UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias
División de Ciencias Biológicas
Departamento de Ciencias Ambientales

INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS

La inactivación de la corteza orbitofrontal altera el aprendizaje de inversión en una tarea sexualmente motivada en ratas macho

Tesis
que para obtener el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS DEL COMPORTAMIENTO
(OPCIÓN NEUROCIENCIAS)

presenta

Francisco Abelardo Robles Aguirre

Comité

Dr. Miguel Ángel Guevara Pérez (Director)

Dra. Gina Lorena Quirarte
Dra. María Isabel Pérez Vega
Dra. Esther Olvera Cortés
Dra. Marisela Hernández González

Guadalajara, Jalisco Junio de 2006

A mis sujetos de experimentación

A mi madre

A mi esposa

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer de todo corazón a "Tranquilino", a "Camilo", a "Curiosillo", a "Quietecito", a "Buen Niño", a "Mampím", a "Abusadín", a "Mordelón", a "Aventado", a "Mordelón 2", a "Cotorro", a "Chinchulín", a "Bravo", a "Quieto", a "Pirrín", a "Chilletas", a "Sin nombre", a "Hijo de Metralla", a "Hijo de Metralla 2", a "Jar-Jar", a "Ar2D2", a "Platicador", a "Obediente", a "Destroyer", a "Argüendes", a "Chilaquilín", a "Nervioso", a "Sin nombre 2", a "Quietín", a "Bueno", a todos los "Comodines", a todos los "Postexperimentales", a "Clint Eastwood", a "Rey Lagarto", a "Temoc", a "Tío Gamboín", a "Zaccari", a mi amigo "Metralla" y a todos los demás sujetos que por diversos impedimentos sus nombres no hayan quedado guardados en mi memoria, por haberme dado, de manera inmerecida, lo máximo que un individuo puede otorgar. Espero honrar con este trabajo su sacrificio.

Quiero agradecer profundamente a mi pueblo mexicano, el enorme apoyo hacia mi persona hecho a través de sus contribuciones realizadas pues es gracias a ellas que he podido financiarme el transporte, la alimentación y material necesarios para desarrollar estos estudios de posgrado que espero, de algún modo, puedan retornarle a mi gente al menos una pequeña parte de lo muchísimo que han hecho por un servidor.

Le ofrezco también mi más sincero agradecimiento a mi madre, por su dedicación constante que me permitió emigrar a esta gran ciudad de Guadalajara para dedicarme a estudiar, por su apoyo incesante en todos los sentidos para otorgarme la oportunidad de seguirme preparando, por su incondicionalidad y por su interés en mí, siempre lleno de amor.

Agradezco también a mi amigo Jesús Pretelín quien, cuando me encontraba yo azorado por la magnitud de las labores quirúrgicas, de cuidado médico y de orden en el bioterio y el laboratorio, me enseñó con paciencia y dedicación, cómo

enfrentarme a mis miedos, inseguridades y reniegos para llevar a buen termino el presente trabajo.

A mi compañera y amiga Mariana Martínez por su apoyo incondicional, su aliento y su amistad cuando, hallándome sumergido en la soledad de una labor que yo considero titánica, tuvo el aplomo y la valentía para permanecer luchando a mi lado, como el más fiel de mis amigos.

A mis amigos Marco Antonio y Jorge Rojas, quienes siempre se interesaron en mi trabajo, ayudándome casi a cada paso que yo daba y prestándome siempre palabras de aliento, comprensión y valentía. Hoy sé que cuento con ustedes como mis amigos más cercanos y espero que ustedes cuenten así también conmigo.

A mis compañeros de laboratorio Carlos, Koral y Orlando, con quienes compartí muchos bellos momentos y quienes siempre me brindaron desinteresadamente el placer de su compañía y la calidez de sus palabras.

A mis compañeros de la Maestría, de quienes adquirí, como de nadie más, los contenidos programáticos brindados en el posgrado.

A mis tutores, el Dr. Miguel Ángel Guevara y la Dra. Marisela Hernández, quienes apoyándome con su experiencia, sus indicaciones, sugerencias y sus constantes revisiones y correcciones hicieron posible que este estudio llegara a plasmarse en el presente trabajo. A mis asesoras, la Dra. Gina Lorena Quirarte que me enseñó, con toda paciencia y dedicación, las técnicas de cirugía y de infusión, además de donarnos material requerido para llevarlas a cabo, sin su ayuda no habría podido desarrollarse esta investigación; a la Dra. Maria Isabel Pérez y a la Dra. Esther Olvera, quienes invirtieron tiempo y esfuerzo en darle lectura a la presente tesis desde que era un anteproyecto y que gracias a sus comentarios y sugerencias hemos podido convertirla en un estudio más completo.

