



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
MAESTRÍA EN CIENCIAS (NEUROBIOLOGÍA)
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

DINÁMICA DEL POTENCIAL LOCAL DE CAMPO EN LA CORTEZA MOTORA
SUPLEMENTARIA DEL MONO *RHESUS*, ASOCIADA A LA PERCEPCIÓN DE
EVENTOS PERIÓDICOS.

TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA:

JAIME DANIEL CADENA VALENCIA

TUTOR PRINCIPAL

VÍCTOR HUGO DE LAFUENTE FLORES
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA, UNAM

COMITÉ TUTOR

HUGO MERCHANT NANCY
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA, UNAM

FERNANDO PEÑA ORTEGA
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA, UNAM

MÉXICO (JUNIO) 2014



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Universidad Nacional Autónoma de México

Instituto de Neurobiología

Los miembros del Comité Tutorial certificamos que la tesis elaborada por: Jaime Daniel Cadena Valencia, cuyo título es: "Dinámica del potencial local de campo en la corteza motora suplementaria del mono *Rhesus*, asociada a la percepción de eventos periódicos" se presenta como uno de los requisitos para obtener el grado de Maestría en Ciencias (Neurobiología) y cumple con los criterios de originalidad y calidad requeridos por la División de Estudios de Posgrado de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Firma

Presidente

Dr. _____

Secretario (Tutor)

Dr. _____

Vocal

Dr. _____

Suplente

Dr. _____

Suplente

Dr. _____

Aprobado por el Comité Académico

Coordinador del Programa

Resumen

La percepción de eventos periódicos es una habilidad esencial para responder eficientemente ante el medio ambiente. Esta habilidad permite prever cambios inminentes en el medio y responder ante estos, de forma tal que el sistema motor debe codificar esta información y emplearla para efectuar una respuesta coordinada en el tiempo.

Para estudiar este proceso se entrenó a un mono *Rhesus* en una tarea de percepción de eventos periódicos y, a la par mediante registro extracelular, se registró la actividad del potencial local de campo en la corteza motora suplementaria, la cual es una corteza asociada a la planeación motora.

Los resultados de este experimento muestran que el potencial local de campo en esta corteza, particularmente la amplitud de la banda Gamma (30-45 Hz.) se modula en función de la ritmicidad de estímulos periódicos así como del uso de esta información, lo cual sugiere que esta actividad pudiera reflejar el proceso de codificación y acople de información periódica con el sistema motor.

Summary

The perception of periodic events is an essential skill that allows an efficient response in an environment. This ability allows foreseeing imminent changes in the environment and responding to them, therefore the motor system must encode this information and use it in order to effectuate a coordinated timed response.

To study this process a Rhesus monkey was trained in a periodic events task and at the same time extracellular recordings were performed, and therefore local field potential in the supplementary motor area, a cerebral cortex related with motor planning, where recorded.

The results from this experiment shows that the activity of the local field potential, particularly the amplitude of the Gamma band (30-45 Hz) is modulated according with the rhythmicity of a periodic stimuli as well as the use of this information, which suggest that this activity may reflect the process of coding and coupling of periodic information with the motor system.

Dedicatoria

A mis padres y profesores

Agradecimientos

Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyt) por la beca otorgada para la realización de mis estudios de maestría, (número de becario: 486768) asimismo por el apoyo del proyecto con número 1677429.

Asimismo se agradece a la M. en C. Leonor Casanova Rico por todos los servicios brindados, al M. en C. Juan José Ortiz Retana por el apoyo para la obtención de imágenes por resonancia magnética y a todo el equipo de la unidad de cómputo por el soporte técnico.

Se agradece especialmente al Dr. Víctor de Lafuente Flores por la orientación, formación e inestimable guía; desde la técnica hasta las consideraciones teóricas sobre los fenómenos estudiados en el laboratorio.

Asimismo se agradece a mi comité tutor, el Dr. Hugo Merchant Nancy y el Dr. Fernando Peña Ortega por los comentarios, correcciones y orientación a lo largo de estos años de maestría, dentro y fuera de las aulas.

Agradezco a mi colega y amigo Otto Braulio García Garibay por la ayuda técnica y las continuas discusiones sobre el análisis e interpretación de datos.

En conjunto agradezco a todo el equipo del laboratorio de sistemas y planeación motora: el trabajo en equipo en este laboratorio no deja de sorprenderme por su eficiencia y calidad.

Finalmente hago un agradecimiento a la gente involucrada en mi formación, colegas y amigos cuyas enseñanzas perduran en la crítica y el análisis.

Índice

Firmas.....	ii
Resumen.....	iii
Resumen ingles	iv
Dedicatoria.....	v
Agradecimientos.....	vi
Índice	vii
Introducción	1
Antecedentes	3
De la estimación de intervalos temporales a la percepción de eventos periódicos: definiciones y métodos.....	3
Correlatos fisiológicos del procesamiento de información temporal.....	6
Planteamiento del problema y justificación.....	11
Hipótesis	11
Objetivos.....	12
Sujetos, material y métodos	13
Sujetos:	13
Paradigma Experimental:.....	13
Fase 1: Fijación.....	13
Fase 2: Codificación.....	14
Fase 3: Memoria.....	14
Factores y medidas del paradigma conductual.....	16
Registros electrofisiológicos y sesiones experimentales.....	17
Localización del sitio de registro:	17
Sesiones experimentales:	17
Registro del potencial local de campo:.....	18
Análisis de Datos.....	18
Pre procesamiento de datos:.....	18
Análisis en dominio de frecuencia.....	18
Resultados	20
Análisis conductuales	20
Análisis de frecuencia del PLC.....	23
Codificación temporal en la amplitud de la banda Gamma en la percepción de un estímulo periódico.....	26
Actividad en la banda Gamma y estimación temporal: uso de información periódica.....	30
Discusión	34
Conclusiones.....	38
Bibliografía	39
Anexo.....	41

Introducción.

El ambiente en el que están inmersos los distintos organismos está en constante cambio. Una adaptación eficiente al medio depende de la capacidad del organismo para responder ante distintas contingencias ambientales así como anticiparse a eventos característicos del medio.

¿De qué forma puede anticiparse un organismo a un evento en el ambiente? Esta pregunta se puede resolver observando que en el medio ambiente hay estímulos o eventos que ocurren a una frecuencia constante, desde ciclos de luz/oscuridad hasta el movimiento rectilíneo constante de un objeto. Para lidiar con escalas de tiempo del orden de horas, es sabido que los ritmos biológicos en varios organismos están acoplados en ritmos circadianos, (Buhusi & Meck, 2005) sin embargo: ¿qué ocurre en la escala de segundos, milisegundos? Si los organismos son capaces de responder esta clase de fenómenos: ¿Qué ocurre con el sistema motor al planear un movimiento? De forma tal que pueda responderse esta pregunta es esencial entender que es lo que ocurre cuando un organismo tiene que coordinar una respuesta motora en función de un evento sensorial periódico, es decir un evento cuya frecuencia de ocurrencia sea constante; en otras palabras cómo un organismo puede codificar información temporal, almacenar esta información y posteriormente responder acorde con la información procesada. Sin embargo es poco lo que se sabe acerca de cómo la información temporal asociada a un evento sensorial periódico se procesa y representa en el cerebro. Estudios con la actividad de neuronas individuales y de resonancia magnética han ayudado a elucidar la participación de distintas áreas en la percepción temporal (Merchant, Harrington, & Meck, 2013). A expensas de lo anterior, se tiene poca información acerca de cómo alguna estructura en el cerebro pudiera codificar o representar información periódica.

Por estas razones el objetivo de este trabajo fue realizar estudios electrofisiológicos en primates no humanos durante un paradigma en el cual la dimensión esencial es la percepción de eventos periódicos y la respuesta ante estos. Tales estudios fueron realizados en la corteza motora suplementaria, la cual es un área cerebral asociada a la planificación de una respuesta motora con el fin de encontrar regularidades en su actividad asociadas a la codificación y/o uso de información periódica. Para entender el funcionamiento global de la corteza mencionada se

estudiaron los potenciales locales de campo, señal eléctrica resultante de la superposición de distintos eventos celulares activos en un tejido.

En este trabajo se desarrolló un paradigma de percepción de eventos periódicos en el cual a un mono Rhesus se entrenó a observar los cambios de posición de un círculo (de izquierda a derecha) en una pantalla de computadora. Posterior a un periodo de observación, por un tiempo se le impide al sujeto continuar observando los cambios de posición del círculo. De esta forma, el sujeto puede seguir estimando cual sería la posición del círculo en todo momento. Tras un tiempo variable el sujeto debe responder cual es la posición en que estaría el círculo. A la par que el mono respondió la tarea se realizaron registros de potencial local de campo, encontrando que los cambios en la amplitud de la banda Gamma contienen información asociada al uso de información periódica.

Antecedentes.

De la estimación de intervalos temporales a la percepción de eventos periódicos: definiciones y métodos.

El tiempo es una dimensión esencial en la cual se desenvuelven los organismos en la naturaleza. En un ambiente en constante cambio los organismos han desarrollado distintos sistemas para lidiar con el tiempo a diferentes escalas, desde el orden de días hasta segundos/milisegundos. Por ejemplo en el orden de horas el núcleo supraquiasmático, una estructura subcortical, regula la actividad de ciclos luz oscuridad (Buhusi & Meck, 2005). Sin embargo es poco lo que se sabe acerca de cómo es que se procesa la información temporal en el orden de segundos/milisegundos.

Para entender el proceso de percepción temporal en la escala de cientos de milisegundos una primera aproximación ha sido el estudio de la conducta con el fin de inferir propiedades en la misma, asociadas al uso de información temporal. Numerosos son los protocolos conductuales diseñados con este fin, entre ellos se encuentran las tareas de reproducción de intervalos temporales (Merchant, Zarco, & Luis, 2008; Church, 2001; Ortega, López, & Church, 2009).

En estas tareas se le presenta a un sujeto un intervalo temporal, por ejemplo 2 tonos (e.g. duración del tono: 50ms) separados por una duración de tiempo (e.g. 1000 ms.). La tarea del sujeto consiste en reproducir, mediante una respuesta motora (e.g. presionar una tecla), el intervalo de tiempo que le es presentado. En este ejemplo particular sería tocando una tecla 2 veces, donde el tiempo entre un movimiento y otro es de 1000 ms.

Con esta manipulación se ha observado que los participantes reproducen intervalos similares a los solicitados; sin embargo se observa que aunque el promedio de los intervalos reproducidos coincide con los solicitados, la desviación estándar de intervalos reproducidos aumenta conforme mayor es el tiempo a reproducir. Esto quiere decir que a mayor tiempo se tenga que reproducir mayor es la desviación estándar de los datos reproducidos.

Este resultado resulta novedoso ya que esta propiedad se ha encontrado en sistemas sensoriales distintos, propiedad que ha sido denominada como propiedad escalar (Gibbon, 1977). Formalmente esto se ha propuesto con la siguiente función:

$$\sigma = CV * t$$
$$CV = \frac{\sigma}{t}$$

Donde CV es el coeficiente de variación (teniendo que el coeficiente de variación es igual a la desviación estándar dividida por la media, siendo este el caso, el intervalo temporal producido), sigma la desviación estándar y t el intervalo temporal producido. Esta función resulta importante debido a que expresa que la variabilidad en el uso de información temporal cambia de forma sistemática y se expresa mediante una constante la cual se denomina fracción de Weber (Gibbon, 1977).

El que la fracción de Weber se mantenga aproximadamente constante conllevó a la propuesta de que debe haber un único sistema que se encarga de codificar y usar información temporal y este debe de encontrarse en alguna parte del cerebro. Sin embargo esto no es necesariamente así; En experimentos de Merchant y colaboradores (Merchant, Zarco, & Luis, 2008) muestran que esta fracción de Weber no necesariamente es constante al probar diversos protocolos conductuales en un grupo de participantes. Otros experimentos que apoyan este resultado son los estudios de (Lewis & Miall, 2009) en el cual un grupo de participantes tienen que producir intervalos que van desde el rango de milisegundos hasta varios minutos. Los cambios en los coeficientes de variabilidad en este y otros experimentos similares pueden ser explicados por otra función denominada ley de Weber generalizada (Getty, 1975) que se expresa de la siguiente manera:

$$\sigma_{tot}^2 = k^2 t^2 + c$$

Donde sigma representa la variabilidad total, k un parámetro que tenderá a la fracción de Weber y c una constante que representa un componente de la variabilidad independiente de estimación temporal. En conjunto estos resultados apuntan a que el uso de información temporal no reside en

un sistema único, sin embargo estas propiedades se mantienen en distintas tareas y contextos temporales (Merchant, Zarco, & Luis, 2008). Si bien estos resultados han sido estudiados en el contexto de reproducción de intervalos temporales esto puede generalizarse a la percepción de eventos periódicos.

Un evento sensorial periódico es aquel que ocurre de forma constante en el tiempo, como por ejemplo la percepción de un cuerpo en movimiento constante o el ritmo de una pieza musical.

Es notable que cuando percibimos un evento de este tipo es posible anticiparse a los próximos cambios que ocurrirán y responder de forma efectiva ante ellos. Usando las definiciones expuestas en los protocolos conductuales previos, un evento periódico sería equivalente no a la reproducción de un intervalo temporal sino a varias reproducciones *del mismo intervalo*. Por ejemplo al tocar una pieza en un piano, se deben de conducir una serie de movimientos, llámese presiones de teclas, donde el tiempo entre una presión y otra es constante.

