuronas mostraron mayor actividad para los intervalos categorizados como *largos* en T1, T2 y T3, respectivamente, y 64 neuronas mantuvieron la selectividad en dos o más bloques.

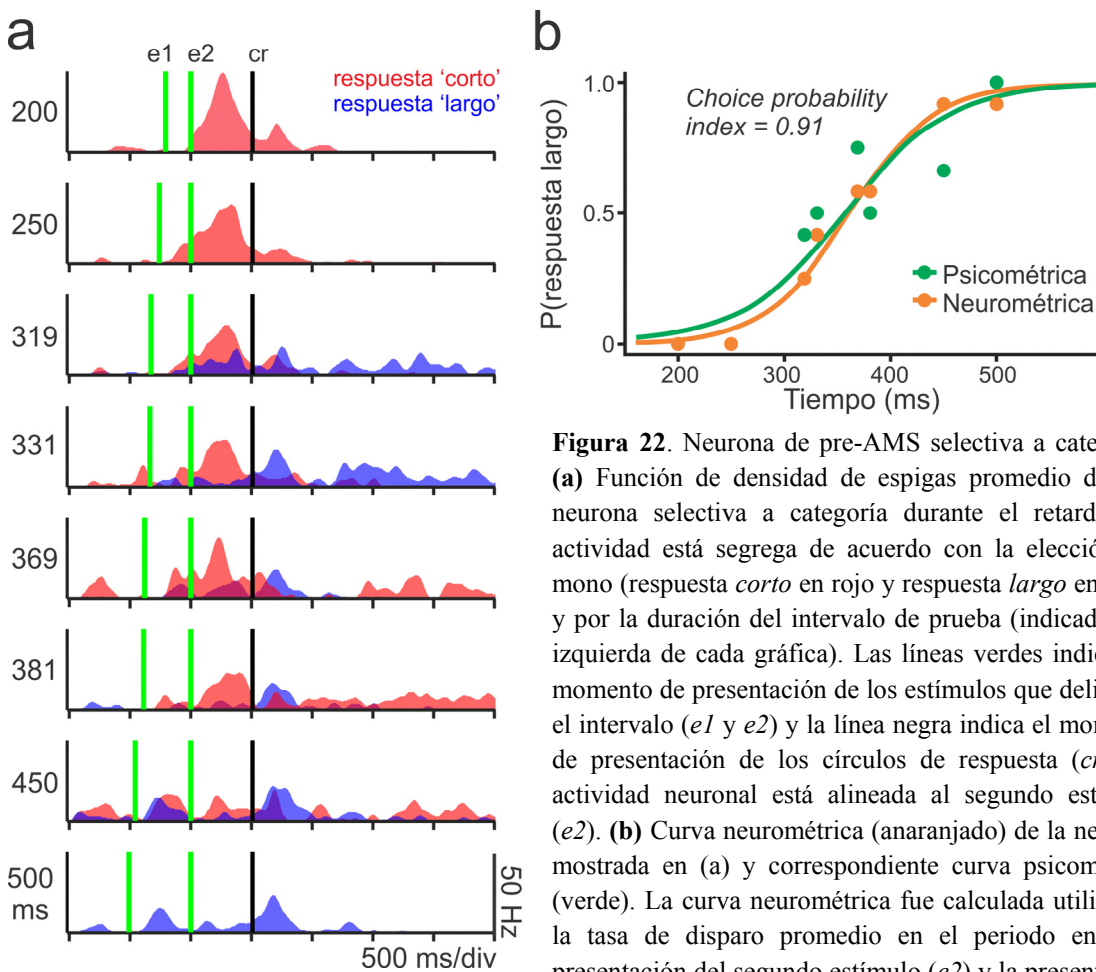


Figura 22. Neurona de pre-AMS selectiva a categoría. **(a)** Función de densidad de espigas promedio de una neurona selectiva a categoría durante el retardo. La actividad está segregada de acuerdo con la elección del mono (respuesta *corto* en rojo y respuesta *largo* en azul) y por la duración del intervalo de prueba (indicado a la izquierda de cada gráfica). Las líneas verdes indican el momento de presentación de los estímulos que delimitan el intervalo (*e1* y *e2*) y la línea negra indica el momento de presentación de los círculos de respuesta (*cr*). La actividad neuronal está alineada al segundo estímulo (*e2*). **(b)** Curva neurométrica (anaranjado) de la neurona mostrada en (a) y correspondiente curva psicométrica (verde). La curva neurométrica fue calculada utilizando la tasa de disparo promedio en el periodo entre la presentación del segundo estímulo (*e2*) y la presentación de los círculos de respuesta (*cr*).

Los datos muestran que distintas poblaciones de neuronas de pre-AMS mantienen durante el retardo la información de la categoría seleccionada por los monos en cada ensayo de la tarea. Es importante destacar que durante el retardo los monos no podían predecir la ubicación de los círculos de respuesta utilizados para comunicar su decisión categórica. Por lo tanto, la actividad de las neuronas selectivas a categoría no fue contaminada por actividad relacionada con la intención de realizar un movimiento de respuesta hacia una ubicación en particular.

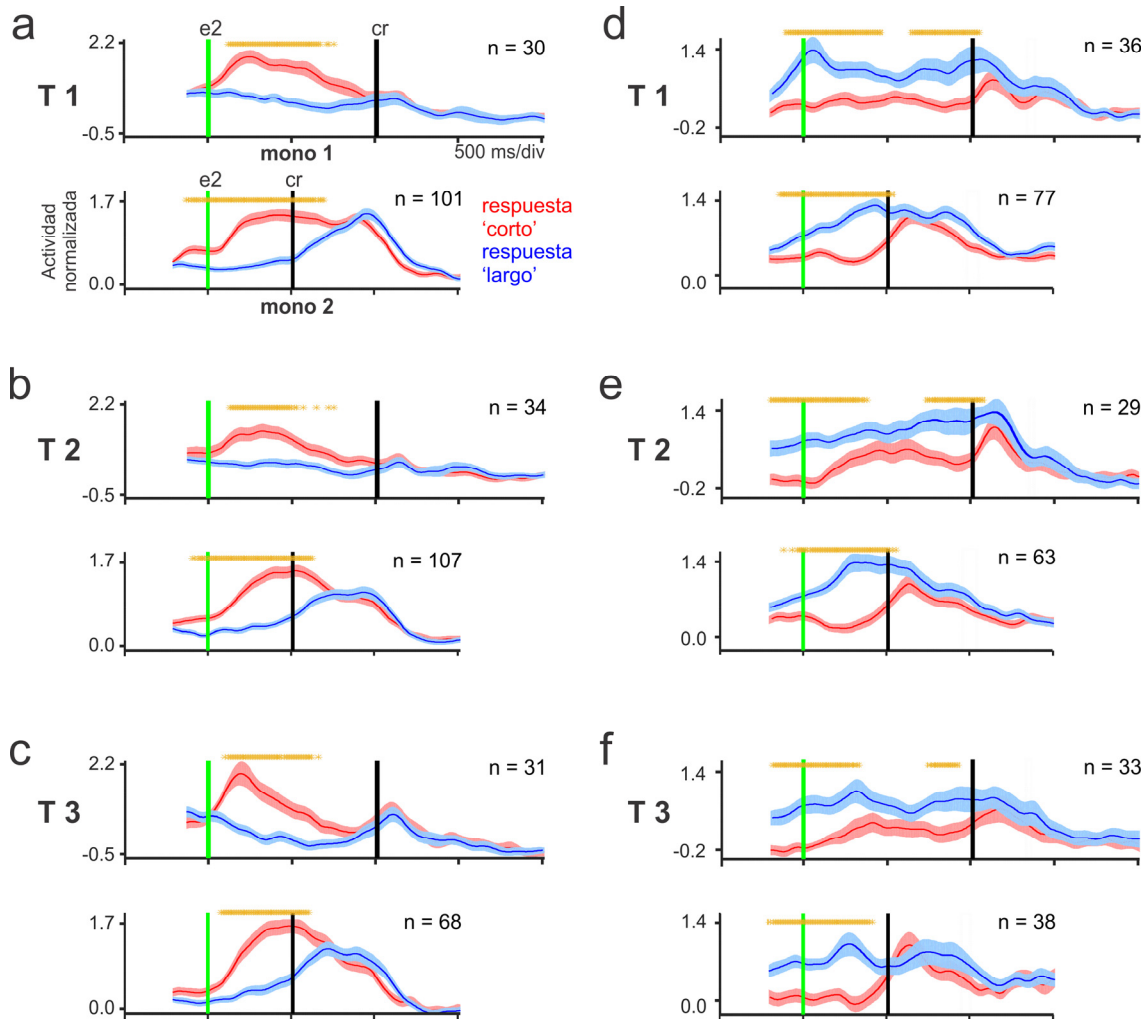


Figura 23. a) Actividad normalizada (promedio \pm error estándar) de la población de las neuronas con mayor tasa de disparo en los ensayos en los que los monos eligieron la respuesta *corto* en el bloque T1. El panel superior muestra la actividad de las neuronas del mono 1 y el panel inferior muestra la actividad de las neuronas del mono 2. La línea verde indica el momento de presentación del segundo estímulo (e2) y la línea negra indica el momento de presentación de los círculos de respuesta (cr). La actividad neuronal está alineada a la presentación del segundo estímulo (e2). Los asteriscos anaranjados indican los bins (10 ms) con diferencias significativas entre la actividad para ensayos de respuesta *corto* vs *largo* (t de Student sobre la SDF poblacional, intervalo de confianza *bootstrap* de 95%, 100 iteraciones). **b)** Igual que en a) para el bloque T2. **c)** Igual que en a) para el bloque T3. **d)** Actividad normalizada (promedio \pm error estándar) de la población de las neuronas con mayor tasa de disparo en los ensayos en los que los monos eligieron la respuesta *largo* en el bloque T1. Misma notación que en a). **e)** Igual que en d) para el bloque T2. **f)** Igual que en d) para el bloque T3.