Finalmente, quiero agradecerle con toda la fuerza de mi amor, a mi esposa todas las tardes que permaneció a mi lado, esperando y alentándome a estudiar, a leer, o a repasar junto conmigo las lecciones que debía para aprobar los cursos necesarios, por todos los días que comió junto conmigo en el laboratorio o que ni siquiera comió por estar ayudándome, dejando siempre en segundo término sus propias ocupaciones e intereses.

INDICE

ABREVIATURAS 7

RESUMEN 8

ABSTRACT 10

I. INTRODUCCIÓN 11

II. ANTECEDENTES

La corteza prefrontal 13

Funciones en que participa la corteza orbitofrontal 16

El circuito de Papez 24

El circuito de transición a la motivación de Moguenson 27

La motivación sexual 30

La conducta sexual 32

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 35

IV. OBJETIVOS 36

V. HIPÓTESIS 37

VI. MÉTODO

Sujetos 38

Aparatos 38

Procedimientos 40

VII. RESULTADOS

Actividad motora 47

Efecto de la TTX sobre el desempeño de los sujetos durante el aprendizaje discriminativo y de inversión 48

Efecto de la TTX sobre las latencias de salida de los sujetos durante el aprendizaje discriminativo y de inversión 52

Efecto de la TTX sobre el tiempo de recorrido del corredor principal de los sujetos durante el aprendizaje discriminativo y de inversión 55

VIII. DISCUSIÓN 58

IX. CONCLUSIONES 68

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 70

XI. ANEXOS

AI. Resultados del primer piloto 78

AII. Resultados del segundo piloto 81

ABREVIATURAS

ACC: Núcleo accumbens

AMG: Amígdala

ATV: Área tegmental ventral

CA: Caudado

CG: Corteza del cíngulo

CGa: Corteza del cíngulo anterior

COF: Corteza orbitofrontal

CPF: Corteza prefrontal

CPFd: Corteza prefrontal dorsolateral

CPFm: Corteza prefrontal medial

FH: Formación hipocampal

FR: Formación reticular

FRX: Fórnix

HIP: Hipotálamo

HIPP: Hipocampo

IL: Corteza infralímbica

Iad: Área orbitofrontal insuloagranular dorsal

Iav: Área orbitofrontal insuloagranular ventral

LC: Locus Coeruleus

NR: Núcleos del Rafé

OL: Área orbitofrontal lateral

OM: Área orbitofrontal medial

OVL: Área orbitofrontal ventrolateral

PRL: Corteza prelímbica

PU: Putamen

SE: Septum

TAL: Tálamo

TALa: Tálamo anterior

RESUMEN

El presente estudio fue diseñado para indagar si la inactivación de la corteza orbitofrontal (COF) altera el desempeño de ratas macho en un laberinto "T", utilizando un incentivo sexual, durante las sesiones de: aprendizaje discriminativo y aprendizaje de inversión. Los sujetos fueron infundidos bilateralmente en la COF con solución salina (0.9%) o tetrodotoxina (TTX), en dos dosis, una baja (2.5 ng), y una alta (5 ng). Treinta minutos después se les permitió tener una intromisión con una hembra receptiva y se inició el registro conductual. En ambas sesiones, la hembra receptiva fue colocada en uno de los dos brazos del laberinto "T" y una hembra no receptiva fue colocada en el otro. El macho fue reforzado cada vez que llegaba al compartimento de la hembra receptiva con una interacción sexual, y fue retornado al compartimento inicial cada vez que llegaba al compartimento de la hembra no receptiva. Para cada sesión ocurrieron siete ensayos. La diferencia entre las sesiones fue la inversión del compartimento meta. Los parámetros registrados fueron el número de ensayos correctos e incorrectos, número de ensayos sin respuesta, latencias de salida del compartimento inicial y el tiempo de recorrido del corredor principal del laberinto. La actividad motora espontánea no fue alterada por las infusiones. Las ratas con inactivación de la COF no presentaron disminución del aprendizaje discriminativo. Solamente las ratas infundidas con la dosis alta de TTX mostraron disminución de las respuestas correctas durante el aprendizaje de inversión. Sin embargo, este grupo no presentó respuestas impulsivas ni perseverativas sino ausencias de respuesta. Estos datos concuerdan con otros estudios y sugieren que la COF participa en la

flexibilización de las respuestas, aunque también en la asignación de valor incentivo y su utilización para desempeñarse correctamente en una tarea motivacional.