Para comprobar esta hipótesis, Laje y colaboradores (Laje, Cheng, & Buonomano, 2011) realizaron experimentos en los cuales los participantes tenían que realizar múltiples presiones de teclas con el mismo intervalo de tiempo entre ellas. El objetivo de este experimento fue saber si la desviación estándar se mantiene constante a lo largo de las presiones de teclas (ya que siempre se estaba reproduciendo el mismo intervalo) o si se incrementaba la desviación estándar en función del tiempo total, es decir como si en lugar de reproducir múltiples intervalos estuviesen reproduciendo un único intervalo muy largo. Como resultado, se encontró que la desviación estándar se incrementaba conforme al tiempo que los sujetos llevaban presionando las teclas. Este resultado sugiere que la información periódica no se percibe como una concatenación de eventos sino como una coordinación rítmica en el tiempo.

En resumen el estudio conductual ha dado como resultado la inferencia de propiedades en la respuesta asociadas con el uso de información temporal, sin embargo aun no es claro que hace el cerebro para procesar y emplear esta información. En el siguiente apartado se abordan resultados derivados de estudios fisiológicos y la percepción temporal.

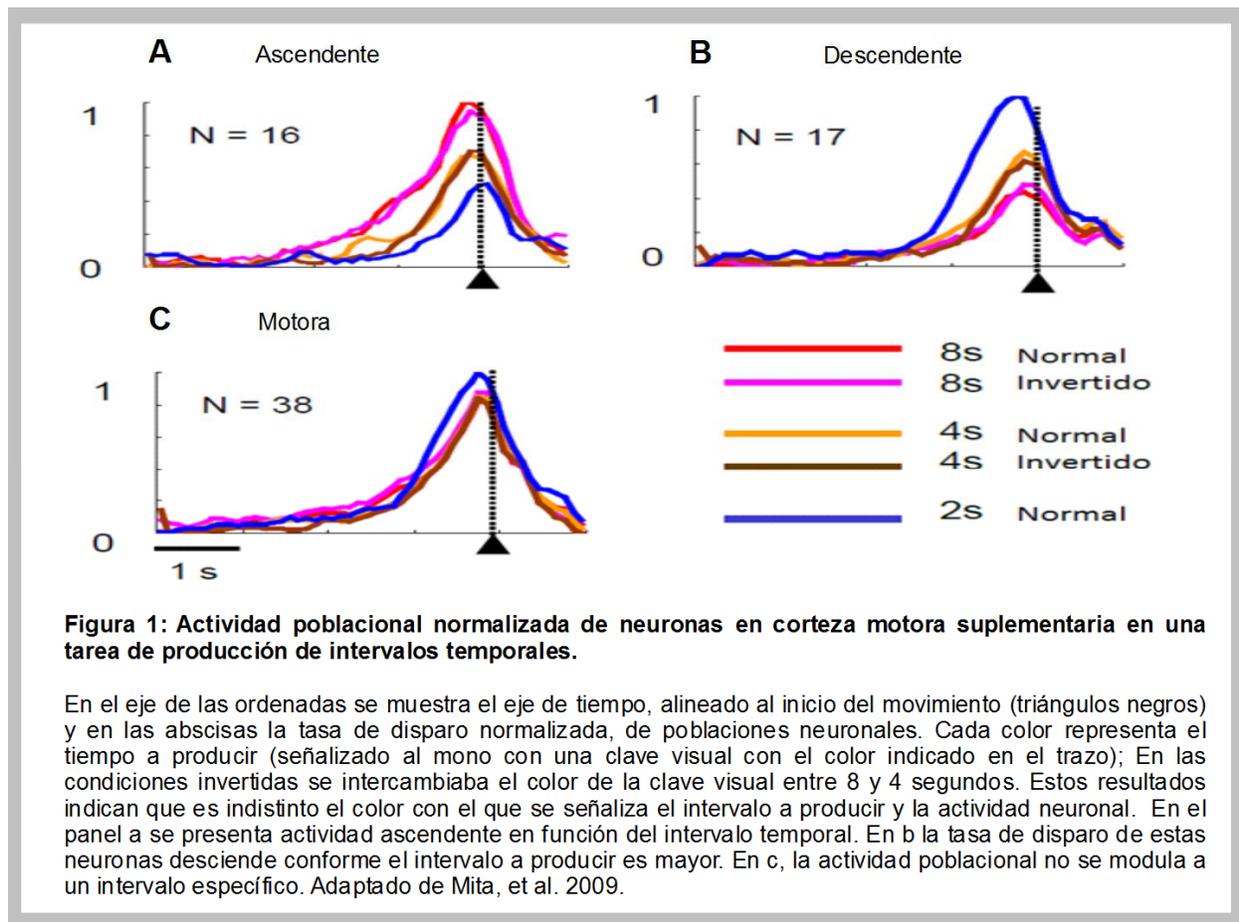
Correlatos fisiológicos del procesamiento de información temporal.

Estudios en los últimos años han elucidado la contribución de varias estructuras corticales y subcorticales en el procesamiento de información temporal. Entre las distintas estructuras cerebrales asociadas al procesamiento temporal, se encuentran estructuras subcorticales como es el caudado y putamen, cerebelo, las cortezas parietales posteriores, prefrontales, motoras y motoras suplementarias (Mauk & Buonomano, 2004; Buhusi & Meck, 2005; Merchant, Harrington, & Meck, 2013). Experimentos en los cuales se lesiona alguna de las estructuras mencionadas conllevan a la conclusión de que el daño en alguna de estas estructuras así como modificaciones farmacológicas puntuales, compromete la habilidad de estimar intervalos temporales (Ivry & Spencer, 2004).

De las estructuras mencionadas previamente la corteza motora suplementaria (CMS) se ha asociado con procesos como son la iniciación de un movimiento, ejecución y aprendizaje de secuencias motoras (Nachev, Kennard, & Husain, 2008). Esta corteza se encuentra en el giro superior frontal, en la porción medial, anterior a la corteza motora, correspondiendo con el área 6 de Brodmann (Nachev, Kennard, & Husain, 2008) o con el área F3 de acuerdo con otra clasificación de cortezas premotoras (Rizzolatti & Luppino, 2001).

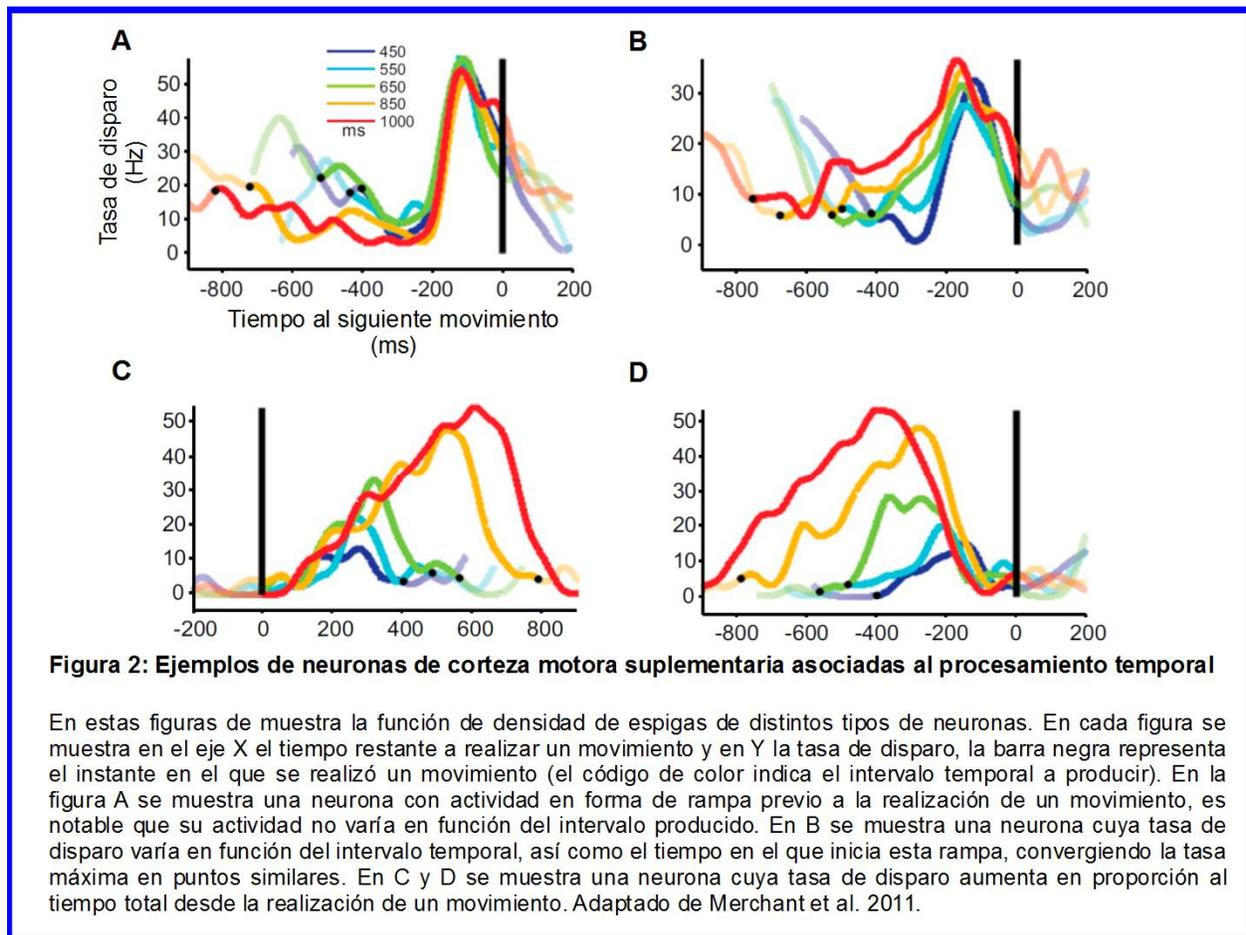
Una estrategia para el estudio de la actividad cerebral asociada al procesamiento de información ha sido el registro extracelular. Mediante esta técnica se puede registrar la actividad eléctrica ya sea de neuronas individuales (registro extracelular unitario) o poblaciones de células (potencial local de campo, *ver más adelante*) por medio de un electrodo.

Para entender qué hacen las neuronas de la CMS al estimar intervalos de tiempo Mita y colaboradores (Mita, Mushiake, Shima, Matsuzaka, & Tanji, 2009) entrenaron monos para realizar una tarea de reproducción de intervalos temporales (ver sección anterior) con el fin de realizar registros unitarios a la par que el mono resolvía la tarea. Como resultado se encontraron neuronas cuya tasa de disparo estaba modulada en función del intervalo temporal a producir. Esta actividad podía ser ascendente en función del intervalo temporal, es decir el incremento en la tasa de disparo es proporcional a la magnitud del intervalo temporal a reproducir o menor conforme el intervalo a producir es mayor. En la siguiente figura se muestran la actividad normalizada de estas neuronas, así como de las neuronas sin sintonía al intervalo temporal.



Sin embargo la actividad de la CMS no solo asocia con la reproducción de intervalos temporales únicos sino que también se encuentra una relación entre la actividad neuronal en esta corteza y la ejecución de secuencias rítmicas. En una serie de experimentos realizados por Merchant y colaboradores (Merchant, Zarco, Pérez, Prado, & Bartolo, 2011) entrenaron monos a ejecutar presiones en un botón acorde con un estímulo que se repite de forma constante en el tiempo, sin embargo tras sincronizarse con este estímulo, el sujeto debe permanecer ejecutando presiones del botón acorde con el ritmo presentado. De forma análoga al estudio mencionado previamente se realizó registro unitario mientras el sujeto realizaba esta tarea, teniendo como resultado que esta conducta rítmica esta codificada por distintas poblaciones de neuronas las cuales difieren entre ellas por el patrón de disparo entre ellas.

Entre los distintos grupos de células encontrados, se hallan neuronas que antes de ejecutar un movimiento, su tasa de disparo esta cambia en proporción al intervalo temporal a producir así como el tiempo en el que comienza esta actividad en forma de rampa (células de tiempo relativo). Asimismo hay reporte de células que comienzan a disparar al terminar de realizar un movimiento y aumenta su tasa de disparo conforme transcurre el tiempo, cayendo esta actividad previa a la realización del siguiente movimiento (Figura 2).



Como se ha mencionado estos estudios muestran cómo se pueden estar codificando intervalos temporales simples y periódicos a la escala de neuronas individuales. Sin embargo ¿cómo podría conocerse la actividad sincronizada de poblaciones de células? Una forma de abordar esta interrogante es estudiar la actividad eléctrica media en un tejido.

Como fue mencionado previamente entre las mediciones que pueden realizarse con un registro extracelular se encuentra el registro del potencial local de campo (PLC).

El PLC es la actividad eléctrica local resultado de la contribución ponderada de toda membrana excitable, teniendo como principal contribución eventos sinápticos y actividad de poblaciones celulares sincrónicas (Buzsáki, Anastassiou, & Koch, 2012; Pesarán, Pezaris, Sahani, Mitra, & Andersen, 2002). Entre las propiedades que hacen relevante el estudio de esta señal en el contexto del procesamiento de información está el que la forma en la cual oscilará esta señal está en función de eventos sensoriales, motores o cognitivos (Scherberger, Jarvis, & Andersen, 2005).