4.2.3. Representación neuronal de las consecuencias de la decisión

Un grupo de neuronas de pre-AMS mostró actividad selectiva a las consecuencias de la decisión (ensayo correcto/incorrecto) durante el inter-ensayo. La figura 24a muestra una neurona con mayor actividad en los ensayos incorrectos. Esto ocurre durante el inter-ensayo para todos los intervalos de prueba del bloque T1. Para esta neurona, el *outcome probability index* fue de 0.96 y la prueba χ^2 fue altamente significativa (96 ensayos, $\chi^2 = 66.79$; $p < 0.001$), lo que indica que su actividad fue modulada fuertemente por el resultado de la decisión del mono (ver las figuras 24b y 25d-f para la actividad poblacional de estas neuronas). En pre-AMS también encontramos neuronas con mayor actividad a ensayos correctos (ver Figura 25a-c para actividad poblacional). Considerando ambos monos, 293, 250 y 191 neuronas mostraron mayor actividad en los ensayos incorrectos en T1, T2 y T3, respectivamente. De éstas, 232 neuronas mantuvieron su selectividad en dos o más bloques de estímulos. A su vez, 83, 100 y 56 neuronas mostraron mayor actividad en los ensayos correctos en T1, T2 y T3 respectivamente y 52 neuronas mantuvieron su selectividad en dos o más bloques de estímulos. El número de neuronas selectivas a los ensayos incorrectos fue estadísticamente mayor al número de neuronas selectivas a ensayos correctos ($\chi^2_{(1)} = 135.01$, $p < 0.001$). Además, las neuronas selectivas a ensayos correctos, fueron reclutadas antes que las selectivas a ensayos incorrectos (Figura 24c).

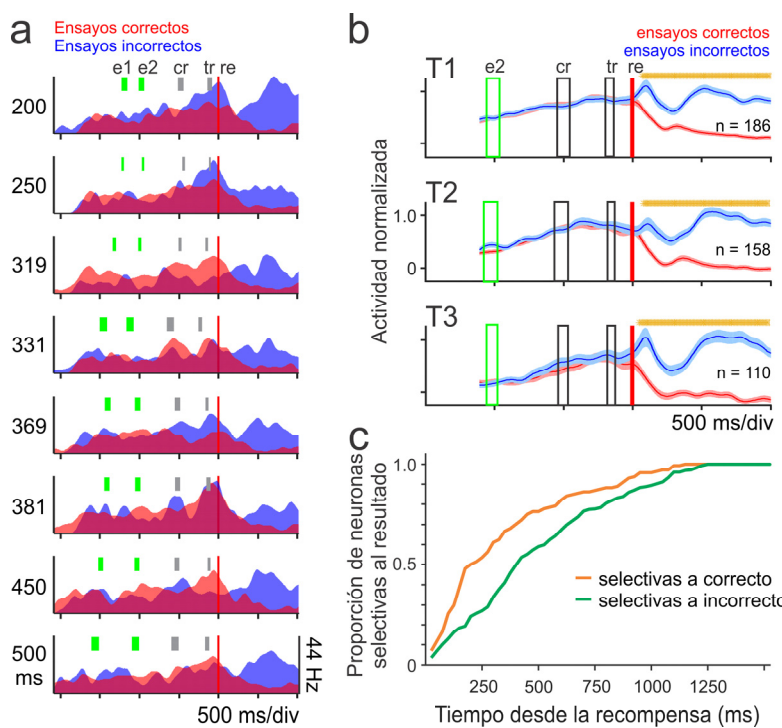


Figura 24. Neuronas selectivas al resultado de la decisión. **(a)** Ejemplo de una neurona pre-SMA con mayor actividad para ensayos incorrectos/no recompensados. La actividad se separó en ensayos correctos (rojo) e incorrectos (azul). e1, e2, cr y tr indican la desviación estándar para el tiempo de ocurrencia del primer estímulo, segundo estímulo, círculos de respuesta y tiempo de reacción. La actividad está alineada al momento de la recompensa (re). **(c)** Distribuciones acumuladas de las latencias de inicio de respuesta de las neuronas selectivas a los ensayos correctos (naranja) e incorrectos (verde). El desplazamiento hacia la derecha de la curva verde es significativo (prueba de Kolmogorov-Smirnov, $p < 0,0001$).

Utilizamos un modelo de regresión lineal múltiple para descartar un posible efecto de la posición ocular sobre la actividad de las neuronas selectivas a las consecuencias de la decisión (ver la ecuación 2 en los Métodos). Encontramos que sólo un pequeño porcentaje de tales neuronas, 4% y 5.47% en el mono 1 y 2, respectivamente, perdieron su selectividad al controlar el efecto de la posición ocular. Por tanto, concluimos que la selectividad al resultado de la decisión no fue contaminada por los movimientos oculares que los monos

podían hacer libremente durante el inter-ensayo. En resumen, estos resultados sugieren que algunas neuronas de pre-AMS mantuvieron, durante el inter-ensayo, una representación de las consecuencias de la decisión con tasas de disparo diferentes para ensayos correctos e incorrectos.