ABSTRACT

This study was designed to analyze if the inactivation of orbitofrontal cortex (OFC) modifies the performance of male rats in a T-maze in two sexually motivated conditions: discriminative learning and reversal learning. Male rats were infused into the OFC with a 0.9 % saline solution (0.5 µl) or tetrodotoxin, at a lower doses (2.5 ng/0.5 µl), or a higher doses (5ng/0.5 µl) and thirty minutes later were allowed to have an intromission with a receptive female to proceed with behavioral tests. In both conditions the receptive female was placed at any of the two arms of the T-maze and a non-receptive female at the other one. The male was reinforced every time it reached the box of the receptive female with a sexual interaction and was returned to the start box when it reached the non-receptive female box. There were seven tests on each condition. Differences between conditions were the inversion of goal boxes. The parameters recorded were the number of correct and incorrect trials, number of trials without response, latencies to leave the start box and time necessary to traverse the stem runaway. Spontaneous motor activity was not altered by substances infused. Generally rats with OFC inactivated did not present any significant deficit in discriminative learning condition. Only rats infused with the higher dose of TTX showed a significant deficit in correct responses on reversal learning condition respect to control group. However, higher TTX group did not present impulsivity response nor perseveration but trials without response. These data agree with other studies that suggest OFC participates in flexibility of responding and indicates that it participates also in assigning the incentive value to stimulus and its use to perform correctly in a motivational task.

I. INTRODUCCIÓN

El concepto de motivación, al igual que muchos otros conceptos psicológicos, hace referencia a "procesos internos" de los organismos, es decir, está basado en la inferencia a partir de la conducta de un sujeto o en el reporte subjetivo propio o de otros sujetos, en el caso de los humanos.

A lo largo de la historia a la motivación se le ha reconocido bajo la denominación de distintos términos que van desde instinto hasta expectativa, necesidad, pulsión, emoción, refuerzo, etc. Todos ellos refiriéndose explícita o implícitamente a "una fuerza que impulsa al individuo a actuar y a perseguir metas específicas" (Hernández González y Prieto Beracoechea, 2002, p. 3). Esto implica que tiene como base la existencia de un motivo (la meta) y que la conducta que se ejecuta cesa cuando tal meta se obtiene. Esta fuerza que impulsa al individuo toma en cuenta no sólo "estados internos" sino también factores externos, es decir, estímulos que resultan incentivos (Toates, 1986).

Sin embargo, ante la pregunta de cuál es el origen de esa fuerza que guía al individuo a la consecución de la meta, la respuesta posiblemente habremos de encontrarla en los mecanismos cerebrales que posibilitan la existencia de los denominados "procesos internos".

En el cerebro de los mamíferos, se ha reconocido la importancia que tiene el circuito mesolímbico cortical en la activación general del organismo. Dentro de éste parecen existir estructuras encargadas de codificar aquella información que

tiene relevancia para la obtención de un refuerzo, de una recompensa, es decir, información sobre el valor incentivo de un estímulo.

Más aún, debido al constante cambio y alteración del medio ambiente, el organismo requiere además de la participación de diferentes estructuras cerebrales que tengan la flexibilidad para identificar cuándo un estímulo deja de poseer un valor incentivo y cuándo otro que no lo tenía, es ahora sumamente relevante para la sobrevivencia del organismo o de su propia especie.

En el contexto experimental se han diseñado diferentes paradigmas que permiten evaluar de manera más o menos confiable los diferentes procesos superiores en los que está implícita la corteza y otras estructuras cerebrales. Un ejemplo de estos paradigmas experimentales son las tareas de aprendizaje de inversión que, como veremos más a detalle, consisten en el re-aprendizaje de una respuesta dentro de una tarea de discriminación.

Puesto que la corteza orbitofrontal (COF) ha sido comúnmente asociada a esta importante función, el presente estudio se realizó con la intención de determinar si la inactivación temporal de la COF altera el aprendizaje de inversión de un incentivo sexual, utilizando como paradigma experimental la solución de un laberinto "T".

II. ANTECEDENTES

La corteza prefrontal

Durante mucho tiempo, la corteza prefrontal (CPF) fue considerada únicamente existente en primates y era denominada "corteza frontal granular" dadas sus características citoarquitectónicas (Uylings y cols., 2003). Sin embargo, debido a las múltiples diferencias citoarquitectónicas entre los distintos ordenes, era imposible hacer una comparación incluso dentro de la misma clase de los mamíferos. Por eso, como criterios para denominar como CPF a un área cortical entre distintas especies, familias y ordenes, se eligieron:

1) Las conexiones, que para la CPF, son densas y recíprocas con el tálamo mediodorsal (Rose y Woolsey, 1948).
2) Las propiedades funcionales electrofisiológicas y/o conductuales.
3) La distribución de las mismas sustancias neuroactivas, que para este caso son las vías noradrenérgica, colinérgica y serotoninérgica (Zald y Won, 2001).
4) Sólo para especies muy próximas, la estructura citoarquitectónica.