Experimentos en CMS han encontrado relaciones entre la estructura temporal del PLC en CMS asociada al procesamiento de información; Haegens y colaboradores han estudiado esta señal en CMS en primates mientras estos realizaban una tarea de discriminación vibrotáctil de 2 estímulos, encontrando que la actividad en la banda beta (15-30Hz) en la CMS predice el proceso de toma de decisión entre si un primer estímulo presentado es mayor o menor que el estímulo presentado posteriormente (Haegens, y otros, 2011). En materia de planeación motora, Chen y colaboradores (Chen, Scangos, & Stuphorn, 2013) desarrollaron en monos un paradigma denominado ògo-no goö donde a los sujetos se le indicó que deben de realizar un movimiento orientado a una posición en una pantalla a menos que se le dé una señal que indica que no debe moverse. Los resultados de este paradigma y el PLC muestran que las bandas denominadas Beta (20-30 Hz) y Gamma (30-90 Hz) predicen si el mono está planeando realizar un movimiento o no.

En conjunto, los estudios citados muestran que las oscilaciones del PLC contienen información con respecto a la planeación de movimientos y en vista de los antecedentes descritos con respecto a la percepción temporal y registros unitarios, es factible que esta señal contenga información asociada la codificación y uso de información periódica. El estudio de esta señal con respecto a la percepción de eventos periódicos puede dar una idea de cómo se están coordinando poblaciones de células para emplear información periódica.

Para estudiar el proceso de planeación motora y su integración con información temporal se realizaron registros de los patrones de actividad del PLC en un mono Rhesus, entrenado para mantener el ritmo de un estímulo visual que cambia de posición en una pantalla de computadora.

El estímulo visual se presentó de manera alternada a la izquierda y derecha de la pantalla. Después de un periodo de observación, el estímulo desaparece de la pantalla y el primate debe continuar imaginando (prediciendo) la posición del estímulo, aun cuando este ya no es visible. Después de un periodo de memoria de duración azarosa, la computadora preguntó al mono sobre la posición final del estímulo. Esta sencilla tarea de mantenimiento del ritmo solo puede ser resuelta de manera correcta si el primate estima adecuadamente el intervalo de tiempo en que el estímulo se encuentra de cada lado de la pantalla. En las siguientes secciones se muestra a detalle los procedimientos conductuales y analíticos orientados a identificar relaciones entre la percepción de eventos periódicos y la actividad del PLC.

Planteamiento del problema y justificación.

Como fue mencionado en los antecedentes, se tiene ya evidencia acerca del procesamiento de intervalos temporales y la actividad neuronal unitaria. Sin embargo aún se desconoce que ocurre con la percepción del uso de información periódica ya que como se ha mostrado previamente, esta va más allá de la percepción de intervalos temporales concatenados, además de no conocerse como poblaciones celulares se coordinan para computar información temporal. Mediante el paradigma experimental ilustrado en los antecedentes y el registro del PLC es posible encontrar relaciones que puedan dar una idea del tipo de información que está procesando la CMS y cómo la dinámica del PLC se asocia con el cómputo de información periódica.

Entendiendo estas relaciones será posible comprender cómo es la integración entre la coordinación motora y la dimensión temporal en la ejecución de un plan motor.

Hipótesis.

General

El potencial local de campo de la corteza motora suplementaria codifica la información temporal, relevante en la planificación de un plan motor.

Particular

Los cambios en la amplitud de las distintas bandas de frecuencia del potencial local de campo se modulan (aumentan o disminuyen) en función de la temporalidad de los estímulos presentados.

Objetivos.

Estudiar la modulación de la actividad del potencial local de campo en la corteza motora suplementaria durante el proceso de codificación, mantenimiento y ejecución de una respuesta en un paradigma de percepción de eventos periódicos.

Analizar la actividad oscilatoria del PLC en la CMS y definir cuáles son las relaciones funcionales entre los cambios en la amplitud de distintas bandas del PLC y la resolución de la tarea experimental.

Sujetos, material y métodos

Sujetos:

Se entrenó a un mono Rhesus macho (*Macaca Mulatta*, 8 Kg, 5 años) en una tarea conductual que involucra la percepción de intervalos de tiempo.

El mono dispuso de alimento *ad libitum*, sin embargo el acceso al agua fue restringido. Todo el líquido que el sujeto pudo obtener, lo hizo durante las sesiones experimentales, por cada ensayo de la tarea conductual realizado correctamente, le fue proporcionada una pequeña cantidad de agua. El mono bebió diariamente al menos 150 ml. De no alcanzar esta cantidad de agua, se le proporcionó hidratación adicional, posterior a la sesión experimental.

Paradigma Experimental:

Los entrenamientos se realizaron diariamente en sesiones de 4 hrs, empleando el método de aproximaciones sucesivas (Domjan, 2010). En todos los experimentos se inmovilizó la cabeza mediante postes implantados quirúrgicamente en el cráneo, teniendo libre la mano derecha y frente a él está una pantalla táctil la cual pudo alcanzar sin obstáculos. Detrás de la pantalla se colocó un *eyetracker* (eyetracker 6, applied science laboratories) el cual es un dispositivo que permite cuantificar donde el mono dirige la mirada en la pantalla.

El paradigma en el que se entrenó al animal, fue dividido en tres fases que se describen a continuación:

Fase 1: Fijación.

Al comenzar un ensayo del paradigma, se le presenta un punto rojo (punto de fijación) en la parte superior media de una pantalla cuyo radio fue de un grado (medida de longitud relativa a la distancia con el monitor), al cual debe mantener la vista fija, solicitando al mono mantenga todo el tiempo la vista este punto de fijación.

Al estar la vista fija en el punto de fijación a no más de 8 grados de radio por al menos 500 ms. Posteriormente se presenta un círculo blanco en el centro de la pantalla (10 grados de radio) en el cual el mono debe colocar la mano y no moverla de ese sitio. Una vez que el sujeto fija la vista y mantiene la mano por al menos 500 ms se permitirá el paso a la siguiente fase de la tarea, sin embargo, si en esta fase o en las fases subsecuentes el mono retira la mirada del punto de fijación o la mano del círculo central, la pantalla se pone en blanco y vuelve a comenzar el ensayo.

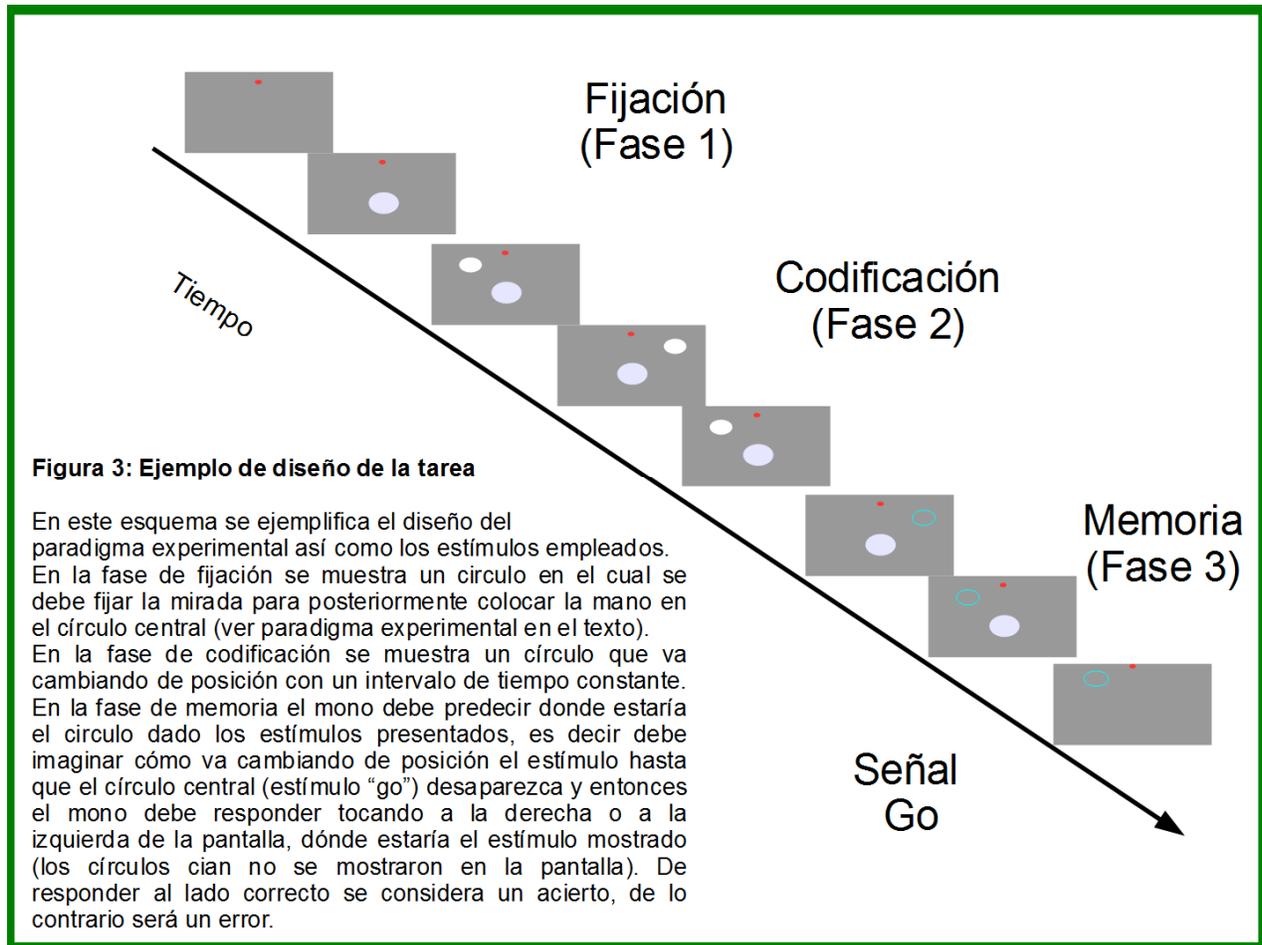
Fase 2: Codificación.

En esta fase se presenta un círculo cuya posición varía, 30 grados con respecto al punto de fijación, sea a la derecha o a la izquierda con una frecuencia de cambio constante. Por ejemplo al comenzar esta fase podía presentarse un círculo a la izquierda, quedarse ahí 500 ms, entonces cambiar de posición a la derecha, estar 500 ms más, volver a cambiar a la izquierda y así sucesivamente. Se presentaron solo 3 estímulos; la variable manipulada fue el intervalo de tiempo en el que el estímulo fue presentado (frecuencia del estímulo). Se emplearon 3 duraciones: 500ms, 750ms y 1000ms.

Fase 3: Memoria.

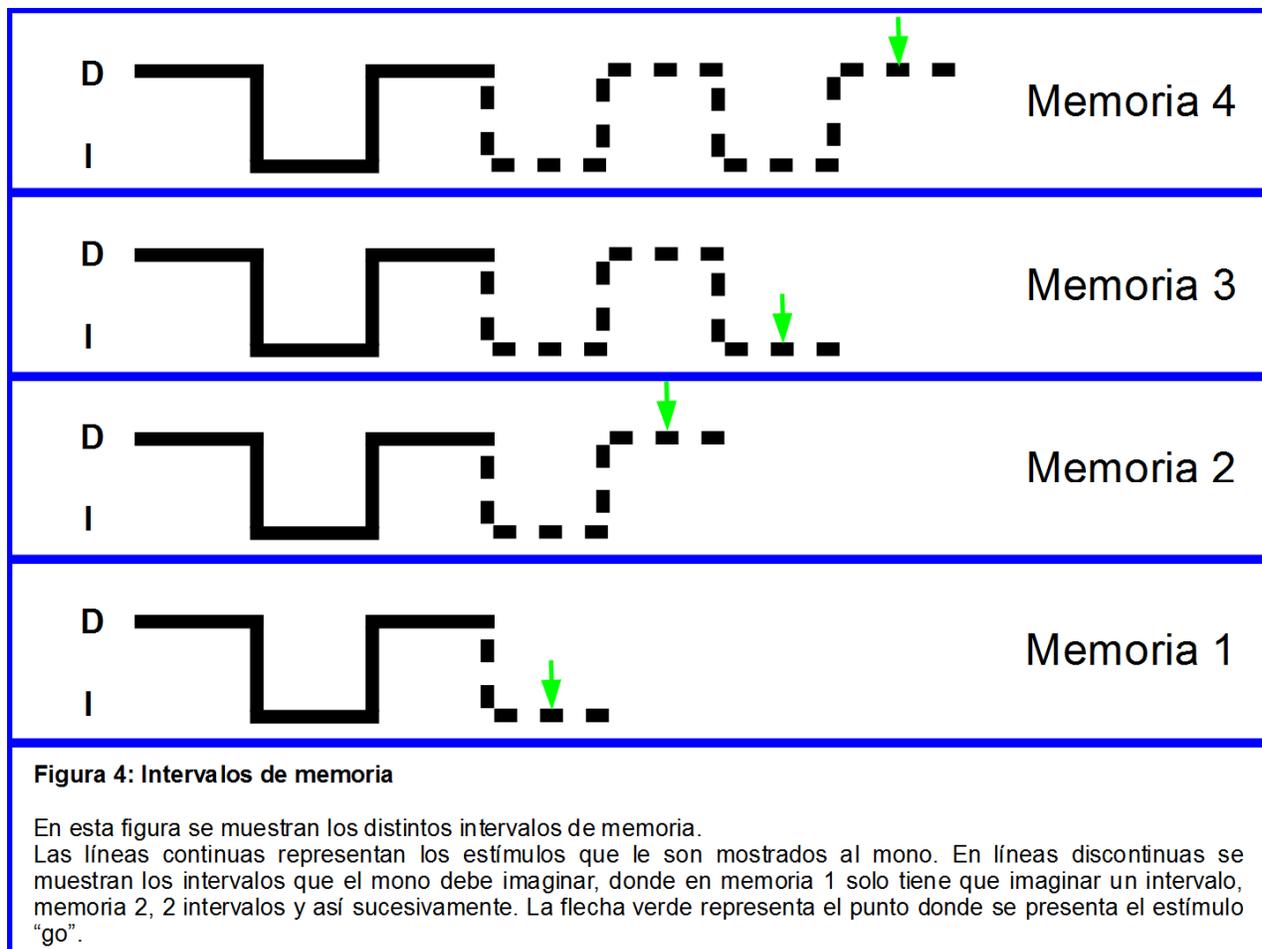
Terminado la presentación del tercer estímulo no se muestra nada adicional en la pantalla, sin embargo, dado que la tarea consiste en mantener en la memoria la frecuencia con la que apareció el círculo, el mono debe predecir en qué posición estaría el círculo si aún se estuviese presentando es decir el mono infiere cómo estaría cambiando de posición el estímulo. Pasado un intervalo de tiempo, el círculo donde el mono tiene colocada la mano desaparece (señal ògoö) y entonces el mono debe responder ¿dónde estaría el círculo? (tocando la parte izquierda o derecha de la pantalla, donde estaría el círculo). El mono tenía que òimaginarseö ya sea 1, 2, 3 o 4 intervalos (en adelante intervalos de memoria), es decir suponiendo que se presentaron los estímulos con una frecuencia de 500 ms, terminando la fase de presentación el mono tenía que suponer que los primeros 500 ms el círculo estaba al lado contrario del último círculo presentado,

pasando 500 ms más el círculo tendría que estar al lado contrario y así sucesivamente. Lo anterior se ejemplifica en la siguiente (figura 3).