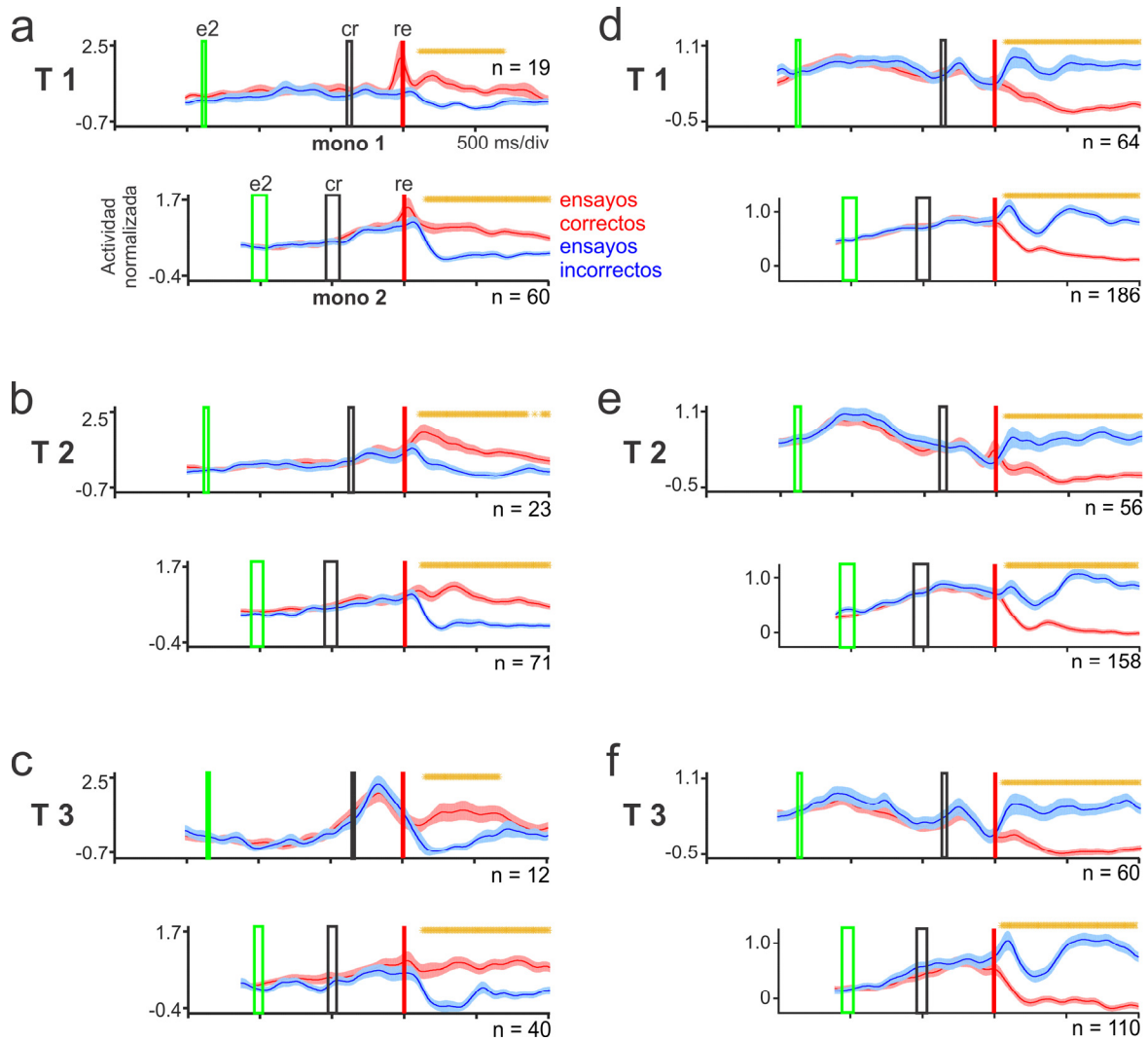


Figura 25. a) Actividad normalizada (promedio \pm error estándar) de la población de neuronas cuya tasa de disparo es significativamente mayor en los ensayos correctos del bloque T1. El panel superior muestra la actividad de las neuronas del mono 1 y el panel inferior muestra la actividad de las neuronas del mono 2. *e2* y *cr* indican la media + una desviación estándar del momento de presentación del segundo estímulo y del momento de presentación de los círculos de respuesta, respectivamente. La actividad neuronal está alineada al tiempo real o esperado de la recompensa (*re*, línea vertical roja). Los asteriscos anaranjados indican los bins (10 ms) con diferencias significativas entre la actividad para ensayos correctos vs incorrectos (t de Student, intervalo de confianza *bootstrap* de 95%, 100 iteraciones). **b)** Igual que en a) para el bloque T2. **c)** Igual que en a) para el bloque T3. **d)** Actividad normalizada (promedio \pm error estándar) de la población de neuronas con tasa de disparo mayor en los ensayos incorrectos del bloque T1. Misma notación que en a). **e)** Igual que en d) para el bloque T2. **f)** Igual que en d) para el bloque T3.

4.2.4. Organización secuencial de las respuestas neuronales

Durante cada ensayo de la tarea, la representación neuronal del límite entre categorías, de la categoría seleccionada por los monos y del resultado de la decisión surgió secuencialmente en la población de neuronas de pre-AMS. El límite entre categorías fue codificado entre el inicio y el final del intervalo de prueba. En cambio, la actividad asociada a la categoría elegida por los monos ocurrió al final de los intervalos de prueba y durante el retardo. Por otra parte, la actividad relacionada con el resultado de la decisión se observó principalmente durante el inter-ensayo (Figura 26).

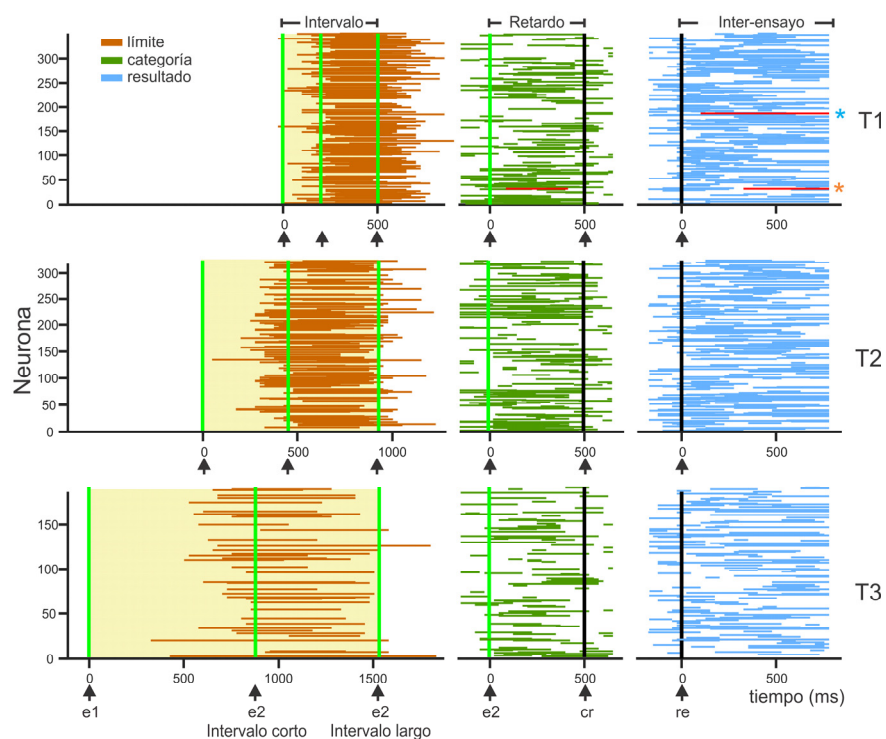


Figura 26. La representación del límite entre categorías, la categoría y el resultado de la decisión emergió secuencialmente en pre-AMS. Las gráficas muestran el tiempo en que las neuronas del mono 2 codificaron información significativa de los tres parámetros en T1 (panel superior), T2 (panel medio) y T3 (panel inferior). Cada fila corresponde a una neurona. El asterisco anaranjado a la derecha del panel superior señala la neurona mostrada en la figura 22a. El asterisco azul indica la neurona mostrada en la figura 24a. Las flechas en la parte inferior de cada gráfico indican los eventos del ensayo. La actividad del panel izquierdo, (marrón) está alineada al primer estímulo (e1); se indica el momento de presentación del segundo estímulo (e2) para el intervalo más corto y más largo de cada bloque. La actividad del panel central (verde) está alineada al segundo estímulo (e2). La actividad del panel derecho (azul) está alineada a la recompensa (re).

Es importante notar que mientras que la categoría y el resultado de la decisión pudieron ser decodificados a partir de la tasa de disparo promedio en ventanas de tiempo relativamente grandes, para decodificar el límite subjetivo se utilizó el momento de ocurrencia del pico de actividad neuronal. De forma interesante, encontramos que neuronas individuales codificaron secuencialmente más de un parámetro. Por ejemplo, la neurona mostrada en la figura 22a mostró selectividad a la categoría durante el retardo y selectividad adicional a ensayos incorrectos durante el inter-ensayo (observe que los trazos azules en los paneles de 319 y 331 ms y los trazos rojos en los paneles de 369, 381 y 450 ms de la figura 22a corresponden al promedio de ensayos incorrectos). En otro ejemplo, la figura 27a muestra

la actividad de una neurona que codifica el límite entre categorías cerca de la ocurrencia del segundo estímulo y además presenta actividad selectiva a la categoría durante el retardo. En este caso, la categoría seleccionada por el mono pudo ser decodificada empleando *el tiempo al pico*, que codifica el límite entre categorías (Figura 27b, curva neurométrica en naranja) o utilizando la tasa de disparo promedio durante el retardo, la cual es selectiva para la categoría elegida por el mono (Figura 27c, curva neurométrica en naranja). El *boundary choice probability index* de esta neurona fue de 0.77 y la correspondiente prueba de χ^2 fue altamente significativa (96 ensayos, $\chi^2 = 51.88$, $p < 0.001$). Por otra parte, el *choice probability index* fue 0.94 y la correspondiente prueba de χ^2 fue altamente significativa (96 ensayos, $\chi^2 = 55.97$, $p < 0.001$). Por tanto, la neurona codificó tanto el límite entre categorías como la categoría finalmente seleccionada por el mono.