En los primates superiores, la CPF, situada por delante de la cisura central o de Rolando y de las áreas 4 y 6, motora y premotora de Brodmann; está dividida en un área lateral o dorsolateral y una ventral. El área lateral constituye la corteza prefrontal dorsolateral (CPFd) mientras que las áreas ventrales pueden subdividirse a su vez en la corteza prefrontal medial (CPFm), situada en la zona lateral interna de los lóbulos frontales; y la corteza orbitofrontal (COF) situada en la parte ventral inferior de los lóbulos frontales, por delante de la corteza insular de

los lóbulos temporales. La COF está integrada por las áreas de Brodmann 10, en el polo frontal; 14 y 25 en el giro recto, próximo al bulbo olfatorio; 11 y 13 en el giro medial orbital; y finalmente, 12 y 47 en el giro orbital lateral. Los primeros números corresponden a las áreas más anteriores y los segundos a las más posteriores de la COF. Los distintos giros están divididos por dos surcos, el surco medial orbital, y el surco lateral orbital (Zald y Won, 2001).

En las ratas, a diferencia de los primates, la CPF está formada solamente por las áreas medial (CPFm) y sulcal u orbitofrontal (COF) (Fuster, 1989). La CPFm es, al igual que en primates, la porción lateral interior del hemisferio, consistente en las áreas cingular anterior (CGa), prelimbica (PRL) e infralimbica (IL) (Li y Shao, 1998).

La COF está ubicada en la parte dorsal del surco rhinal y está subdividida en orbitofrontal lateral (OL), orbitofrontal ventrolateral (OVL), orbitofrontal medial (OM) y las áreas insuloagranular dorsal (IAd) e insuloagranular ventral (IAv) (Uylings y cols., 2003) (ver Fig. 1).

La COF ha sido incluida dentro del sistema límbico por sus fuertes conexiones con estructuras como la amígdala (AMG), el hipotálamo (HIP), el cíngulo (CG), el área tegmental ventral (ATV), el tálamo (TAL) y el núcleo accumbens (ACC) (Rolls y Treeves, 2001; Zald y Won, 2001). Recibe densas aferencias desde la corteza olfativa primaria hacia sus áreas posteriores: Insuloagranular medial e Insuloagranular posteromedial, 13 anterior y 13 medial, de acuerdo a la clasificación de Carmichael y Price (Zald y Won, 2001). Sus fuertes conexiones con estructuras límbicas y con la corteza olfativa primaria

parecen explicar el papel que juega la COF en la guía olfativa de las conductas motivadas (Yonemori y cols., 2000).

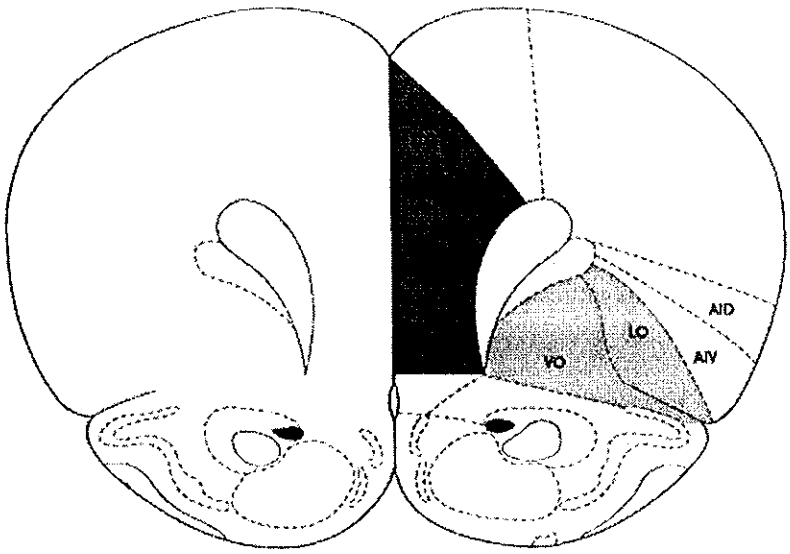

Fig. 1. Corte coronal del cerebro de la rata a 3.70 mm. de Bregma. Se pueden apreciar las áreas medial (gris oscuro) y orbital (gris claro) de la corteza prefrontal. CG1: Corteza del cíngulo área 1; PRL: Prelímbica; IL: Infralímbica; VO: Orbital ventral; LO: Orbital lateral; AIV: Insuloagranular ventral; AID: Insuloagranular dorsal.
Modificado de Guevara y cols. (2004). Aproximaciones al estudio de la Corteza Prefrontal. Guadalajara: Universidad de Guadalajara.