De responder correctamente se otorga una recompensa con agua, de lo contrario se coloca la pantalla en blanco y se comienza un nuevo ensayo.

Se emplearon de 1 a 4 intervalos o cambios de posición que el mono no podía ver. Esto se ejemplifica en el siguiente esquema.



Factores y medidas del paradigma conductual.

En esta tarea las variables independientes son la cantidad de intervalos que el mono no podía ver (1 a 4 intervalos) así como el tiempo que tardaba en cambiar un estímulo de posición (500ms, 750ms, 1000ms, en adelante intervalo de tiempo). Se contrabalanceó el sitio donde se presentó el primer estímulo (izquierda o derecha).

La evaluación del desempeño conductual del sujeto consistió en estimar la proporción de respuestas correctas en función del tipo de ensayo, o sea que intervalo de tiempo se empleó y el número de intervalos de memoria en una sesión experimental. En otras palabras el desempeño o proporción de respuestas correctas se evaluó para cada combinación de las variables estudiadas dentro de cada sesión experimental.

Registros electrofisiológicos y sesiones experimentales.

Localización del sitio de registro:

Una vez que el mono alcanzara al menos un desempeño del 80% de respuestas correctas, se procedió a implantar una cámara de registro (9 mm. diámetro). La cámara de registro es un cilindro introducido a través del cráneo que descansa sobre la duramadre y es fijado mediante acrílico. Este cilindro permite la introducción de cánulas con electrodos que pueden atravesar las meninges, asimismo contiene una tapa que permite cerrar el cilindro una vez terminada la sesión experimental y abrirlo de nuevo para realizar un nuevo registro, minimizando el riesgo de infección por contacto con el ambiente. La cámara de registro fue colocada mediante cirugía estereotáxica y el empleo de imágenes por resonancia magnética estructural, para asegurar el registro de la corteza motora suplementaria (ver anexo 1).

Sesiones experimentales:

En cada sesión experimental se colocó al mono frente al monitor, con la cabeza ya inmovilizada. Posteriormente se bajó una matriz de electrodos, la cual consiste en una estructura con 7 cánulas orientadas en fila con 300 micrómetros de separación, estas contienen electrodos que pueden moverse independientemente. Una vez que las cánulas hicieron contacto con la duramadre se procedió a avanzar los electrodos (electrodos de aleación de tungsteno con platino, recubierto de vidrio, resistencia de los electrodos: de 4-7Má) los cuales se detuvo su avance hasta encontrar actividad unitaria. Una vez obtenida actividad fisiológica se comenzó la presentación de ensayos y la realización de registros extracelulares unitarios.

Las señales electrofisiológicas de neuronas individuales fueron digitalizadas y almacenadas para su posterior análisis. Cada sesión experimental contuvo cuando menos 5 ensayos por condición.

Registro del potencial local de campo:

De manera paralela se realizaron registros unitarios y potenciales locales de campo. Para obtenerlo se tomó la señal registrada por cada electrodo y se trató la señal obtenida mediante un filtro analógico pasa alta de .3 Hz. (orden 1) y un filtro pasa bajas de 7500 Hz. (orden 3), con una frecuencia de muestreo de 2KHz.

Análisis de Datos

Pre procesamiento de datos:

Por cada sesión experimental se revisó la actividad de cada electrodo para descartar los registros ruidosos o cuya señal fuera plana. Este procedimiento se realizó mediante inspección visual. Posteriormente se realizó un sub muestreo de las señales obtenidas a 1 KHz. Este proceso y los subsecuentes fueron realizados en MATLAB 2011b.

Análisis en dominio de frecuencia.

Para realizar las transformaciones a dominio de frecuencia, se empleó la técnica de multitapers, (Mittra & Bokil, 2008) la cual consiste en multiplicar los datos de la señal (potencial local de campo) en el dominio del tiempo por una serie de ventanas o tapers previo a estimar la transformada de Fourier. Esto permite mejorar la estimación del espectro de potencia y evitar fenómenos de leaking (disminución o contaminación del espectro estimado por la actividad en bandas de frecuencia aledañas). Para la elección del número de tapers se utilizó la siguiente función

$$n_t = 2 * T * W$$

Donde n_t es el número de tapers a utilizar, T la longitud de la ventana analizada y W el ancho de banda. Para todos los análisis se empleó un ancho de banda de 5 Hz. De esta manera, las construcciones de representaciones tiempo frecuencia fueron realizadas empleando la transformada corta de Fourier, tomando ventanas de 375 ms, con avance de 5ms.

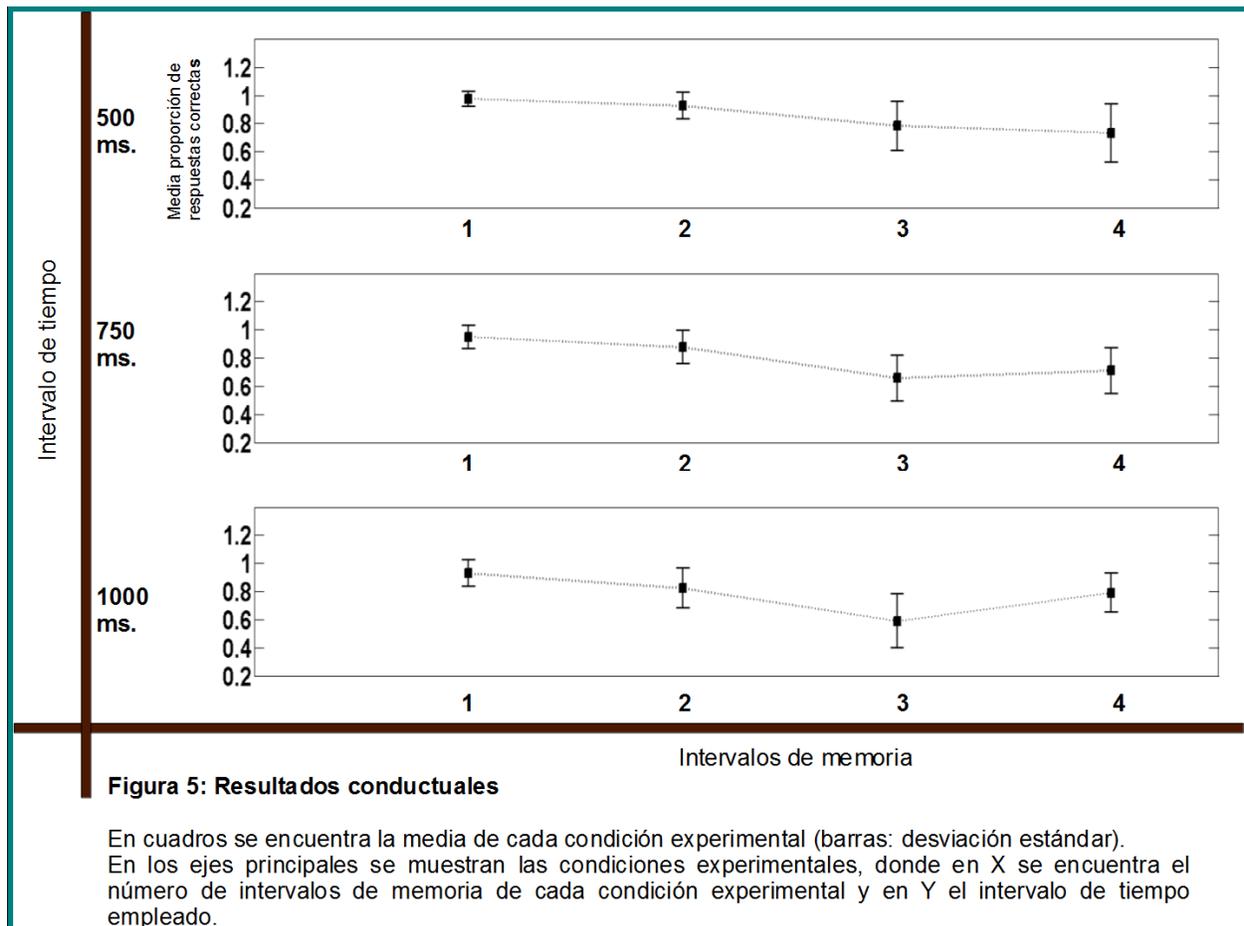
Por cada registro se segmentó la señal en ensayos, en función del intervalo de tiempo y el número de intervalos de memoria así como si el ensayo enésimo fue un acierto o un error. Se realizó la transformada corta de Fourier por cada ensayo y se promediaron las matrices resultantes entre los ensayos de las mismas condiciones y entre electrodos, teniendo así la representación tiempo frecuencia media de cada registro analizado. Únicamente se incluyeron en este análisis los ensayos que el mono respondió correctamente. Para normalizar la potencia y hacerla comparable entre registros se transformaron las matrices obtenidas de cada registro a puntuaciones z, donde los parámetros fueron estimados de la actividad de todos los ensayos considerados dentro del análisis.

Resultados

Análisis conductuales

Se realizaron 54 sesiones experimentales y para cada sesión experimental se estimó la proporción de respuestas correctas por cada condición.

En la figura 5 se muestra la media de la proporción de respuestas correctas de cada sesión experimental a lo largo de todas las condiciones del paradigma bajo estudio.



Como puede verse en cada intervalo de tiempo (filas), el desempeño promedio disminuye en función del número de intervalos de memoria, es decir a mayor número de intervalos, menor será el desempeño. Cuando el intervalo de tiempo empleado es de 500 ms a medida que se emplean más intervalos de memoria no solo el desempeño disminuye sino que la variabilidad en la respuesta (desviación estándar) se incrementa en función de los intervalos de memoria.

Este resultado muestra que entre mayor es el intervalo de memoria que el mono no puede ver, ocurran, la variabilidad en las respuestas se irá incrementando. Adicionalmente, para los intervalos de tiempo de 750 y 1000 ms, si bien se observa la relación antes mencionada cuando se emplean 4 intervalos de memoria, el desempeño se incrementa

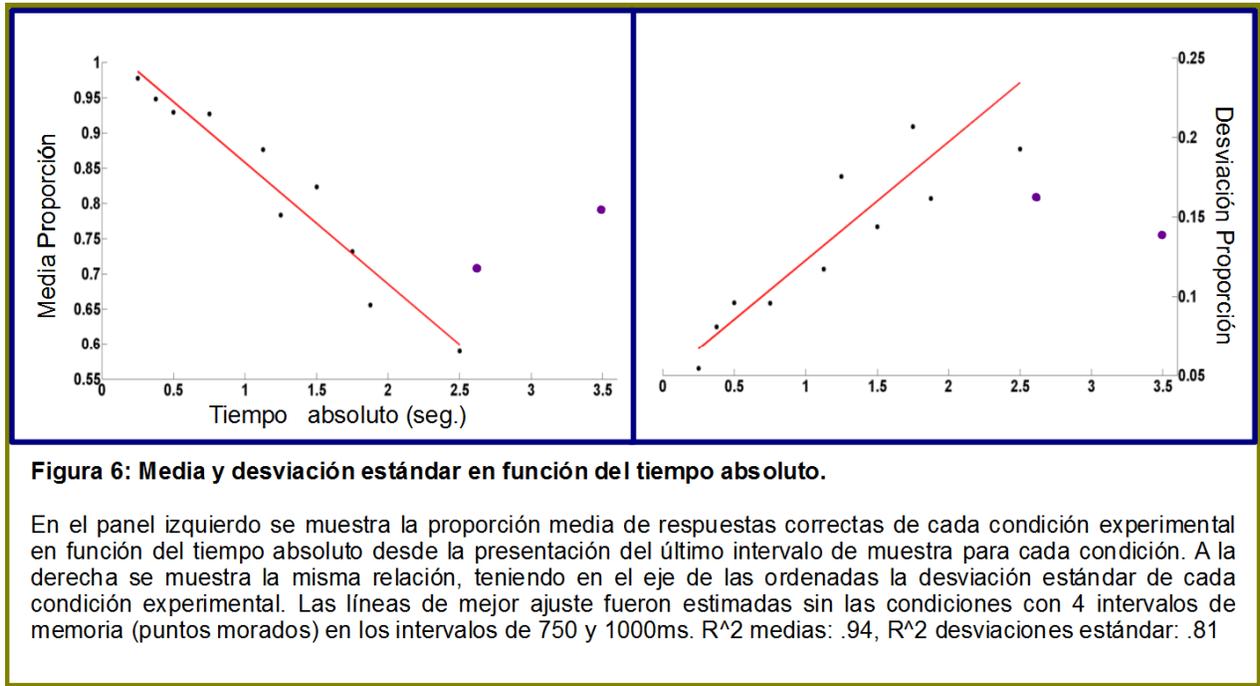
Una interpretación de este resultado es que posiblemente sea un efecto de sobre entrenamiento. La razón de esta conjetura es que el mono tiene experiencia acorde a que se le pregunten de 1 hasta 4 intervalos de memoria, es decir si un ensayo es considerablemente largo, la respuesta correcta más probable es que se le preguntaron 4 intervalos de memoria. Entonces tomando esto en consideración si el intervalo de tiempo es largo y el mono responde como si fueran 4 intervalos de memoria, aumentaría la probabilidad de obtener un reforzador. Omitiendo el tercer intervalo y respondiendo como si fuera el cuarto intervalo puede incrementar la probabilidad de obtener recompensa.