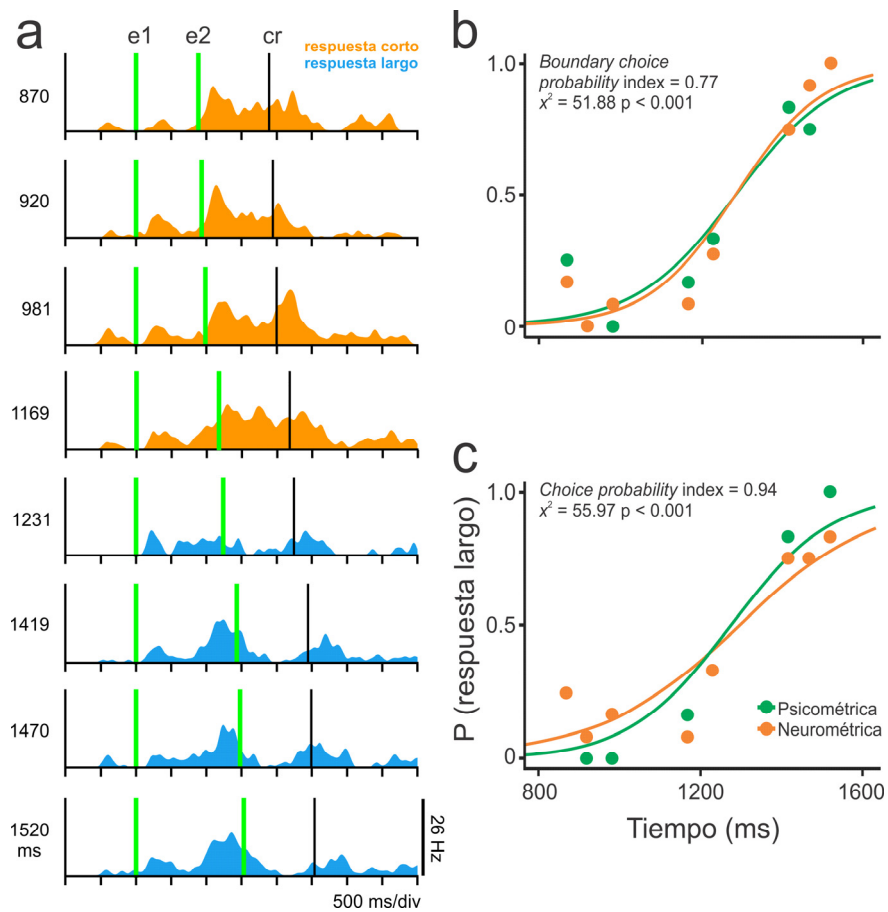


Figura 27. Neurona de límite con selectividad adicional para la decisión categórica. **(a)** Tasa de disparo instantánea promedio de una neurona para los ocho intervalos de prueba del bloque T3. Observe que el pico de actividad ocurre después del segundo estímulo (e2) en intervalos cortos y antes del segundo estímulo en intervalos largos. Observe además que la actividad durante el retardo (periodo de tiempo entre e2 y cr) es mayor para los ensayos en los que el mono seleccionó la categoría *corto*. e1: presentación del primer estímulo, e2: presentación del segundo estímulo, cr: presentación de los círculos de respuesta. **(b)** Curva neurométrica de la neurona mostrada en (a) y correspondiente curva psicométrica. Esta curva neurométrica fue calculada utilizando los valores de τ de la neurona. **(c)** Curva neurométrica de la neurona mostrada en (a) y correspondiente curva psicométrica. La curva neurométrica se calculó empleando la tasa de disparo promedio durante el retardo.

Parte 5. Discusión

5.1. Discusión general

Para aclarar el mecanismo del cual depende la categorización flexible de intervalos de tiempo registramos la actividad de neuronas de pre-AMS de monos Rhesus realizando una tarea de categorización relativa. Dado que había tres bloques de intervalos, los monos tuvieron que utilizar un nuevo criterio de categorización (límite entre categorías) cada vez que se presentó un nuevo bloque. Este diseño experimental nos permitió determinar si pre-AMS representa información clave para la tarea como la duración de los intervalos, los posibles prototipos *corto/largo*, el límite subjetivo entre categorías, el proceso de comparación de la magnitud de los estímulos con los prototipos o con los límites de las categorías, la elección categórica de los animales o las consecuencias de la decisión perceptual. Nuestro análisis de psicofísica indicó que los monos atendieron a los estímulos y ajustaron con éxito el límite *corto/largo* para asignar los intervalos de los diferentes bloques a la categoría correcta. Los datos neurofisiológicos mostraron que algunos de los parámetros que habíamos hipotetizado se reflejan en la actividad de neuronas únicas —y, por tanto, también en la actividad poblacional, se entiende— de pre-AMS. Nuestro hallazgo más novedoso fue que las células de pre-AMS codifican el límite subjetivo entre categorías. La actividad de estas neuronas permitió decodificar con alta precisión la categoría seleccionada por los animales en cada ensayo de la tarea. Adicionalmente, los resultados mostraron que neuronas individuales de pre-AMS representan la categoría seleccionada por los animales y el resultado de la decisión de los monos. Esta información fue codificada en una secuencia que coincidía con los requisitos cognitivos de la tarea. En cambio, no encontramos codificación de la duración de los intervalos, de los prototipos, ni de la comparación de los estímulos con los prototipos, sugiriendo que los primates resuelven la categorización de intervalos empleando una representación neural del límite entre categorías y no estrategias basadas en la representación de prototipos categóricos.

Nuestro hallazgo más novedoso fue que las neuronas de límite alcanzaron su actividad máxima en el límite subjetivo entre los intervalos cortos y largos para cada bloque de ensayos. Por lo tanto, dentro de un bloque de ensayos hubo una variación sistemática entre el momento en que se alcanzó el pico de actividad máxima y la presentación del segundo estímulo: para los intervalos de prueba cortos, este pico de actividad tendió a ocurrir después del segundo estímulo; mientras que, para los intervalos largos, el pico usualmente ocurría antes. De manera notable, el momento al cual ocurrió el pico de actividad (límite subjetivo) cambió con el límite implícito (límite real) entre categorías de cada bloque de intervalos. La representación del límite cambió cuando los monos categorizaron los intervalos de diferentes bloques de estímulos tanto a nivel poblacional como a nivel de neurona única. Si bien la mayoría de las células codificaron el límite para un sólo bloque, un subgrupo de neuronas representó el límite en distintos bloques. En estas neuronas, la representación neuronal del límite se 'desplazó' a lo largo de la 'línea temporal', adaptándose a el contexto del bloque de estímulos a categorizar.

Propusimos que un observador ideal puede usar la actividad poblacional de las neuronas de límite y compararla con el momento de ocurrencia del segundo estímulo, este mecanismo serviría para categorizar los intervalos de cada bloque de estímulos.

Esta hipótesis fue confirmada por la observación de que la relación entre el momento de ocurrencia del pico de actividad de las neuronas de límite y el final del intervalo de prueba permitió decodificar con alta precisión la decisión categórica de los monos en cada ensayo de la tarea. Esta observación es notable si se toma en cuenta que, para algunos ensayos, el pico de actividad ocurrió mucho antes (1500 a 2000 ms) de la respuesta motora de los monos. También queremos destacar que la decodificación de la respuesta categórica de los monos fue precisa a pesar de que la actividad de las neuronas de límite no se correlaciona ni con la magnitud de los estímulos (duración de los intervalos) ni con la respuesta conductual de los animales. Esto es muy notable ya que en los trabajos previos en los cuales se ha observado una alta relación entre la actividad neuronal y el desempeño conductual de los monos en tareas de elección forzada —por ejemplo mediante la comparación de curvas neurométricas y psicométricas—, la actividad neuronal comúnmente está correlaciona con la magnitud de los estímulos o con la respuesta conductual de los animales (es importante recordar que el *choice probability index*, al aprovechar los ensayos correctos e incorrectos para un mismo estímulo, permite determinar si la actividad neuronal está realmente asociada a las respuestas conductuales de los animales y no a la magnitud de los estímulos, Britten et al., 1996; Romo et al., 2002; Merchant et al., 2011a).

Nuestras observaciones muestran que el cerebro resuelve ambos problemas, el de la cuantificación del paso del tiempo y de la asignación de los intervalos a las diferentes categorías, con un sólo mecanismo. Este mecanismo es a la vez práctico y eficiente ya que, como nuestros datos claramente sugieren, no requiere de la cuantificación exhaustiva de cada intervalo de tiempo individual, sino del ajuste fino de un límite temporal. Esto predice que monos expertos en categorizar intervalos de tiempo, no necesariamente transferirán esa eficiencia a otras tareas que requieran de cuantificación temporal, como por ejemplo tareas de discriminación de intervalos. Esto sería especialmente cierto para intervalos pertenecientes a una misma categoría. En contra de lo que se podría pensar, es muy importante recalcar que el momento de ocurrencia del pico de actividad de las neuronas de límite implica un procesamiento temporal fino y por tanto *timing* perceptual. Es muy llamativo el hecho de que pre-AMS codifique información temporal subjetiva de la cual nunca hubo un correlato sensorial externo, como lo es el límite implícito entre categorías. Recuerde que el implícito nunca fue mostrado como intervalo de prueba a los monos y que, por tanto, su representación neuronal debió haber sido calculada indirectamente, a partir de los intervalos que si fueron mostrados. En general, los resultados de nuestro estudio apoyan una de las teorías más discutidas para explicar la categorización perceptual, la teoría del límite de decisión (Decision Bound Theory; Ashby y Maddox 2005), una versión de la cual propone que los estímulos se comparan con un criterio de decisión que representa el límite subjetivo entre categorías (Maddox y Ashby 1993). Estudios previos de categorización de intervalos (bisección temporal) han sugerido que el límite de decisión corresponde a un valor cerca del promedio de los intervalos de prueba (Wearden y Ferrara 1995, Ng et al., 2011; Lindbergh y Kieffaber 2013), lo cual confirmamos en nuestro trabajo.