La COF, sin embargo, está implicada también en el procesamiento sensorial de otras vías. De la vía visual recibe aferencias desde el área VA3 desde la corteza inferotemporal hacia sus áreas 11 y 13 posteriores (Zald y Won, 2001; Rolls y Treeves, 2001). De la vía auditiva recibe información desde el giro temporal superior. Para Rolls (Rolls, 2000; Rolls y Treeves, 2001) estas áreas de la COF constituyen entradas para información que puede potencialmente constituirse en reforzadores secundarios, es decir, estímulos con un significado o

valor placentero o displacentero sólo después de haber sido asociados con estímulos incondicionados, que él denomina reforzadores primarios.

La COF también recibe información somatosensorial desde el opérculo parietal, el lóbulo parietal inferior y la ínsula posterior; además de información gustativa desde la corteza opercular gustativa y desde la corteza insular gustativa (Zald y Won, 2001; Rolls y Treeves, 2001).

De acuerdo a Rolls (Rolls, 2000; Rolls y Treeves, 2001), la información proveniente de las vías olfativa, gustativa y somatosensorial constituye probables reforzadores primarios, estímulos con un significado placentero o displacentero innato. Por ejemplo, la activación de las células de la COF no se corresponde únicamente con el procesamiento de las características del estímulo, como lo hacen las células nerviosas de las cortezas primarias o asociativas, sino que además de la presentación del estímulo dependen de efectos como la saciedad (Rolls, 2000, 2004).

Funciones en que participa la corteza orbitofrontal

Para Öngur y Price (2000) se pueden definir básicamente dos funciones de la COF: la de asociación sensorial y motora, y la de guía de la conducta. La primera se refiere a los hallazgos anatomo-fisiológicos derivados de la COF del macaco en donde las entradas sensoriales alcanzan a la red orbitofrontal que, a través de conexiones recíprocas con la CPFm, tiene conexiones subcorticales de salida a estructuras visceromotoras. Por otra parte, la función de guía de la conducta desarrollada por la COF parecería estar relacionada con dicha recepción de información visceral y sensorial que le proveerían de reportes para que esta

estructura pudiese monitorear el estado interno del organismo y de su entorno y así poder participar en la organización conductual que permitiese obtener las recompensas más deseables. A esta última función parece referirse de manera preponderante la hipótesis de los marcadores somáticos de Damasio (1994), en donde la toma de decisiones en una tarea discriminativa estaría influenciada por las señales de los procesos bioregulatorios provenientes de las vísceras que se integrarían a distintos niveles de procesamiento de la información sensorial en estructuras clave como la COF, la amígdala (AMG) y la corteza insular (Bechara y cols. 2000).

De acuerdo a diversos reportes de investigación, las lesiones en la COF generarían fundamentalmente los siguientes fenómenos:

a) Perseveración de la respuesta. Esto quiere decir que la respuesta condicionada continúa aún en la fase de extinción, en tareas de Salir/No salir y en tareas de evitación pasiva. En experimentos con ratas lesionadas en COF se ha reportado perseveración ya que las ratas continúan respondiendo ante estímulos ya no reforzados (Rolls, 2000, 2004; Clark y cols., 2004), o en fase de extinción (Rolls, 2000, 2004).

b) Disminución del aprendizaje de inversión. El aprendizaje de inversión de un incentivo es una variación particular del aprendizaje asociativo que consiste en la habilidad de los sujetos para reconocer, durante una tarea de discriminación, que la asociación anteriormente reforzada entre un estímulo y una respuesta entra ahora a la fase de extinción, y que la asociación (antes no reforzada) del estímulo contrario con la misma respuesta anterior es ahora reforzada (Otani, 2004). Es, entonces, una habilidad que consiste

en la adaptación de la conducta de acuerdo a cambios en las contingencias estímulo-recompensa (Clark y cols., 2003). Se ha relacionado la lesión en COF con el deterioro en el aprendizaje de inversión, pues las ratas cometen más errores en la emisión de una respuesta durante una tarea de ese tipo (Schoenbaum y cols., 2003a, b; Chaudasama y Robbins, 2003; McAlonan y Brown, 2003; Bohn y cols., 2003).

c) Impulsividad en la toma de decisiones. En pacientes con lesión, se ha relacionado el daño en la COF, además de con los anteriores fenómenos (Freedman y cols., 1998), con la aparición de impulsividad en pruebas de toma de decisiones (Clark y cols., 2004). Sin embargo, en tareas de toma de decisiones se han reportado evidencias contradictorias. Mobini y cols. (2002) encontraron que ratas con lesión de la COF prefieren reforzadores inmediatos o entregados con mayor probabilidad a pesar de que se den en menor cantidad, mientras que Winstanley y cols (2004) reportan que este tipo de ratas prefieren reforzadores en mayores cantidades aún cuando sean entregados con retraso.