Por otro lado, este resultado sugiere que conforme se incrementa el tiempo que el mono tiene que realizar estimaciones del cambio de posición de la figura en la pantalla, la variabilidad en las respuestas se incrementa, lo cual concuerda con los principios psicofísicos básicos subyacentes a la estimación de eventos temporales (Gibbon, 1977).

De aquí surge la siguiente pregunta: ¿Existe una relación lineal entre la variabilidad de la respuesta y el tiempo total que ha transcurrido desde que se le mostró el último estímulo?

Para ello se tomó la media y la desviación estándar de las distintas condiciones y se graficó en función al tiempo absoluto desde la presentación del último estímulo. Por ejemplo la proporción de respuestas correctas de la condición 1000 ms, 2 intervalos de memoria, el tiempo absoluto desde la presentación del último estímulo sería 1.5 segundos (el tiempo del primer intervalo de memoria tomó 1000 ms y el segundo intervalo 500 ms ya que el estímulo ògoö se presenta a la mitad del intervalo de tiempo, como fue mostrado en los diagramas anteriores). Así, se

consideraron todas las condiciones excepto las de 4 intervalos de memoria con 750ms y 1000ms, debido a los efectos descritos previamente. Los resultados se muestran en la figura 6.

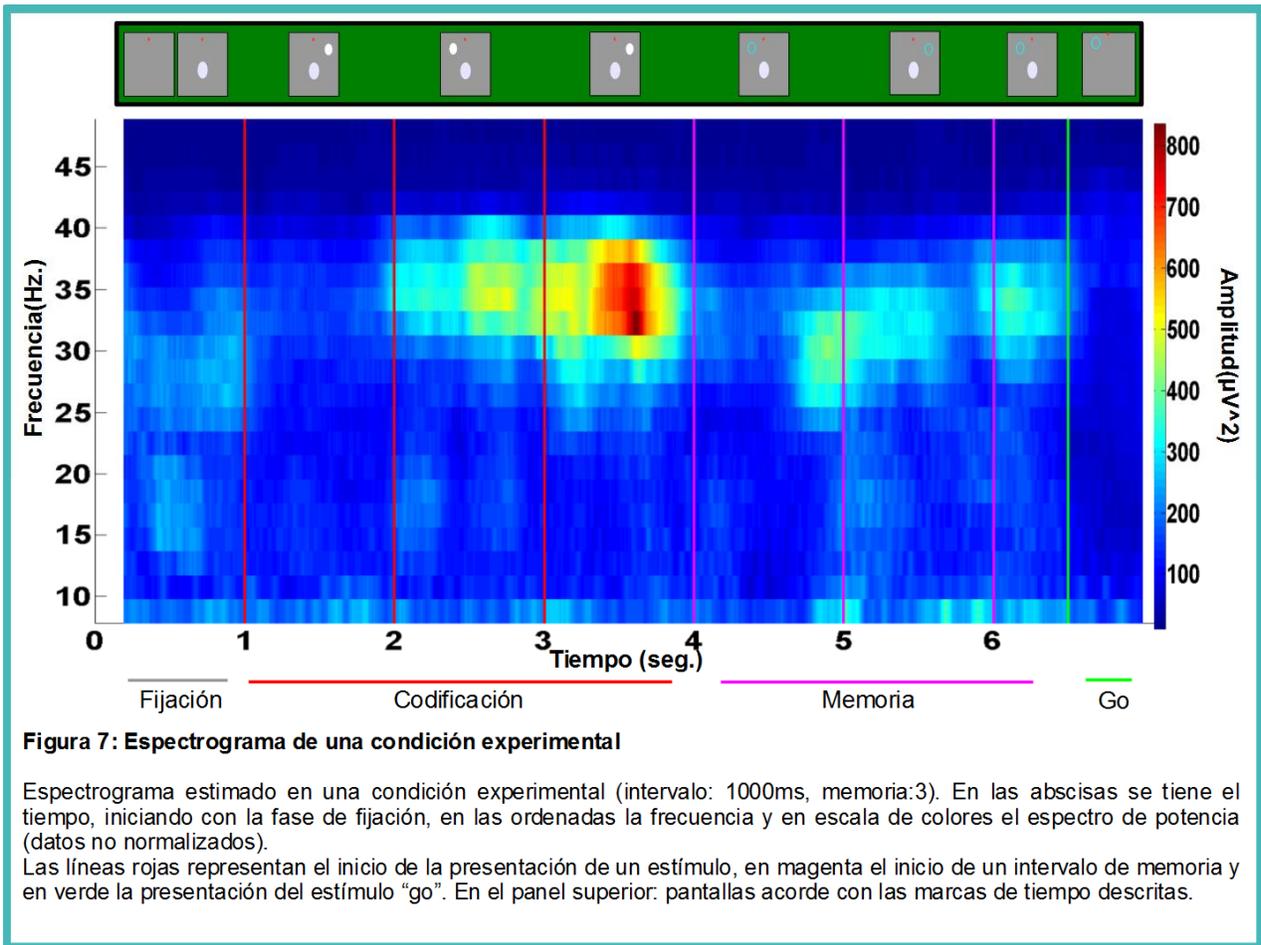


Estos resultados muestran que conforme pasa el tiempo en el que el mono debe de realizar estimaciones de la posición del círculo que no puede ver, la variabilidad en su estimación va incrementándose linealmente conforme al tiempo transcurrido, por lo tanto conforme se le exige el mantenimiento de mayor número de intervalos de retención, menor la proporción de respuestas correctas.

Análisis de frecuencia del PLC.

De forma que pudiese estudiarse si existe alguna modulación en la actividad del potencial local de campo en corteza motora suplementaria en función de las distintas fases del paradigma experimental se construyeron espectrogramas.

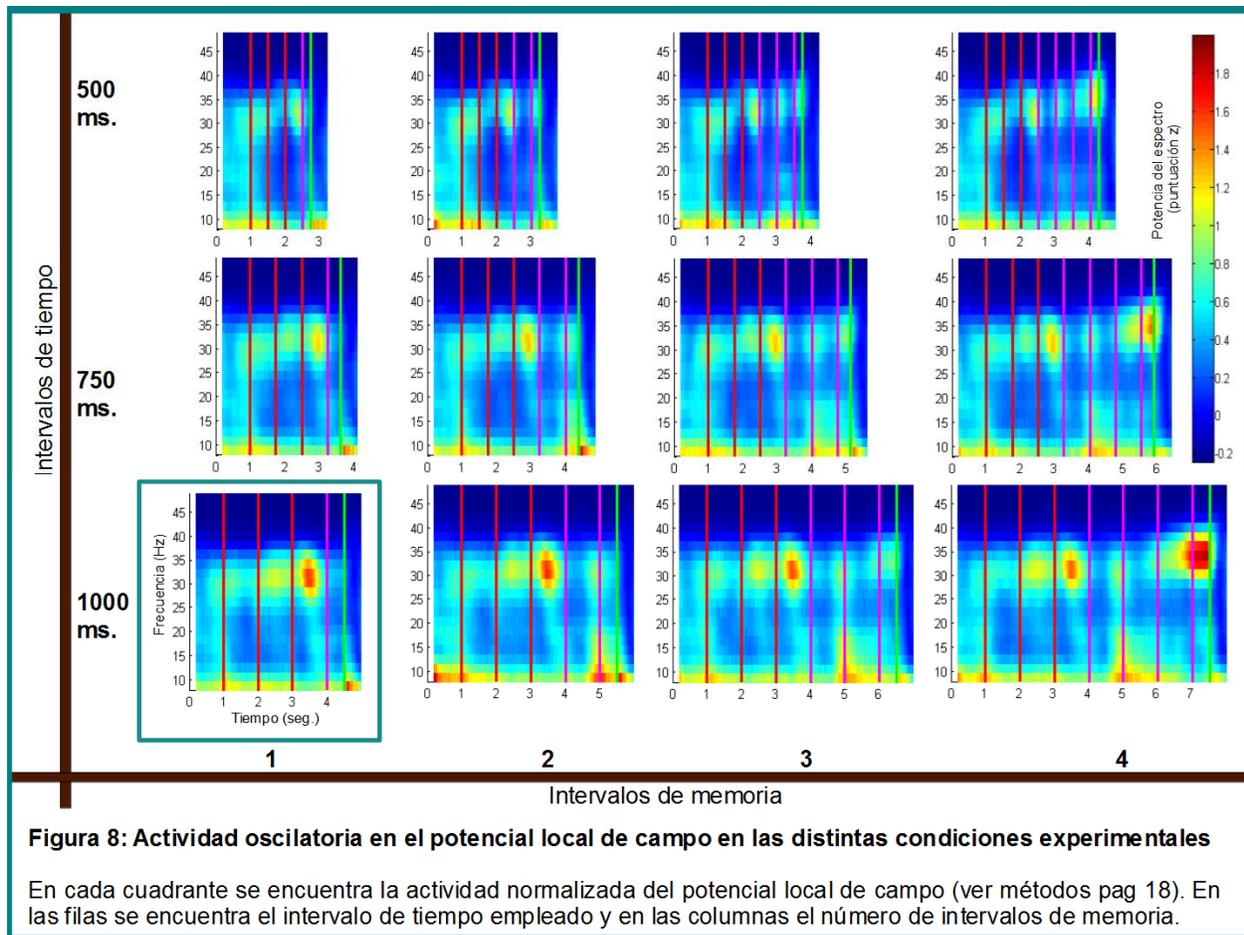
En la figura 7 se muestra el espectrograma de una condición en una sesión experimental



Como se puede observar la actividad en las frecuencias comprendidas entre 25 y 40 Hz. actividad que corresponde con la banda Gamma, la cual está asociada a procesamiento local (Lopes da Silva, 2013). Asimismo la actividad en esta banda varía en función de la fase experimental.

En la fase de fijación se observa poca actividad en la banda Gamma, así como en la presentación del primer estímulo donde se aprecia aún menos actividad, no así el segundo y tercer intervalo de muestra donde conforme se van presentando los estímulos la actividad comienza a incrementarse. Este incremento no es lineal, ya que se observa que al presentar el segundo intervalo hay un aumento en el espectro en Gamma, luego una disminución conforme se aproxima el tercer intervalo y al presentarse este nuevamente vuelve a aumentar. En la fase de memoria se encuentran modulaciones muy similares, en el primer intervalo de memoria se encuentra poca actividad, al inicio del segundo intervalo esta actividad comienza a aumentar y disminuye al aproximarse el inicio del siguiente intervalo. Este patrón de actividad continúa hasta que se presenta el estímulo ògoö.

Dadas las modulaciones rítmicas de la amplitud en la banda Gamma en función de los eventos de la tarea, los análisis subsiguientes se centrarán en esta banda. Asimismo estas observaciones se replican en los espectrogramas medios construidos con todos los registros realizados. En la siguiente figura se muestran los espectrogramas promedio de los registros realizados en todas las condiciones del paradigma experimental.



En los espectrogramas medios así como en el ejemplo mostrado de un único registro se observan modulaciones en la banda Gamma (25-35 Hz.) las cuales varían dependiendo de la fase de la tarea y el número de intervalo que se esté presentando. Además se observa actividad en otras bandas como lo es Beta (14-20 Hz.) y Alfa (7-14 Hz.) sin embargo en este trabajo solo se abordará Gamma ya que es en esta banda se observan modulaciones en la amplitud más claras acorde a los eventos en el paradigma.

A lo largo de los distintos tipos de condiciones experimentales, puede observarse que la actividad en la banda de frecuencias Gamma se incrementa conforme se muestran los estímulos en la fase de codificación, sin embargo esta actividad disminuye al comenzar el periodo de memoria, aumentando nuevamente conforme transcurren los intervalos de memoria.