Dado que no observamos actividad robusta en pre-AMS asociada a la presentación del segundo estímulo, queda por responder en donde se codifica esta información, que es

indispensable para el mecanismo de categorización que nosotros proponemos. Una posibilidad es que el neostriado, específicamente el putamen, implemente esta comparación. En favor de esta hipótesis se sabe que el putamen interactúa con pre-AMS a través del circuito corteza-ganglios basales-tálamo, un circuito involucrado en el control de movimientos voluntarios y en los aspectos motores y perceptuales del *timing* (Bartolo et al., 2013; Merchant et al., 2013a; Bartolo y Merchant 2015; Merchant y Bartolo 2018). En segundo lugar, el putamen tiene acceso privilegiado a información visual ya que recibe entradas de casi todas las áreas visuales corticales (Saint-Cyr et al., 1990) y de regiones del tálamo con una alta proporción de neuronas que responden a la ocurrencia de estímulos visuales conductualmente relevantes (Matsumoto et al., 2001). En tercer lugar, algunos estudios han mostrado respuestas neuronales transitorias del estriado a estímulos visuales relevantes para la conducta y con latencias tan cortas como 40 ms (Apicella et al., 1991; Kimura 1992). Por lo tanto, el putamen podría realizar la comparación entre la respuesta neuronal al segundo estímulo y la actividad de las neuronas de límite. Registros simultáneos en el estriado y pre-AMS son necesario para probar esta hipótesis. Por otra parte, considerando los estudios previos de *timing* motor (Merchant et al., 2011b), se esperaba que la duración del intervalo fuera codificada en pre-AMS por actividad en rampa. Sin embargo, en nuestro estudio no observamos actividad en rampa que correlacionara de manera robusta con los intervalos de prueba de la tarea de categorización. Queda la posibilidad de que la actividad en rampa tenga mayor importancia en etapas iniciales del aprendizaje. Registros crónicos de actividad neuronal unitaria durante el aprendizaje de tareas de categorización de intervalos pueden aportar información para resolver este polémico asunto. Lo que podemos concluir con los resultados de nuestro estudio y de estudios previos es que, si bien la misma región, pre-AMS, participa tanto en el *timing* motor como en el *timing* perceptual, los detalles del mecanismo de *timing* en tareas de categorización de intervalos de tiempo son distintos a los del *timing* en tareas de producción de múltiples intervalos. Esto muestra la gran flexibilidad que tienen los circuitos de pre-AMS para la solución de distintos problemas cognitivos aparentemente relacionados.

En nuestro trabajo encontramos que la categoría elegida por los monos también fue codificada por neuronas únicas de pre-SMA. Poblaciones distintas fueron selectivas tanto para las decisiones *corto* como *largo*. Esta actividad fue principalmente observada durante el retardo. A nivel poblacional, la selectividad a la categoría *largo* emergió antes del fin del intervalo. Por el contrario, la actividad selectiva a la categoría *corto* fue más robusta después del fin del intervalo. Esta observación sugiere que los monos fueron capaces de realizar su elección categórica antes del fin de los intervalos de prueba más largos, una hipótesis que también se ha propuesto para sujetos humanos (Lindbergh y Kieffaber 2013). Es notable que las latencias promedio de la selectividad a la categoría durante los intervalos largos fueron similares a los tiempos promedio del pico de actividad de las neuronas de límite, lo que respalda la propuesta de que las neuronas de límite permiten asignar los intervalos a la correspondiente categoría. Enfatizamos que la actividad relacionada con la categoría no puede ser atribuida a la planificación o ejecución motriz dado que, en nuestra tarea, la comunicación de la decisión categórica no estaba vinculada a una dirección de respuesta particular. Además, los monos no podían planificar el movimiento de respuesta sino hasta después

del retardo, una vez presentados los círculos de respuesta, en tanto que la actividad relacionada con la categoría surgió mucho antes del final del retardo.

Por otra parte, encontramos que, durante el período entre ensayos, algunas neuronas mostraron actividad selectiva para ensayos correctos o incorrectos. Las neuronas selectivas para respuestas correctas fueron reclutadas antes que las neuronas selectivas a ensayos incorrectos, probablemente porque su actividad estaba asociada a la recompensa al final de los ensayos correctos. Sin embargo, la población de neuronas selectivas a ensayos incorrectos fue mayor, lo que sugiere que esta señal es de mayor importancia para la rectificación de la conducta. Es probable que la actividad de las neuronas con actividad selectiva para ensayos correctos/incorrectos tenga un efecto en la representación neuronal del límite entre categorías y que tal efecto se observe a lo largo de la ejecución de la tarea. De hecho, análisis preliminares de nuestros datos (no publicados) sugieren que la magnitud del desplazamiento en el tiempo del pico de actividad de las neuronas de límite depende de la historia de la tarea, incluyendo la categoría previamente presentada, las consecuencias de las decisiones previas (recompensa/no recompensa), y los intervalos previamente presentados. En general, la señal de error que observamos en pre-AMS concuerda con estudios previos de registro de actividad neuronal extracelular, de fMRI, y EEG que muestran que AMS y pre-AMS son parte de un sistema fronto-medial para la evaluación del resultado de las acciones (Schall et al., 2002; Ito et al., 2003; Ridderinkhof et al 2004; Bonini et al., 2014; Phillips y Everling 2014; Zarr y Brown 2016).

Finalmente, algunos investigadores han sugerido, con base en evidencia conductual, que los circuitos cerebrales de procesamiento de la información temporal y espacial podrían estar traslapados y constituir un sistema general de procesamiento de magnitudes en el cerebro que incluiría también a la numerosidad (Walsh 2003; Merrit et al., 2010). En mi proyecto de tesis también abordamos esta hipótesis entrenando a los monos en una tarea de categorización de distancias, además de las tareas de categorización de intervalos. Ese es el motivo por el cual los intervalos de tiempo fueron visualmente presentados con dos barras verticales paralelas (Figura 8). En la tarea de categorización de intervalos, la distancia entre las barras se mantenía constante, y el intervalo entre estímulos cambiaba de ensayo a ensayo; en cambio, en la tarea de categorización de distancias, el intervalo entre estímulos permanecía constante, y la distancia entre las barras cambiaba en cada ensayo. En este caso, los monos debían categorizar la distancia entre las barras como corta o larga. Por lo tanto, la base de datos completa, obtenida durante este proyecto de doctorado, incluye registros de actividad unitaria en tres tareas de categorización relativa de distancias, tres tareas de categorización relativa de intervalos de tiempo y una tarea de discriminación de color (un control sensorial-motor adicional). De manera importante, la mayoría de estas tareas fueron ejecutadas por los monos en la misma sesión de registro. Además, durante la ejecución de estas tareas obtuvimos registros simultáneos en pre-AMS y DLPFC (dos monos), por un lado y en corteza parietal y DPFC (un mono), por otro, todas regiones probablemente implicadas en la percepción de tiempo

y espacio.⁶ Esperamos que el análisis futuro de estos datos pueda ayudar a entender el procesamiento perceptual de información temporal y espacial en primates.

5.2. Conclusión

En resumen, demostramos que neuronas individuales de pre-AMS —y, por tanto, también la actividad poblacional— codifican secuencialmente información relevante para resolver la tarea de categorización de intervalos. El hallazgo más novedoso fue el descubrimiento de que las neuronas de pre-AMS codifican de manera flexible el límite subjetivo entre categorías de los intervalos. Además, observamos que neuronas individuales codifican durante el retardo y el periodo inter-ensayo respectivamente la categoría seleccionada por los monos y las consecuencias de la decisión perceptual. Estos resultados avanzan significativamente nuestro entendimiento de cómo se categoriza intervalos de tiempo.

⁶ El autor de esta tesis agradece al Dr. Juan C. Méndez por el entrenamiento y el registro de actividad extracelular en DLPFC y corteza parietal en el mono 1 y al Ingeniero Luis A. Prado y al Dr. Hugo Merchant por su apoyo en los registros neurofisiológicos en ambos monos.

Literatura citada

Alario, F.X., Chainay, H., Lehericy, S., Cohen, L. The role of the supplementary motor area (SMA) in word production. *Brain Res.* 1076, 129-43 (2006).

Allan, L.G., Gibbon, J. Human bisection at the geometric mean. *Learning and Motivation* 22, 39-58 (1991).

Antzoulatos, E.G., Miller, E.K. Differences between neural activity in prefrontal cortex and striatum during learning of novel abstract categories. *Neuron* 71, 243–249 (2011).

Apicella, P., Scarnati, E., Schultz, W. Tonicly discharging neurons of monkey striatum respond to preparatory and rewarding stimuli. *Exp. Brain Res.* 84, 672–675 (1991).

Ashby, F.G., Boynton, G., Lee, W.W. Categorization response time with multidimensional stimuli. *Percept Psychophys.* 55, 11-27 (1994).

Ashby, F.G., Gott, R.E. Decision rules in the perception and categorization of multidimensional stimuli. *J Exp Psychol Learn Mem Cogn.* 14, 33-53 (1988).

Ashby, F.G., Maddox, W.T. Human category learning. *Annu. Rev Psychol.* 56: 149-178 (2005).

Ashby, F.G., Townsend, J.T. Varieties of perceptual independence. *Psychol. Rev.* 93, 154-179 (1986).

Barsalou, L.W. Situated simulation in the human conceptual system. *Language and Cognitive Processes.* 18: 513-562 (2003).

Bartolo, R., Merchant, H. β oscillations are linked to the initiation of sensory-cued movement sequences and the internal guidance of regular tapping in the monkey. *J. Neurosci.* 35, 4635–4640 (2015).

Bartolo, R., Prado, L., Merchant, H. Information processing in the primate basal ganglia during sensory-guided and internally driven rhythmic tapping. *J. Neurosci.* 34, 3910–3923 (2014).

Bonini, F. et al. Action monitoring and medial frontal cortex: leading role of supplementary motor area. *Science* 343, 888–891 (2014).