Posiblemente los hallazgos anteriores sean comprensibles en términos de la función que la COF realiza en coordinación con otras estructuras del sistema límbico como la amígdala (AMG), el hipotálamo (HIP), el hipocampo (HIPP) o el cíngulo (CG). Se ha postulado que el papel principal de la COF es la función moduladora de la sobreexcitación de las estructuras límbicas y su extensión hacia otras áreas del encéfalo (Morén, 2002; Rolls, 2000, 2004). Es así como una lesión en esta estructura ocasionaría una falla en la inhibición de una respuesta

instrumental que ya ha sido aprendida y que, por tanto, interfiere en el aprendizaje de otra nueva respuesta (Morén, 2002; Chaudasama y Robbins, 2003). La deficiencia en el aprendizaje de inversión es entonces atribuible a la pérdida de control inhibitorio sobre las respuestas incentivas e igualmente la respuesta impulsiva en tareas de toma de decisiones (Clark y cols., 2004).

Sin embargo, aunque la lesión de la COF puede tener como resultado una falla en la inhibición de la respuesta en determinadas situaciones (las tareas ya descritas), ello no se presenta en todas las circunstancias y por tanto no puede atribuirse una falla global de la inhibición de la respuesta como resultado de la lesión de tal estructura (Schoenbaum y cols., 2003a).

De acuerdo a Schoenbaum y cols. (2001, 2003a, 2003b), el aparente efecto desinhibitorio por la lesión de la COF podría explicarse mejor debido a la posibilidad que tiene esta estructura para utilizar la información sobre el valor incentivo de un estímulo en la solución de una tarea. Para Schoenbaum y cols. (2003a), tanto la AMG como la COF exhiben niveles de activación de manera anticipada a la presentación del refuerzo luego de la ejecución de una respuesta instrumental lo que permite suponer que ambas estructuras son claves para el aprendizaje. Sin embargo, aunque ambas participan en la asociación entre estímulo y refuerzo, realizan funciones diferentes. Por ejemplo, mientras que la AMG responde con un patrón de activación muy similar ante la presentación de un refuerzo, la COF parece ser capaz de utilizar patrones de activación distintos y por tanto representarse en diferentes neuronas las asociaciones entre distintos estímulos y el refuerzo. Más aún, el disparo neuronal diferenciado ante la inversión del estímulo incentivo es mucho más rápido y efectivo en la AMG que en la COF,

en donde muchas neuronas que antes respondían activamente ante un estímulo incentivo simplemente regresan a adoptar un nivel de disparo basal frente a dicho estímulo luego de la inversión. En la COF tal disparo diferenciado ante un incentivo invertido está mejor correlacionado con el mejoramiento en el desempeño de la respuesta que ante la inversión misma (Schoenbaum y cols. 2003b), Este último hallazgo parecería indicar que es, en efecto, la AMG la estructura que reacciona inmediatamente a la inversión de un estímulo codificando así el valor incentivo del mismo, además de la expectativa de una nueva recompensa; en tanto que la COF se encargaría de utilizar esa información de acuerdo a su importancia para la solución de una tarea (Schoenbaum y cols., 2001).

Así pues, de acuerdo al estudio de Schoenbaum y cols. (1999) existen diferencias evidentes en la actividad correlacionada de las neuronas de la AMG y la COF durante la fase de inversión en respuesta a estímulos olfativos. La mayoría de las neuronas en COF que alteraron su actividad ante la presentación de olores durante la fase de aprendizaje inicial dejaron de disparar al mismo olor ante el cual disparaban cuando las contingencias fueron alteradas en la fase de inversión. Al mismo tiempo, una buena cantidad de neuronas de la COF que en la fase de aprendizaje no dispararon, comenzaron a hacerlo durante la inversión. Este patrón parece consistente con la noción de que la codificación en COF es influenciada por las características específicas del estímulo, así como por la significación motivacional asociada al estímulo. En contraste, la mayoría de las neuronas de ABL que disparaban de manera selectiva ante la presentación de un olor durante el aprendizaje inicial, invertían su disparo selectivo en la fase de inversión.