Adicionalmente una inspección de la actividad del potencial local de campo a lo largo de los distintos intervalos de tiempo empleados muestra que la actividad en Gamma es mayor entre más largo sea el intervalo de tiempo empleado, es decir, se observa una menor amplitud en los espectrogramas de 500 ms en el periodo de codificación en comparación a los de 1000 ms. Efectos similares se encuentran en la fase de memoria, donde puede apreciarse que hay un aumento en la actividad en Gamma en todas las condiciones entre el inicio de un intervalo de memoria y el tiempo donde correspondería la presentación del estímulo ògoö, lo cual se vuelve evidente al revisar la actividad de esta banda en cada condición antes de la presentación del estímulo ògoö.

Estos resultados muestran que la actividad oscilatoria en Gamma refleja distintos aspectos tanto de la codificación de la temporalidad de un evento periódico como del uso de esta información. Lo anterior se refleja en la amplitud de la banda Gamma en función del intervalo temporal empleado así como la dinámica de la misma en función de que intervalo de memoria se está presentando.

En conjunto las representaciones tiempo frecuencia obtenidas sugieren un grupo de hipótesis que se revisarán a continuación.

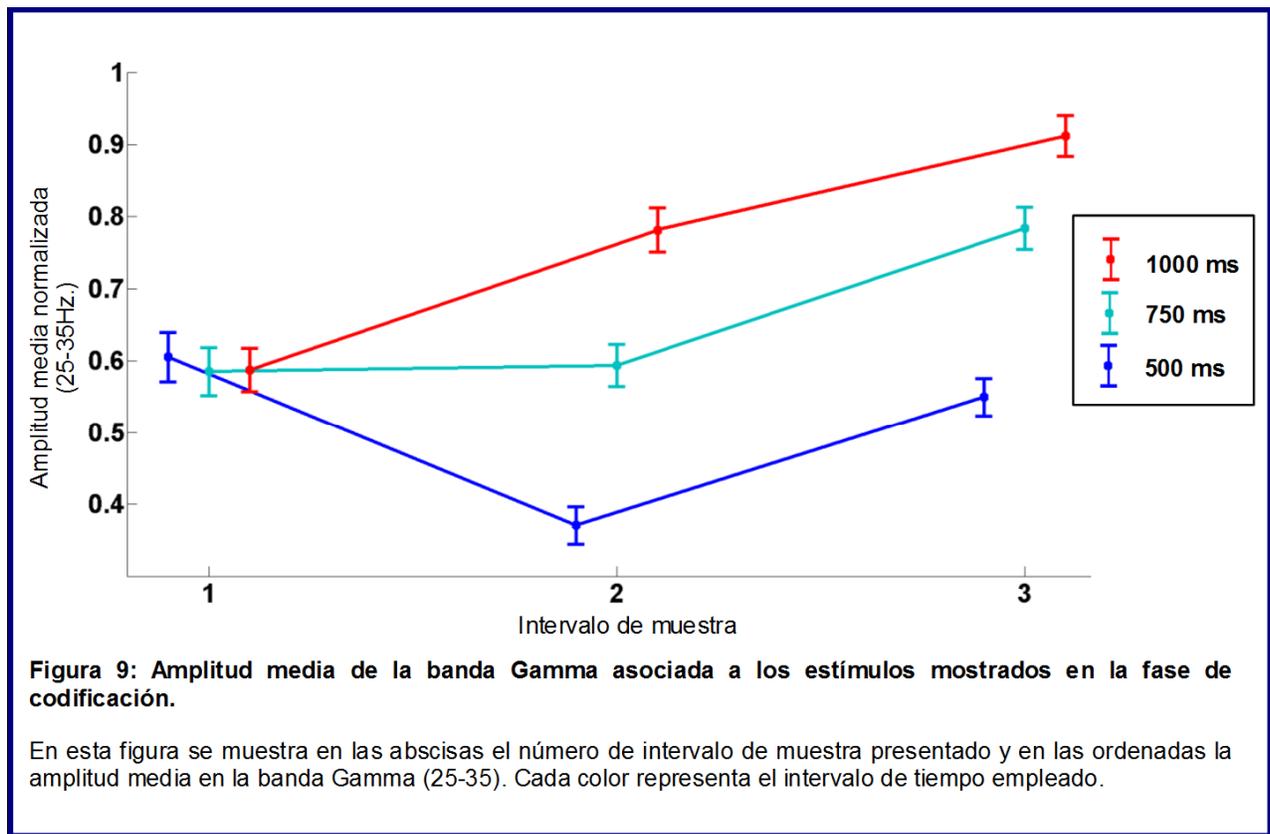
Codificación temporal en la amplitud de la banda Gamma en la percepción de un estímulo periódico.

Observaciones de la actividad de la banda Gamma en la fase de codificación del paradigma experimental sugiere que hay una relación entre la amplitud en esta banda y la magnitud del intervalo temporal empleado. ¿Existen diferencias entre la amplitud de la banda Gamma y el tipo de estímulo que se está presentando?

Para estudiar tal relación se estimó la amplitud media en la banda Gamma (25-35 Hz.) asociada a la presentación de cada estímulo en la fase de codificación, es decir la amplitud media en la banda descrita durante la presentación del primer segundo o tercer estímulo. Esta medida se obtuvo por cada registro experimental y se realizó un ANOVA de 2 factores, donde el primer

factor es el intervalo temporal empleado (500ms, 750ms y 1000ms) y el segundo factor el número de intervalo mostrado (de 1 a 3).

En la figura 9 se muestran las medias de cada factor estudiado



Como resultado del análisis de variancia se encontraron significativos tanto el factor intervalo de muestra ($F=29.174$, $p<.05$), intervalo de tiempo ($F=10.32$, $p<.05$) así como interacción entre los factores ($F=3.0585$, $p<.05$). La homogeneidad de varianzas entre los distintos factores fue corroborada mediante la prueba de Levene ($F=1.81$, $p>.05$). Se utilizó el análisis de Bonferroni como prueba pos hoc considerando significativo un alfa menor de .05.

No se encontraron diferencias significativas en la actividad en Gamma al presentar el primer intervalo de muestra entre los distintos intervalos de tiempo. En el segundo intervalo presentado es donde se encuentran diferencias significativas entre los distintos intervalos temporales. En el segundo intervalo de muestra cuando el intervalo de tiempo fue de 500 ms la actividad en

Gamma disminuye en comparación a la actividad en el primer intervalo de tiempo; cuando el intervalo de tiempo fue de 750ms no se observan cambios estadísticamente significativos en comparación del primer intervalo de muestra; Se encuentran diferencias en el segundo intervalo cuando el intervalo fue de 1000 ms.

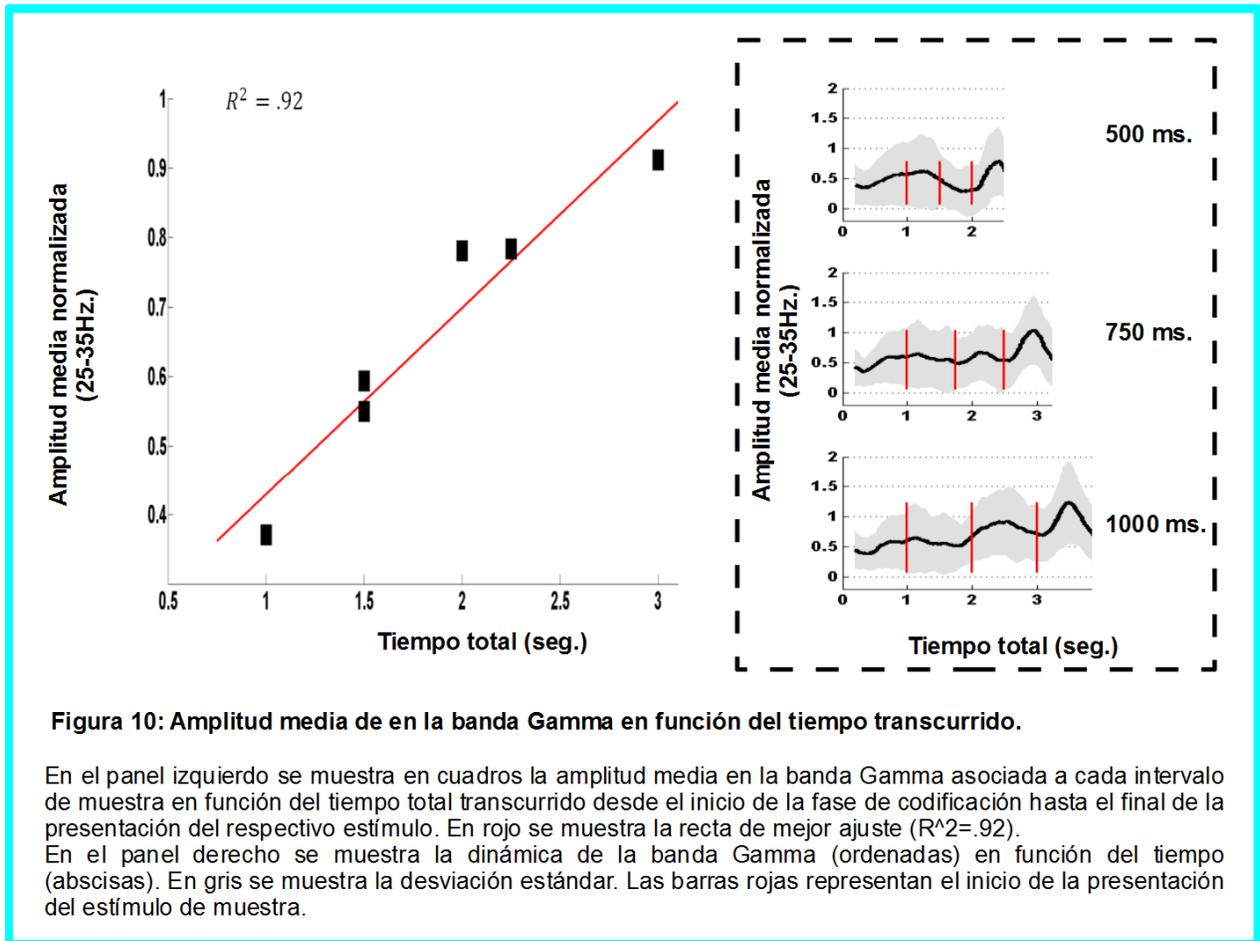
Diferencias significativas son encontradas entre la actividad del tercer intervalo con respecto al intervalo anterior, asimismo se encuentran diferencias entre la presentación del tercer intervalo de muestra de 500 ms con respecto al tercer intervalo de 750ms y 1000ms. Sin embargo no se encuentran diferencias significativas entre el tercer intervalo de muestra de 750ms y 1000ms ($P=.09$).

En una primera instancia estos resultados podrían sugerir que la actividad en la banda Gamma está asociada al intervalo temporal con el cual está cambiando el estímulo y al número de intervalo que se está presentando. Sin embargo un resultado interesante es que no se encontraron diferencias significativas entre el segundo intervalo de 750 ms y el tercer intervalo de muestra de 500 ms, asimismo no hay diferencias significativas entre el segundo intervalo de 1000ms y el tercer intervalo de 1000 ms.

No resulta trivial la ausencia de diferencias significativas entre estos pares de factores ya que el tiempo transcurrido desde el inicio de la fase de codificación hasta el final de la presentación del segundo intervalo de muestra de 750 ms y el tercer intervalo de muestra de 500 ms, es de 1500 ms; asimismo el tiempo transcurrido desde el inicio de la fase de codificación en el segundo intervalo de muestra de 1000 ms y el tercer intervalo de muestra de 750 ms es de 2000 ms y 2250 ms respectivamente.

Esto sugiere que la actividad media en la banda Gamma asociada a la presentación de cada intervalo de muestra puede estar asociada al tiempo transcurrido entre la presentación del estímulo y el comienzo de la fase de codificación, es decir la información temporal que puede estar codificada en esta banda está asociada al tiempo absoluto transcurrido. La ausencia de diferencias en la actividad asociada al primer intervalo de muestra entre los distintos intervalos temporales, señala que la actividad asociada al tiempo absoluto comienza a partir del segundo intervalo de muestra.