Britten, K. H., Newsome, W. T., Shadlen, M. N., Celebrini, S., Movshon, J. A. A relationship between behavioral choice and the visual responses of neurons in macaque MT. *Vis. Neurosci.* 13, 87–100 (1996).

Church, R.M., Deluty, M.Z. Bisection of temporal intervals. *J Exp Psychol Anim Behav Process.* 3, 216-228 (1977).

Coull, J.T. fMRI studies of temporal attention: allocating attention within, or towards, time. *Brain Res Cogn Brain Res.* 21, 216-26 (2004).

- Coull, J.T., Vidal, F., Nazarian, B., Macar, F. Functional anatomy of the attentional modulation of time estimation. *Science* 303, 1506-8 (2004).
- Cromer, J.A., Roy, J.E., Miller, E.K. Representation of multiple, independent categories in the primate prefrontal cortex. *Neuron* 66, 796-807 (2010).
- Cromer, J.A., Roy, J.E., Buschman, T.J., Miller, E.K. Comparison of primate prefrontal and premotor cortex neuronal activity during visual categorization. *J Cogn. Neurosci.* 23, 3355-3365 (2011).
- Crowe, D. A., Zarco, W., Bartolo, R. & Merchant, H. Dynamic representation of the temporal and sequential structure of rhythmic movements in the primate medial premotor cortex. *J. Neurosci.* 34, 11972–11983 (2014).
- de Lafuente, V., Romo, R. Neural correlate of subjective sensory experience gradually builds up across cortical areas. *PNAS* 103, 14266–14271 (2006).
- Dickey, A. S., Suminski, A., Amit, Y., Hatsopoulos, N. G. Single-unit stability using chronically implanted multielectrode arrays. *J. Neurophysiol.* 102, 1331–1339 (2009).
- Dum, R.P., Strick, P.L. Premotor areas: nodal points for parallel efferent systems involved in the central control of movement. In: D.R. Humphrey and H.-J. Freund (Eds.), *Motor Control: Concepts and Issues*, Wiley, New York, pp. 383-397 (1991).
- Engel, T.A., Chaisangmongkon, W., Freedman, D.J., Wang, X. Choice correlated activity fluctuations underlie learning of neuronal category representation. *Nat Commun.* 6, 6454 (2015).
- Estes WK. Array models for category learning. *Cogn Psychol.* 18, 500-549 (1986).
- Freedman, D.J., Assad, J.A. Experience-dependent representation of visual categories in parietal cortex. *Nature* 443, 85-88 (2006).
- Freedman, D.J., Assad, J.A. Distinct encoding of spatial and nonspatial visual information in parietal cortex. *J Neurosci.* 29, 5671-5680 (2009).
- Freedman, D.J., Riesenhuber, M., Poggio, T., Miller, E.K. Visual categorization and the primate prefrontal cortex: neurophysiology and behavior. *J Neurophysiol.* 88, 929-941 (2002).
- Freedman, D. J., Riesenhuber, M., Poggio, T., Miller, E. K. Categorical representation of visual stimuli in the primate prefrontal cortex. *Science* 291, 312–316 (2001).
- Freedman, D.J., Riesenhuber, M., Poggio, T., Miller, E.K. A comparison of primate prefrontal and inferior temporal cortices during visual categorization. *J Neurosci.* 23, 5235-5246 (2003).
- Gescheider, G.A. *Psychophysics: the fundamentals*. Lawrence Erlbaum Associates, Publishers. Mahwah, New Jersey, London 1997.

- Geyer, S., Matelli, M., Luppino, G., Schleicher, A., Jansen, Y., Palomero-Gallagher, N., Zilles, K. Receptor autoradiographic mapping of the mesial motor and premotor cortex of the macaque monkey. *J Comp Neurol.* 397, 231-50 (1998).
- Geyer, S., Matelli, M., Luppino, G., Zilles, K. Functional neuroanatomy of the primate isocortical motor system. *Anat Embryol (Berl).* 202, 443-447 (2000).
- Goodwin, S.J., Blackman, R.K., Sakellaridi, S., Chafee, M.V. Executive control over cognition: stronger and earlier rule-based modulation of spatial category signals in prefrontal cortex relative to parietal cortex. *J Neurosci.* 32, 3499-3515 (2012).
- Hernández, A., Zainos, A., Romo, R. Temporal evolution of a decision-making process in medial premotor cortex. *Neuron* 33: 959-972 (2002).
- Hikosaka, O., Nakahara, H., Rand, M.K., Sakai, K., Lu, X., Nakamura, K., Miyachi, S., Doya, K. Parallel neural networks for learning sequential procedures. *Trends Neurosci.* 22, 464-471 (1999).
- Hintzman, D. L. "Schema abstraction" in a multiple-trace memory model. *Psychological Review* 93, 411-428 (1986).
- Homa, D., Sterling, S., Trepel, L. Limitations of exemplar-based generalization and the abstraction of categorical information. *J Exp Psychol Hum Learn.* 7, 418-439 (1981).
- Hoshi, E., Tanji, J. Differential roles of neuronal activity in the supplementary and presupplementary motor areas: from information retrieval to motor planning and execution. *J Neurophysiol.* 92, 3482-3499 (2004).
- Ito, S., Stuphorn, V., Brown, J. W. Schall, J. D. Performance monitoring by the anterior cingulate cortex during saccade countermanding. *Science* 302, 120-122 (2003).
- Kéri, S. The cognitive neuroscience of category learning. *Brain Research Reviews*, 43, 85-109 (2003).
- Kimura, M. Behavioral modulation of sensory responses of primate putamen neurons. *Brain Res.* 578, 204-214 (1992).
- Kopec, C.D., Brody, C.D. Human performance on the temporal bisection task. *Brain Cogn.* 74, 262-272 (2010).
- Lamberts, K. Information-accumulation theory of speeded categorization. *Psychol Rev.* 107, 227-260 (2000).
- Lindbergh, C.A., Kieffaber, P.D. The neural correlates of temporal judgments in the duration bisection task. *Neuropsychologia* 51, 191-196 (2013).
- Luppino, G., Calzavara, R., Rozzi, S., Matelli, M. Projections from the superior temporal sulcus to the agranular frontal cortex in the macaque. *Eur J Neurosci.* 14: 1035-1040 (2001).

- Luppino, G., Matelli, M., Camarda, R., Rizzolatti, G. Corticocortical connections of area F3 (SMA-proper) and area F6 (pre-SMA) in the macaque monkey. *J Comp Neurol.* 338, 114-140 (1993).
- Macar, F., Coull, J., Vidal, F. The supplementary motor area in motor and perceptual time processing: fMRI studies. *Cogn. Process* 7, 89–94 (2006).
- Macar, F., Lejeune, H., Bonnet, M., Ferrara, A., Pouthas, V., Vidal, F., Maquet, P. Activation of the supplementary motor area and of attentional networks during temporal processing. *Exp. Brain Res.* 142, 475–485 (2002).
- Maddox, W.T., Ashby, F.G. Comparing decision bound and exemplar models of categorization. *Percept. Psychophys.* 53, 49–70 (1993).
- Matelli, M., Luppino, G., Rizzolatti, G. Architecture of superior and mesial area 6 and the adjacent cingulate cortex in the macaque monkey. *J Comp Neurol.* 311, 445-462 (1991)
- Matsumoto, N., Minamimoto, T., Graybiel, A. M., Kimura, M. Neurons in the thalamic CM-Pf complex supply striatal neurons with information about behaviorally significant sensory events. *J. Neurophysiol.* 85, 960–976 (2001).
- Matsuzaka, Y., Aizawa, H., Tanji, J. A motor area rostral to the supplementary motor area (presupplementary motor area) in the monkey: neuronal activity during a learned motor task. *J Neurophysiol.* 68, 653-662 (1992).
- Mauk, M.D., Buonomano, D.V. The neural basis of temporal processing. *Annu Rev Neurosci.* 27, 307-340 (2004).
- McKee, J.L., Riesenhuber, M., Miller, E.K., Freedman, D.J. Task dependence of visual and category representations in prefrontal and inferior temporal cortices. *J Neurosci.* 34, 16065-16075 (2014).
- Méndez, J.C., Pérez, O., Prado, L., Merchant, H. Linking perception, cognition, and action: psychophysical observations and neural network modelling. *PLoS One.* 9: e102553 (2014).
- Méndez, J.C., Prado, L., Mendoza, G., Merchant, H. Temporal and spatial categorization in human and non-human primates. *Front Integr Neurosci.* 5, 50 (2011).
- Mendoza, G., Merchant, H. Motor system evolution and the emergence of high cognitive functions. *Prog Neurobiol.* 122, 73-93 (2014).
- Merrit, D.J., Casasanto, D., Brannon, E.M. Do monkeys think in metaphors? Representations of space and time in monkeys and humans. *Cognition* 117, 191-202 (2010).
- Merchant, H., Bartolo, R. Primate beta oscillations and rhythmic behaviors. *J. Neural Transm.* 125, 461-470 (2018).
- Merchant, H., Battaglia-Mayer, A., Georgopoulos, A. Neural responses during interception of real and apparent circularly moving targets in motor cortex and area 7a. *Cortex* 14, 314–331 (2004).