Siguiendo a Schoenbaum y cols. (2000), tales neuronas parecen estar más relacionadas con la codificación del valor incentivo independientemente de las propiedades específicas del estímulo. Con base en ese marco teórico, el incremento en la actividad correlacionada de las neuronas de COF en la inversión, que no ocurre con AMG, podría deberse a que las contingencias propias de la fase de inversión estarían involucrando en AMG muchas de las mismas conexiones utilizadas en la codificación original de la situación de aprendizaje inicial. Por ello, cuando las neuronas de AMG lo único que hacen es invertir su selectividad al disparar, no parece lógico esperar una correlación mayor de la activación de sus neuronas. Sin embargo, la codificación de nuevos eventos propios de la contingencia de la inversión podría generar el fenómeno que ocurre en COF, que es el del incremento de la actividad correlacionada de sus neuronas. El incremento propiamente dicho vendría dado porque las asociaciones codificadas del aprendizaje inicial deben ser conservadas y se añade la codificación de nuevas asociaciones propias de la fase de inversión (Schoenbaum y cols., 2000). Esto parecería consistente con los hallazgos en pacientes, donde aunque son capaces de aprender las discriminaciones originales, son incapaces de cambiar su conducta adaptándola a nuevas informaciones sensoriales. Las lesiones en COF particularmente parecen promover errores perseverativos en los cuales el sujeto es incapaz de detener respuestas preponderantes (en este caso aprendidas) basadas en las asociaciones originales. Estos hallazgos conductuales sugieren que el papel de la COF en las tareas de discriminación podría no limitarse a la codificación de las asociaciones entre estímulos y reforzadores sino que más bien parece ser una región cerebral crítica para guiar la selección de la

respuesta apropiada en el contexto de contingencias cambiantes. La codificación de las asociaciones originales en redes dentro de COF después de la inversión podrían facilitar la comparación de la nueva información que se trata de codificar y la anterior, permitiendo que el procesamiento y la salida conductual sean adaptativas al nuevo contexto. En la ausencia de esta contribución de COF, la codificación original parecería más difícil de alterar y ejercería mayor control sobre la conducta. En otras palabras, la conducta se volvería más rígida.

De esta manera, las conductas perseverativas, desinhibidas e impulsivas asignadas comúnmente a la función inhibitoria de la COF son más bien un síntoma de la incapacidad de los sujetos lesionados para utilizar la información sobre el valor incentivo en la modificación de su respuesta (Schoenbaum y cols., 2003a, 2003b, 2003c).

Lo dicho en párrafos anteriores contradice hallazgos experimentales en monos que indican una mayor flexibilidad de las células de la COF para adaptarse a las contingencias en una tarea de aprendizaje de inversión que de las células de AMG (Rolls, 2000).

Dicha propuesta de Schoenbaum y cols. (Schoenbaum y cols., 2003a, 2003b, 2003c), no parece consistente con la tesis postulada por Rolls (Rolls, 1999, 2000, 2004; Rolls y cols., 2003; Rolls y Treeves, 2001) sobre la COF como estructura encargada de la representación del valor incentivo del estímulo al comportarse como un asociador de patrones, en donde ante la presentación concurrente o próxima a un reforzador primario con un probable reforzador secundario, se generaría un condicionamiento pavloviano cuyo resultado podría ser la activación de una cantidad determinada de neuronas ante la presentación

del reforzador secundario cuando antes sólo se activaban ante el primario. Hemos visto en el apartado anterior cómo las conexiones que la COF establece con las vías sensoriales dan cierto soporte anatómico a esta tesis.

Ni tampoco parece consistente con la propuesta de Morén (2002), la cual afirma que existen conexiones inhibitorias desde la COF hacia la AMG, que posibilitan la flexibilización de la respuesta de esta última puesto que es una estructura con conexiones más rígidas con respecto a la COF. Ello probablemente debido a la posición de AMG como estructura "más antigua" filogenéticamente que COF.

Sin embargo, no es la COF la única estructura cuya lesión da como resultado disminución de la habilidad para realizar el aprendizaje de inversión, Li y Shao (1998), descubrieron que lesionando las cortezas prelímbica e infralímbica de la rata (ambas en CPFm) también se producían los mismos efectos. Por su parte, Wirtshafter y Asin (1986) reportaron un aumento significativo del número de ensayos requeridos para lograr el aprendizaje de inversión en ratas lesionadas en el núcleo medio del Rafé con respecto a un grupo control no lesionado. Tal discrepancia de resultados puede deberse a múltiples factores, entre ellos, el tipo de estímulo incentivo que utilizan en las tareas.