Para probar esta hipótesis se graficó la amplitud media de cada intervalo de muestra contra el tiempo transcurrido entre el inicio del ensayo y el final de la presentación del estímulo respectivo y se realizó un análisis de regresión lineal. No se consideró el primer intervalo de muestra dada la ausencia de diferencias entre los distintos intervalos (figura 10)



Como se muestra en el análisis de regresión, la amplitud en la banda Gamma de cada intervalo de muestra, señala una relación entre la magnitud de esta actividad y el tiempo total transcurrido, donde esta relación explica el 92 por ciento de la varianza total. Esto soporta la idea de que la actividad en la banda Gamma lleva embebida información temporal, lo anterior ocurre a partir del segundo intervalo de tiempo indicando no el número de intervalo sino cuanto tiempo ha pasado en el intervalo que se halla presentado. Es notable que al comenzar la fase de codificación, la

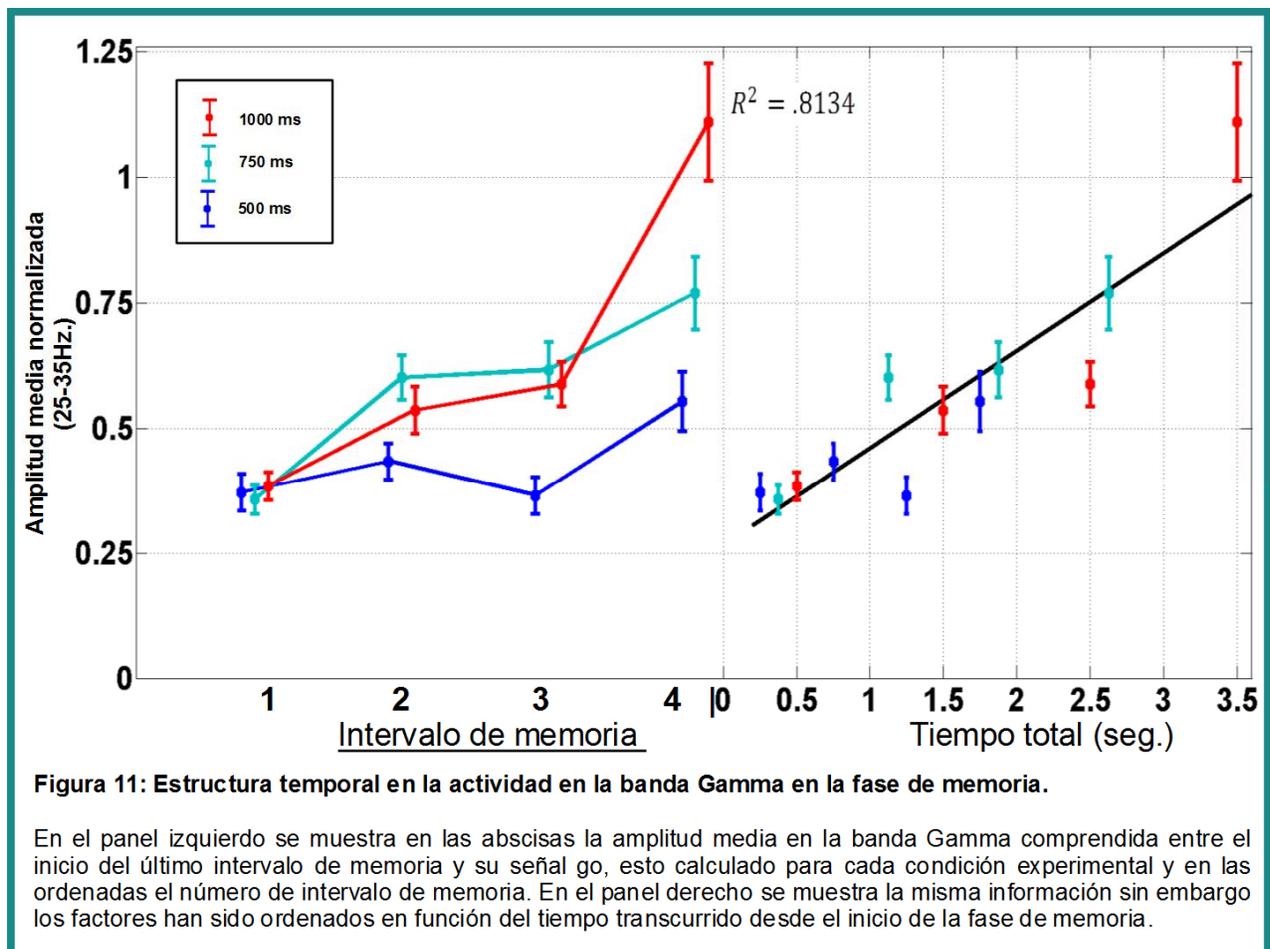
actividad en la banda Gamma no aumenta de forma lineal sino que la amplitud en Gamma aumenta solo cuando se presenta el intervalo (figura 10). Esto puede indicar que las modulaciones en la amplitud observadas indican cuanto tiempo ha pasado en el estímulo enésimo desde el comienzo del ensayo

Actividad en la banda Gamma y estimación temporal: uso de información periódica.

Como fue mostrado en las representaciones tiempo frecuencia, la señal del PLC muestra modulaciones en su amplitud, particularmente la banda Gamma, en la fase de memoria. Con base a estas observaciones se plantea la siguiente pregunta: ¿el potencial local de campo contiene información temporal codificada en la actividad oscilatoria? Para resolver esta pregunta se tomó como medida la actividad media en la banda gamma comprendida entre el inicio del último intervalo de memoria y la señal ògoö por cada condición experimental. De esta forma se tiene la actividad media en Gamma en función del intervalo de tiempo empleado y el número de intervalo de memoria.

Se realizaron pruebas de homogeneidad de varianzas entre los factores descritos mediante la prueba de Levene en donde se encontraron diferencias significativas ($p > .05$) lo cual indica que los distintos factores no tienen varianzas homogéneas. Adicionalmente, se realizó un análisis de regresión entre la amplitud media de cada factor en función del tiempo transcurrido desde el comienzo de la fase de memoria.

En la figura 11 se muestran los resultados de este análisis; En el panel izquierdo se muestran los factores descritos en función del número de intervalo de memoria (en líneas el intervalo de tiempo empleado) y en el panel derecho se muestran los mismo factores ordenados en función del tiempo transcurrido.

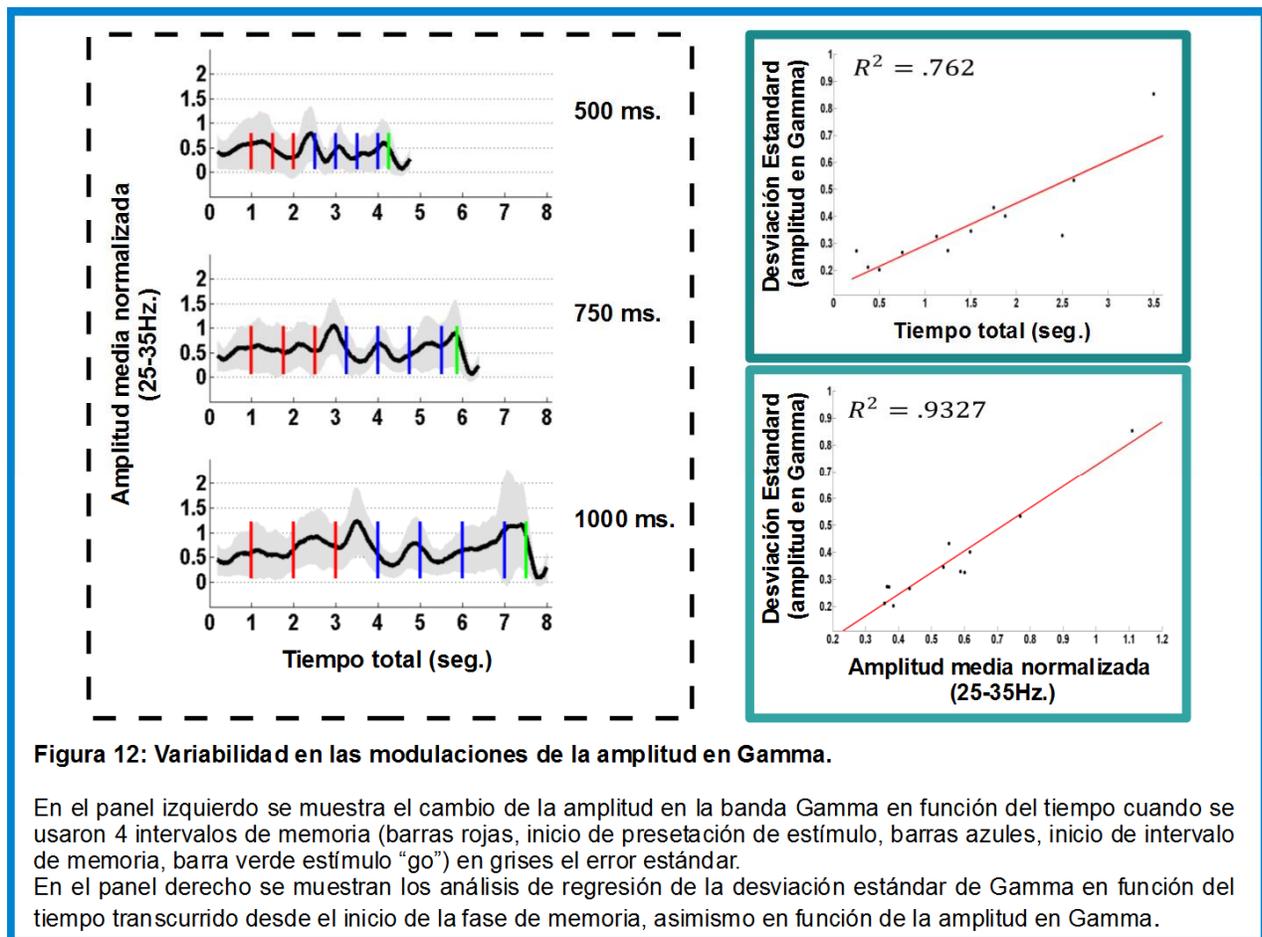


Puede observarse que la amplitud en la banda Gamma comprendida en la fase de memoria se incrementa en función del tiempo. Asimismo puede identificarse que la ausencia de homogeneidad de varianzas puede deberse a que conforme transcurre el tiempo, la variabilidad en la amplitud de la banda Gamma se incrementa. Esto sugiere que, de manera análoga lo que ocurre en la fase de codificación, la amplitud en la banda Gamma indica cuanto tiempo ha transcurrido, en este caso desde el inicio de la fase de memoria. Esta actividad entonces pudiera estar reflejando el proceso de estimación del cambio de posición del estímulo que no puede ver el mono, ya que la amplitud en Gamma se incrementa en proporción al tiempo entonces dependiendo de cuanto sea el aumento en esta banda será el tiempo total que ha transcurrido.

Como puede verse en la figura 11 la actividad en la amplitud de la banda Gamma varía sistemáticamente con el tiempo, entonces: ¿Cuál es la relación entre la variabilidad en la amplitud de Gamma y el tiempo transcurrido en la fase de memoria?

Para estudiar esta pregunta se comparó la desviación estándar en función del tiempo transcurrido y en función de la amplitud de la banda Gamma.

En la siguiente figura se muestran los resultados



Estos resultados muestran que hay una relación entre el tiempo transcurrido y el aumento de la variabilidad en la amplitud de la banda Gamma, lo cual podría indicar que la modulación en Gamma contiene información con respecto a cuánto tiempo ha pasado desde el inicio del periodo de memoria y por ende donde se encontraría el estímulo que no puede observarse en la tarea.

Sin embargo estos resultados también indican que las modulaciones en Gamma pudieran estar transmitiendo más información de la que se ha descrito al momento, ya que si bien la relación

entre tiempo y amplitud explica el 76% de la varianza total, si se compara la amplitud media estimada contra su propia desviación estándar, la varianza explicada aumenta hasta el 93%, lo cual indica que es necesario realizar más análisis para detectar qué otro factor puede covariar con los incrementos de la desviación estándar.

Discusión

La percepción de eventos periódicos es sin duda un proceso sin el cual la coordinación de conductas complejas o que requieran una coordinación en el tiempo, serían poco exitosas.

El paradigma desarrollado en esta tesis tuvo como objetivo el poder estudiar la codificación y empleo de información periódica. Mediante el control de variables como son la frecuencia del estímulo y el tiempo que el animal tiene que realizar estimaciones en la tarea, se pudieron realizar inferencias acerca del uso de información periódica.

Los resultados conductuales y los análisis realizados hasta el momento son congruentes con lo descrito en modelos semejantes para el estudio de estimación temporal (Gibbon, 1977). Es así que conforme mayor es el tiempo que el mono tiene que realizar estimaciones de la posición del estímulo cuando este no es visible, menor será su desempeño. Esto coincide con los incrementos en la variabilidad conforme el tiempo transcurrido (Figura 12), lo cual es consistente con los análisis de la variabilidad en función del tiempo descritos en los antecedentes (Laje, Cheng, & Buonomano, 2011). Entre más tiempo transcurre en la fase de memoria, mayor es la variabilidad y la probabilidad de error es mayor.

Si bien las tendencias mostradas son consistentes con resultados de otros grupos de investigación (Laje, Cheng, & Buonomano, 2011), estudios más detallados con respecto a psicofísica subyacente a la ejecución son necesarios de forma tal que puedan generarse modelos matemáticos para simular el desempeño en esta tarea con el fin de entender cómo interactúan factores propuestos teóricamente en el proceso de estimación temporal en esta tarea.

Un resultado fascinante de esta preparación es que hay un importante efecto asociado a la toma de decisiones, esto reflejado en los efectos del cuarto intervalo de memoria y la ejecución, en los cuales es claro el incremento en el desempeño debido a un proceso de toma de decisión (ver figura 5); si el animal experimentaba un intervalo relativamente largo con respecto a la frecuencia mostrada, responder como si el tiempo transcurrido fuera de 4 intervalos de memoria asegura una mayor cantidad de recompensa recibida.

Dado que esto ocurra predominantemente cuando el intervalo de los estímulos de muestra fue de 750 ms o 1000ms indica que posiblemente existe un efecto de interacción entre que tan variable se vuelve la estimación de la posición del estímulo no visible y la toma de una decisión que permite asegurar una mayor cantidad de recompensa. La corroboración de este efecto puede inferirse con manipulaciones sencillas al paradigma experimental; incrementando el número de intervalos de memoria es una forma poner a prueba la suposición del párrafo anterior, ya que de realizarse esta manipulación, los efectos observados en el cuarto intervalo deberían de desplazarse a los últimos intervalos mostrados. Asimismo si este proceso de toma de decisiones depende de la variabilidad inherente al transcurso del tiempo, cambios en la ejecución empleando intervalos de 500 ms son de esperarse. Tomando en conjunto estas observaciones el paradigma utilizado en esta tesis resulta eficiente para estudiar el proceso de codificación y uso de información periódica.