- Merchant, H., Crowe, D. A., Robertson, M. S., Fortes, A. F., Georgopoulos, A. P. Top-down spatial categorization signal from prefrontal to posterior parietal cortex in the primate. *Front. Syst. Neurosci.* 5, 69 (2011a).
- Merchant, H., Crowe, D. A., Fortes, A. F., Georgopoulos, A. P. Cognitive modulation of local and callosal neural interactions in decision-making. *Front. Neurosci.* 8, 245 (2014).
- Merchant, H., de Lafuente V. Introduction to the neurobiology of interval timing. *Adv Exp Med Biol.* 829, 1-13 (2014).
- Merchant, H., Harrington, D., Meck, W.H. Neural basis of the perception and estimation of time. *Ann. Rev. Neurosci.* 36, 313–336 (2013a).
- Merchant, H., Pérez, O., Zarco, W., Gámez, J. Interval tuning in the primate medial premotor cortex as a general timing mechanism. *J Neurosci.* 33, 9082-9096 (2013b).
- Merchant, H., Zainos, A., Hernández, A., Salinas, E. Romo, R. Functional properties of primate putamen neurons during the categorization of tactile stimuli. *J. Neurophysiol.* 77, 1132–1154 (1997).
- Merchant, H., Zarco, W., Pérez, O., Prado, L., Bartolo, R. Measuring time with different neural chronometers during a synchronization-continuation task. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 108, 19784-19789 (2011b).
- Merchant, H., Zarco, W., Bartolo, R., Prado, L. The context of temporal processing is represented in the multidimensional relationships between timing tasks. *PLoS One.* 3, e3169 (2008a).
- Merchant, H., Zarco, W., Prado, L. Do we have a common mechanism for measuring time in the hundreds of millisecond range? Evidence from multiple-interval timing tasks. *J Neurophysiol.* 99, 939–949 (2008b).
- Merrit, D.J., Casasanto, D., Brannon, E.M. Do monkeys think in metaphors? Representations of space and time in monkeys and humans. *Cognition* 117, 191-202 (2010).
- Meyers, E. M., Freedman, D. J., Kreiman, G., Miller, E. K., Poggio, T. Dynamic population coding of category information in inferior temporal and prefrontal cortex. *J. Neurophysiol.* 100, 1407–1419 (2008).
- Minamimoto, T., Saunders, R.C., Richmond, B.J. Monkeys quickly learn and generalize visual categories without lateral prefrontal cortex. *Neuron* 66, 501-507 (2010).
- Mita, A., Mushiake, H., Shima, K., Matsuzaka, Y., Tanji, J. Interval time coding by neurons in the presupplementary and supplementary motor areas. *Nat Neurosci.* 12, 502-507 (2009).
- Nachev, P., Kennard, C., Masud, H. Functional role of the supplementary and pre-supplementary motor areas. *Nat Rev Neurosci.* 9, 856-69 (2008).

- Ng, K.K., Tobin, S., Penney, T. B. Temporal accumulation and decision processes in the duration bisection task revealed by contingent negative variation. *Front. Integ. Neurosci.* 5, 77 (2011).
- Nosofsky, R.M. Attention, similarity, and the identification-categorization relationship, *J. Exp. Psychol. Gen.* 115, 39–61 (1986).
- Paton, J.J., Buonomano, D. The neural basis of timing: distributed mechanisms for diverse functions. *Neuron.* 98, 687-705 (2018).
- Penney, T.B., Gibbon, J., Meck, W.H. Categorical scaling of duration bisection in pigeons (*Columba livia*), mice (*Mus musculus*), and humans (*Homo sapiens*). *Psychol Sci.* 19, 1103-1109 (2008).
- Phillips, J. M. Everling, S. Event-related potentials associated with performance monitoring in non-human primates. *NeuroImage* 97, 308–320 (2014).
- Posner, M.I, Keele, S.W. On the genesis of abstract ideas. *J Exp. Psychol.* 77, 353-363 (1968).
- Ridderinkhof, K. R., Ullsperger, M., Crone, E. A. Nieuwenhuis, S. The role of the medial frontal cortex in cognitive control. *Science* 306, 443–447 (2004).
- Rishel, C.A., Huang, G., Freedman, D.J. Independent category and spatial encoding in parietal cortex. *Neuron* 77, 969-979 (2013).
- Romo, R., Hernández, A., Zainos, A., Lemus, L., Brody, C. D. Neuronal correlates of decision-making in secondary somatosensory cortex. *Nat. Neurosci.* 5, 1217–1225 (2002).
- Romo, R., Merchant, H., Ruiz, S., Crespo, P. Zainos, A. Neural activity of primate putamen during categorical of somaesthetic stimuli. *Neuroreport* 6, 1013–1017 (1995).
- Romo, R., Merchant, H., Zainos, A., Hernández, A. Categorical perception of somesthetic stimuli: psychophysical measurements correlated with neuronal events in primate medial premotor cortex. *Cereb. Cortex* 7, 317–326 (1997).
- Romo, R., Ruiz, S., Crespo, P., Zainos, A., Merchant, H. Representation of tactile signals in primate supplementary motor area. *J. Neurophysiol.* 70, 2690–2694 (1993).
- Roy, J.E., Riesenhuber, M., Poggio, T., Miller, E.K. Prefrontal cortex activity during flexible categorization. *J Neurosci.* 30, 8519-8528 (2010).
- Saint-Cyr, J. A., Ungerleider, L. G., Desimone, R. Organization of visual cortical inputs to the striatum and subsequent outputs to the pallido-nigral complex in the monkey. *J. Comp. Neurol.* 298, 129–156 (1990).
- Schall, J. D., Stuphorn, V. Brown, J. W. Monitoring and control of action by the frontal lobes. *Neuron* 36, 309–322 (2002).
- Seger, C.A., Miller, E.K. Category learning in the brain. *Annu Rev Neurosci.* 33, 203-219 (2010).

- Smith, J.D., Beran, M.J., Crossley, M.J., Boomer, J., Ashby, F.G. Implicit and explicit category learning by macaques (*Macaca mulatta*) and humans (*Homo sapiens*). *J Exp Psychol Anim Behav Process.* 36, 54-65 (2010).
- Smith, J.D., Minda, J.P. Prototypes in the mist: the early epochs of category learning. *J Exp Psychol Learn Mem Cogn.* 24, 1411-1436 (1998).
- Tanji J. (1996.) New concepts of the supplementary motor area. *Curr Opin Neurobiol.* 6, 782-787.
- Takada, M., Nambu, A., Hatanaka, N., Tachibana, Y., Miyachi, S., Taira, M., Inase M. Organization of prefrontal outflow toward frontal motor-related areas in macaque monkeys. *Eur J Neurosci.* 19, 3328-42 (2004).
- Trujano, R.E., Zamora, O. Double bisection of auditory temporal intervals by humans. *Psychol Res.* 77, 463-479 (2013).
- Walsh V. A theory of magnitude: common cortical metrics of time, space and quantity. *Trends Cogn Sci.* 7, 483-488 (2003).
- Wang, Y., Isoda, M., Matsuzaka, Y., Shima, K., Tanji, J. Prefrontal cortical cells projecting to the supplementary eye field and presupplementary motor area in the monkey. *Neurosci Res.* 53, 1-7 (2005).
- Wearden, J.H. Human performance on an analogue of an interval bisection task. *Q J Exp Psychol B.* 43, 59-81 (1991).
- Wearden, J. H., Ferrara, A. Stimulus spacing effects in temporal bisection by humans. *Q. J. Exp. Psychol.* B 48, 289–310 (1996).
- Wytenbach, R.A., May, M.L., Hoy, R.R. Categorical perception of sound frequency by crickets. *Science* 273, 1542–1544 (1996).
- Zarco, W. Actividad neuronal en dos áreas de la corteza premotora medial del primate durante la producción de intervalos de tiempo. Disertación Doctoral, Instituto de Neurobiología-UNAM. (2011).
- Zarco, W., Merchant, H., Prado, L., Mendez, J.C. Subsecond timing in primates: comparison of interval production between human subjects and rhesus monkeys. *J Neurophysiol.* 102, 3191-3202 (2009).
- Zarr, N. Brown, J. W. Hierarchical error representation in medial prefrontal cortex. *Neuroimage* 124, 238–247 (2016).
- Zilles, K., Schlaug, G., Matelli, M., Luppino, G., Schleicher, A., Qü, M., Dabringhaus, A., Seitz, R.J., Roland, P.E. Mapping of human and macaque sensorimotor areas by integrating architectonic, transmitter receptor, MRI and PET data. *J Anat.* 187, 515–537 (1995).