Por otro lado son diversos los resultados derivados del potencial local de campo en la corteza motora suplementaria. Resulta interesante que la actividad presentada en la fase de memoria cambia sustancialmente a los patrones observados en la fase de codificación. Tras ocurrir los incrementos en la amplitud de la banda Gamma en la fase de codificación, esta actividad vuelve a disminuir al comenzar fase de memoria, oscilando de forma rítmica conforme a la periodicidad del estímulo mostrado e incrementándose nuevamente conforme al tiempo transcurrido desde el inicio de esta fase. Esto da indicios de 2 procesos diferentes en la actividad de Gamma en la corteza motora suplementaria un proceso de codificación y otro de estimación.

La modulación en la ganancia del potencial local de campo sugiere que el sistema motor integra información con respecto a la temporalidad de sucesos periódicos para así coordinar una respuesta. Trabajos previos muestran que la corteza motora suplementaria es un centro importante en un amplia red asociada al procesamiento temporal (Merchant, Harrington, & Meck, 2013). Es así que los cambios de la amplitud encontrados en la banda Gamma, soportan estas afirmaciones y sugieren como podría ser la forma de codificación de este tipo de información.

Derivado de los resultados en la fase de codificación se propone que la actividad modulada de la banda Gamma se asocia no a la experiencia del paso del tiempo o la expectativa del inicio de la fase de memoria y por consiguiente la aproximación a la recompensa sino a un proceso de codificación de la temporalidad de la ocurrencia de los estímulos. Esto se sustenta con los

resultados de las pruebas de homogeneidad de varianzas en las cuales los factores estudiados en la fase de codificación muestran homogeneidad en las varianzas, además de la ausencia de efectos en la varianza con respecto al tiempo, como sería de esperarse si correspondiera a un proceso de estimación o generación de intervalos de tiempo.

Los resultados obtenidos en la fase de codificación en la banda Gamma muestran que la actividad sincronizada en esta banda codifica información con respecto al tiempo transcurrido desde el inicio de la fase de memoria. Además los cambios en la amplitud ocurren de forma rítmica acorde con el intervalo temporal con el cual está cambiando el estímulo que no le es visible al mono, lo cual muestra que la información codificada en esta señal se corresponde funcionalmente con un juicio de estimación.

La información que pudiera estarse codificando se corresponde con el cómo está cambiando un estímulo de posición con respecto al tiempo que ha transcurrido al iniciarse una secuencia, dando por resultado que la información almacenada puede suponerse como un registro de cómo cambió de posición un estímulo en el tiempo. Es por consiguiente una hipótesis razonable para poner a prueba en subsiguientes trabajos que las modulaciones en esta fase pudieran describir la eficiencia con la que se codifica un intervalo. En estos experimentos el animal tiene un entrenamiento muy extensivo con los intervalos empleados; una forma de poner a prueba la hipótesis sugerida sería emplear duraciones diferentes a las empleadas y estudiar el comportamiento de esta banda. Otra aproximación a la misma hipótesis es estimar parámetros que caractericen la actividad observada ensayo a ensayo y modelar la respuesta obtenida en función de tales parámetros.

Los resultados en fase de memoria, contrario a lo encontrado en la fase de codificación, soportan la hipótesis de que la actividad en esta banda se corresponde a un proceso de estimación temporal. Las pruebas de homogeneidad de varianzas indican que la variabilidad entre los factores de estudio no son similares, además de que los análisis mostrados en la figura 12 muestran que el comportamiento en la variabilidad sigue un patrón lineal, característico en la ejecución de juicios psicofísicos (Leon & Shadlen, 2003), dando como resultado un relación lineal entre tiempo transcurrido y variabilidad en la ganancia de esta señal. Soportando lo anterior se encontró que la amplitud de la actividad en la banda de frecuencias en Gamma, análogo a la fase de codificación, se incrementa con respecto al tiempo transcurrido desde la presentación del

último estímulo. Es interesante notar que si bien estos resultados soportan la noción de que la actividad de la banda Gamma en esta corteza contiene información tanto del estímulo percibido, como del proceso de estimación, no es clara su relación con respecto a los factores de decisión discutidos previamente. Como fue mostrado en la figura 11 los incrementos en esta banda describen de forma eficiente el paso del tiempo pero no dan cuenta de los efectos encontrados en los intervalos cuatro de memoria. Es posible que la información temporal de un evento periódico se esté codificando y procesando en esta corteza, sin embargo el proceso de toma de decisión se esté computando en una zona distinta del cerebro. Esta última hipótesis si bien luce atractiva, trabajo analítico debe de ser implementado para poderse apoyar. Aunque si bien es claro los incrementos de la ganancia con respecto al tiempo en la fase de memoria, este no es tan eficiente en comparación a lo encontrado en la fase de codificación. Posiblemente los efectos de decisión pueden apreciarse estudiando cómo covarían los incrementos en la ganancia de Gamma con respecto al tiempo transcurrido y la respuesta efectuada.

Adicionalmente es necesaria una aproximación analítica más detallada de la actividad del potencial local de campo a nivel de sesión experimental. En un trabajo reciente (Bartolo, Prado, & Merchant, 2013), se muestra que la actividad del potencial local de campo en el putamen en una tarea de sincronización-continuación varía entre distintos zonas de registro. En algunos sitios de registro se genera actividad asociada al intervalo temporal producido, sin embargo, en otros al número de movimiento producido o ambos efectos. Si bien estos registros fueron realizados en una zona cerebral distinta, no se descarta que efectos similares puedan encontrarse en la corteza motora suplementaria, si se opta por una aproximación analítica distinta, lo cual podría explicar algunos de los factores conductuales mencionados previamente.

Resumiendo los resultados en este trabajo, se tiene que el potencial local de campo en la corteza motora suplementaria lleva embebida en la banda Gamma información concerniente tanto información de la experiencia de un estímulo periódico como del empleo de esta información; Cambios en la amplitud indican la periodicidad del estímulo estimado y el que tanto es este cambio indican el cuanto tiempo ha pasado, lo cual sugiere que posiblemente la regla que se está codificando en esta señal se corresponda a estimar la posición del estímulo que no es visible en función de *cuánto* tiempo ha transcurrido.

En conclusión, el conjunto de hipótesis puestas a prueba en este trabajo, el paradigma conductual desarrollado permite el estudio no solo de la codificación y manipulación de información periódica sino también de cómo se emplea y se toman decisiones con esta información. Los resultados obtenidos sugieren que el estudio de la dinámica del potencial local de campo puede abrir nuevos caminos en la comprensión de la experiencia subjetiva del tiempo y de los recursos de los cuales se vale el sistema motor para poder lidiar con los cambios dinámicos omnipresentes en el medio ambiente.

Conclusiones.

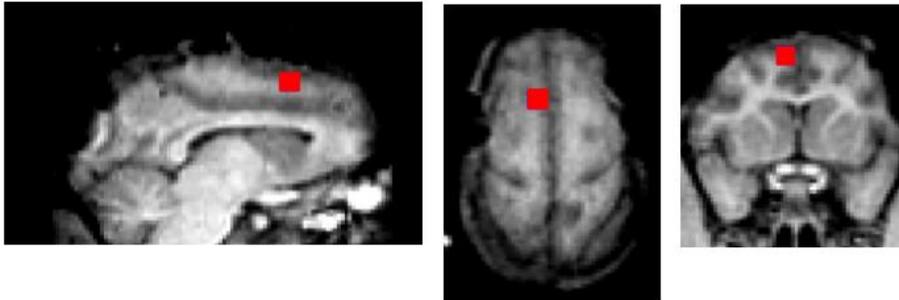
Resumiendo los resultados obtenidos, se realizaron registros del PLC en CMS mientras el sujeto de pruebas realizó una tarea de percepción de eventos periódicos. La hipótesis a desarrollar fue identificar si la actividad del PLC en esta corteza contenía información asociada al proceso de estimación temporal. Se encontró que durante la fase de codificación la amplitud en la banda Gamma oscila acorde a los estímulos mostrados y esta actividad aumenta conforme transcurre el tiempo. En la fase de memoria se encontraron resultados análogos a la fase anterior, sin embargo se identificó que la variabilidad en la amplitud de la banda Gamma varía de forma sistemática con el paso del tiempo. En conjunto estos resultados indican que la existe una relación entre la actividad del PLC en CMS particularmente la amplitud de la banda Gamma y el tiempo transcurrido, mientras se está realizando un proceso de estimación.

Bibliografía

- Bartolo, R., Prado, L., & Merchant, H. (2013). Information Processing in the Primate Basal Ganglia during Sensory-Guided and Internally Driven Rhythmic Tapping. *Journal of Neuroscience*, *11*(34), 3910-3923.
- Buhusi, C. V., & Meck, W. (2005). What makes us tick? Functional and neural mechanisms of interval timing. *Nature Reviews Neuroscience*, *6*, 755-765.
- Buzsáki, G., Anastassiou, C., & Koch, C. (2012). The origin of extracellular fields and currents--EEG, ECoG, LFP and spikes. *Nature Reviews Neuroscience*, 407-420.
- Chen, X., Scangos, K. W., & Stuphorn, V. (2013). Supplementary Motor Area Exerts Proactive and Reactive Control of Arm Movements. *The Journal of Neuroscience*, *30*(44).
- Church, R. M. (2001). A tribute to John Gibbon. *Behavioural Processes*, *57*(2), 261-274.
- Domjan, M. (2010). *Principios de Aprendizaje y Conducta*. Cengage Learning.
- Getty, D. (1975). Discrimination of Short Temporal Intervals: A Comparison of Two Models. *Perception & Psychophysics*, *18*(1).
- Gibbon, J. (1977). Scalar Expectancy Theory and Weber's Law in Animal Timing. *Psychological Review*, *84*(3), 279-325.
- Haegens, S., Nácher, V., Hernández, A., Luna, R., Jensen, O., & Romo, R. (2011). Beta Oscillations in the Monkey Sensorimotor Network Reflect Somatosensory Decision Making. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *108*(26).
- Ivry, R., & Spencer, R. (2004). The neural representation of time. *Current Opinion in Neurobiology*, *14*, 225-232.
- Laje, R., Cheng, K., & Buonomano, D. V. (2011). Learning of Temporal motor Patterns: an Analysis of Continuous Versus Reset Timing. *Frontiers in Integrative Neuroscience*, *5*, 1-11.
- Leon, M. I., & Shadlen, M. N. (2003). Representation of Time by Neurons in the Posterior Parietal Cortex of the Macaque. *Neuron*, *38*, 317-327.
- Lewis, P. A., & Miall, R. C. (2009). The Precision of Temporal Judgement: Milliseconds, Many Minutes and Beyond. *Philosophical Transactions of the Royal Society*, *364*, 1897-1905.
- Lopes da Silva, F. (2013). EEG and MEG: Relevance to Neuroscience. *Neuron*(80), 1112-1128.

- Mauk, M., & Buonomano, D. (2004). The Neural Basis of Time Processing. *Annual Review of Neuroscience*, 27, 307-340.
- Merchant, H., Harrington, D., & Meck, W. (2013). Neural Basis of the Perception and Estimation of Time. *Annual Review of Neuroscience*, 36(1), 313-336.
- Merchant, H., Zarco, W., & Luis, P. (2008). Do We Have a Common Mechanism for Measuring Time in the Hundreds of Millisecond Range? Evidence From Multiple-Interval Timing Tasks. *Journal of Neurophysiology*, 99, 939-949.
- Merchant, H., Zarco, W., Pérez, O., Prado, L., & Bartolo, R. (2011). Measuring Time with Neural Chronometers During a Synchronization-Continuation Task. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(49), 19784-19789.
- Mita, A., Mushiaki, H., Shima, K., Matsuzaka, Y., & Tanji, J. (2009). Interval Time Coding by Neurons in the Presupplementary and Supplementary Motor Areas. *Nature Neuroscience*, 12(4).
- Mitra, P., & Bokil, H. (2008). *Observed Brain Dynamics*. Nueva York: Oxford University Press.
- Nachev, P., Kennard, C., & Husain, M. (2008). Functional Role of the Supplementary and Pre-supplementary Motor Areas. *Nature Reviews. Neuroscience*, 9.
- Ortega, L., & López, F. (2008). Effects of visual flicker on subjective time in a temporal bisection task. *Behavioural Processes*, 78(3), 380-386.
- Ortega, L., López, F., & Church, R. M. (2009). Modality and intermittency effects on time estimation. *Behavioural Processes*, 81(2), 270-283.
- Pesarán, B., Pezaris, J. S., Sahani, M., Mitra, P., & Andersen, R. A. (2002). Temporal structure in neuronal activity during working memory in macaque parietal cortex. *Nature Neuroscience*, 5, 805-811.
- Rizzolatti, G., & Luppino, G. (2001). The cortical motor system. *Neuron*, 6(31), 889-901.
- Scherberger, H., Jarvis, M. R., & Andersen, R. A. (2005). Cortical Local Field Potential Encodes Movement Intentions in the Posterior Parietal Cortex. *Neuron*, 46(2), 347-354.

Anexo.



Anexo 1: Imagenes de Resonancia Magnética del sitio de registro

En esta figura se muestra de izquierda a derecha la vista sagital, axial y coronal de la resonancia magnética del sujeto experimental. En rojo se indica el sitio de registro