Apéndice A. Currículum Vitae

DATOS GENERALES

Nombre: Germán Mendoza Martínez

Profesión: Biólogo

Lugar y fecha de nacimiento: Toluca, Estado de México, México. 30 de Octubre de 1979

Correo electrónico: gm1079@yahoo.com.mx

EDUCACIÓN

Licenciatura en Biología

Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma del Estado de México. Toluca, Edo. Mex., México. (1999-2003)

Fecha de examen profesional: 12 de Mayo de 2005

Título de tesis: “Papel de los músculos iliococcígeo y pubococcígeo en el parto de la coneja (*Oryctolagus cuniculus*)”

Promedio general: 8.6

Maestría en Ciencias Biológicas

Universidad Autónoma de Tlaxcala. Tlaxcala, Tlax., México. (2004-2006)

Fecha de examen de grado: 9 de Junio de 2007

Título de tesis: “Parámetros urodinámicos y actividad electromiográfica de los músculos pubococcígeo, isquiocavernoso y bulboesponjoso: relación con la multiparidad y la edad”

Promedio general: 9.8

Doctorado en Ciencias Biomédicas

Candidato a Doctor en Ciencias Biomédicas

Instituto de Neurobiología, Universidad Nacional Autónoma de México. Querétaro, Qro. México. (2010-2014)

Fecha de examen de candidatura: 13 de octubre de 2011

Título de tesis: “Neurofisiología de la categorización de intervalos de tiempo en el área motora presuplementaria del primate”

HABILIDADES

Psicofísica, electrofisiología, neurobiología conductual y cognitiva, programación (Visual Basic, MATLAB), análisis estadístico y procesamiento de datos, redacción científica.

IDIOMAS

Español, Inglés.

PUBLICACIONES

Artículos publicados en revistas científicas internacionales indizadas

Mendez, J.C., Prado, L., **Mendoza, G.**, Merchant, H. Temporal and spatial categorization in human and non-human primates. *Frontiers in Integrative Neuroscience* 5, 50 (2011).

Martínez-Gómez, M., **Mendoza-Martínez, G.**, Corona-Quintanilla, D.L., Fajardo, V., Rodríguez-Antolín, J., Castelán, F. Multiparity causes uncoordinated activity of pelvic- and perineal-striated muscles and urodynamic changes in rabbits. *Reproductive Sciences* 18, 1246-1252 (2011).

Mendoza, G., Merchant, H., Motor system evolution and the emergence of high cognitive functions. *Progress in Neurobiology* 122, 73-93 (2014).

Merchant, H., Pérez, O., Bartolo, R., Méndez, J.C., **Mendoza, G.**, Gámez, J., Yc, K., Prado, L. Sensorimotor neural dynamics during isochronous tapping in the medial premotor cortex of the macaque. *European Journal of Neuroscience* 41, 586-602 (2015).

Mendoza, G., Peyrache, A., Gámez, J., Prado, L., Buzsáki, G., Merchant, H. Recording extracellular neural activity in the behaving monkey using a semi-chronic and high-density electrode system. *Journal of Neurophysiology* 116, 563-574 (2016).

Mendoza, G., Méndez, J.C., Pérez, O., Prado, L., Merchant, H. Neural basis for categorical boundaries in the primate pre-SMA during relative categorization of time intervals. *Nature Communications* 9, 1098 (2018).

Capítulos de Libro

Fajardo, V., Corona, D., **Mendoza, G.**, Pacheco, P., Martínez-Gómez M. Fisiología reproductiva femenina: papel de la musculatura pélvica. En: Quintanar JL (compilador) Neurobiología Experimental de la Conducta: Fundamentos y Tópicos Afines. Universidad Autónoma de Aguascalientes. México. pp. 147-165 (2006).

Merchant, H., Bartolo, R., Méndez, J.C., Pérez, O., Zarco, W., **Mendoza, G.** What can be inferred from multiple-task psychophysical studies about the mechanisms for temporal processing? Vatakis, A., Esposito, M., Giagkou, F., Cummins, G., Papadelis (Eds.): Time and Time Perception (2010), Berlin: Springer-Verlag, pp. 207–229 (2011).

Merchant, H., Bartolo, R., Pérez, O., Méndez, J.C., **Mendoza, G.**, Gámez, J., Yc, K., Prado, L. Neurophysiology of timing in the hundreds of milliseconds: multiple layers of neuronal clocks in the medial premotor areas. Merchant, H., de Lafuente, V. (Eds.):

Neurobiology of Interval Timing. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. New York: Springer Science Business Media, pp. 143-154 (2014).

PRESENTACIONES EN CONGRESOS

Nacionales

Mendoza-Martínez, G., Cruz, Y., Martínez-Gómez, M., Romero, M., García, L.I. Participación de los músculos pélvicos iliococcígeo y pubococcígeo en el parto de la coneja *Oryctolagus cuniculus*. XLVII Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas. 1 -5 Agosto 2004. Boca del Río, Ver.

Mendoza-Martínez, G., Corona, D.L., Fajardo, V., García, L.I., Martínez-Gómez, M. Micción y actividad de los músculos bulboesponjoso y pubococcígeo en conejas jóvenes y viejas. Curso: Bases Biológicas de la Conducta. Universidad Autónoma de Tlaxcala. Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, Universidad Nacional Autónoma de México. 9-11 de Junio 2005. Tlaxcala, Tlax.

Mendoza-Martínez, G., Corona, D.L., Fajardo, V., Martínez-Gómez, M. Micción y actividad de los músculos bulboesponjoso y pubococcígeo en conejas multíparas. XI congreso de carteles “Dr. Lino Díaz de León”. Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM. 7 de Octubre 2005. México, DF.

Mendoza, G., Corona, D., Fajardo, V., Pacheco, P., Cruz, Y., Martínez-Gómez, M. Parámetros urodinámicos y actividad eléctrica de los músculos bulboesponjoso, isquiocavernoso y pubococcígeo en conejas: relación con el parto y la edad. XLIX Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas. 4-8 Septiembre 2006. Querétaro, Qro.

Mendoza-Martínez, G., Corona, D.L., Fajardo, V., Pacheco, P., Martínez-Gómez, M. Parámetros urodinámicos y actividad electromiográfica de músculos pélvicos y perineales de la coneja: relación con la multiparidad y la edad. L Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas. 9-13 Septiembre 2007. Puebla, Pue.

Mendoza, G., Méndez, J.C., Prado, L., Merchant, M. Estudio neurofisiológico de la categorización relativa de magnitudes espaciales y temporales en el lóbulo frontal del mono Rhesus. LIV Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas. 10-14 Septiembre 2011. León, Gto.

Mendoza, G., Méndez, J.C., Prado, L., Merchant, M. El área motora presuplementaria del mono Rhesus representa información temporal en una tarea de categorización relativa de intervalos. XX Jornadas Académicas del Instituto de Neurobiología de la UNAM. Instituto de Neurobiología. 23-27 Septiembre 2013. Querétaro, Qro.

Internacionales

Mendoza, G., Cruz, Y., Martínez-Gómez, M., García, LI. Role of pubococcygeus and iliococcygeus muscles in the parturition of the rabbit. Curso internacional: Bases Biológicas de la Conducta. Universidad Autónoma de Tlaxcala. 25-28 de Mayo 2003. Tlaxcala, Tlax.

Mendoza, G., García, L., Romero, M., Martínez-Gómez, M., Cruz, Y. Anatomical and physiological characteristics of the levator ani muscles in the female rabbit. 34TH Annual Meeting, Society for Neuroscience. October 23-28 2004. San Diego, CA.

Mendoza, G., Mendez, J.C., Prado, L., Merchant, H. Neurophysiology of time perception in the presupplementary motor area of the rhesus monkey. 42nd Annual Meeting, Society for Neuroscience. October 13-17 2012. New Orleans, LA.

Mendoza, G., Méndez, J.C., Prado, L., Merchant, M. Neurophysiology of time interval categorization in the presupplementary motor area of the Rhesus monkey. LV Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas, I congreso FALAN. 4-9 Noviembre 2012. Cancún, Q. Roo.

Mendoza, G., Mendez, J.C., Pérez, O., Prado, L., Merchant, H. Time categorization in the primate pre-SMA: single neuron correlates for boundaries, categorical decisions and reward outcomes. Annual Meeting, Society for Neuroscience. November 11-15 2017. Washington, DC.

BECAS

Becario CONACYT. Beca nacional para realizar estudios de Maestría. No. de beca: 206367, No. de registro: 188537.

Becario CONACYT. Beca nacional para realizar estudios de Doctorado. No. de CVU/Becario: 164310.

Apéndice B. Artículos publicados durante el doctorado como primer autor en revistas internacionales indizadas

1. Mendoza, G., Merchant, M. Motor system evolution and the emergence of high cognitive functions. *Progress in Neurobiology* 122, 73–93 (2014). **Artículo de revisión.**
2. Mendoza, G., Peyrache, A., Gámez, J., Prado, L., Buzsáki, G., Merchant H. Germán Mendoza Recording extracellular neural activity in the behaving monkey using a semichronic and high-density electrode system. *Journal of Neurophysiology* 116, 563–574 (2016). **Artículo de metodología innovadora.**
3. Mendoza, G., Méndez, J.C., Pérez, O., Prado, L., Merchant, H. Neural basis for categorical boundaries in the primate pre-SMA during relative categorization of time intervals. *Nature Communications* 9, 1098 (2018). **Artículo de investigación.**