En los estudios mencionados que han evaluado aprendizaje de inversión se han utilizado estímulos de comida, bebida, etc., pero no incentivos sexuales. Un incentivo sexual es un reforzador para los sujetos que tiene la ventaja de que los sujetos no deben pasar por un proceso de privación antes de ejecutar la tarea.

Más allá de su papel central en el aprendizaje asociativo, la COF ha sido también involucrada en tareas que implican la retención de lo aprendido (Vafaei y

Pour, 2004; Schoenbaum y cols., 2001, 2003b). La función de esta corteza en el mantenimiento de representaciones internas en la memoria de trabajo sobre el valor incentivo de un estímulo ya había sido enunciado por Goldman-Rakic desde hace dos décadas (Zald y Kim, 2001). Ali Vafaei y Rashidy-Pour (2004), hallaron que la inactivación temporal de la COF afectaba la resolución de tareas que implicaban memoria espacial y aprendizaje instrumental. Para ellos, esta estructura estaría participando en la retención de la asociación entre los lugares de recepción de castigo y las estrategias para evitarlo a través de la conexión con AMG basolateral, de la cual recibe inervaciones cuya información consistiría en el valor incentivo del estímulo, y que permitiría a la COF guiar la conducta, y de las conexiones con el hipocampo (HIPP) a través de la corteza entorrinal y de la CPFm por medio de las cuales la COF modularía la formación de mapas cognitivos por medio de las múltiples asociaciones entre las modalidades sensoriales que convergen a estas estructuras.

El circuito de Papez

Tradicionalmente, las estructuras del encéfalo que se han relacionado con los procesos motivacionales y emocionales son las que pertenecen al denominado sistema límbico.

Este término fue introducido por McLean e incluía en dicho sistema a la AMG, el HIPP y la circunvolución del cíngulo, entre otras estructuras subcorticales del cerebro anterior (Hernández González, 2001), colindantes con la corteza cerebral, de ahí la denominación pues limbus significa *borde* en latín (Valenstein, 1986).

A finales de los años 30 del siglo pasado, James Papez comenzó a especular que dicho sistema intervenía en los procesos emocionales a través de sus conexiones (Valenstein, 1986). Fue, sin embargo, hasta finales de los cuarenta cuando el denominado circuito de Papez comenzó a ser tomado muy en serio no sólo como interventor sino como responsable de los estados motivacionales y emocionales en los mamíferos debido a los resultados de diversos experimentos acerca de los dramáticos cambios en las reacciones de determinados mamíferos ante diversos estímulos después de lesionar estructuras del sistema límbico (Valenstein, 1986), y de los experimentos del fisiólogo Hess que mostraron cómo la estimulación de las distintas áreas de la región límbica desencadenaban reacciones de ataque, defensa y de conducta alimentaria sin presencia de alimento (Hernández González, 2001).

Las estructuras involucradas en el circuito inicial propuesto por Papez son: la circunvolución del cíngulo que tiene proyecciones hacia la formación hipocámpica (FH), los cuerpos mamilares del hipotálamo que reciben inervaciones desde la FH por medio del fórnix (FRX), el tálamo anterior (TALa) que recibe también proyecciones desde el hipotálamo (HIP) y que envía de vuelta a la corteza del cíngulo (CG) (Hernández González, 2001). Posteriormente se fueron anexando otras estructuras como la CPF predominantemente la COF y la CPFm que tienen conexiones recíprocas con varias de las estructuras límbicas ya mencionadas, el septum (SE) que posee variadas conexiones con CG y la CPF y finalmente la AMG que recibe y envía inervaciones a múltiples estructuras del sistema límbico y a la CPF (Hernández González, 2001).

A través de estudios de autoestimulación, se ha comprobado el papel de diversas estructuras del sistema límbico en sensaciones placenteras que impulsan al individuo a realizar una actividad repetidamente para seguir obteniendo la estimulación eléctrica o farmacológica en dichas estructuras, concretamente estas han sido la amígdala (AMG), la CG, el locus coeruleus (LC), los núcleos del rafé (NR), TAL, el caudado (CA), el putamen (PU), la formación reticular (FR), la COF (Wise y cols., 1992), y la CPFm, con incrementos en la actividad de estructuras como el área tegmental ventral (ATV) y el núcleo accumbens (ACC) (Tzschentke, 2000). Aunque en todas estas estructuras se ha demostrado una alta tasa de autoestimulación, ninguna tiene una tasa superior de autoestimulación que la desencadenada por la excitación eléctrica del hipotálamo (Joseph, 1996).

El circuito de transición de la motivación a la acción de Moguenson

De acuerdo al modelo propuesto por Moguenson (1980), las estructuras relacionadas con la motivación, que denomina "cerebro emotivo", interactúan con las estructuras encargadas del procesamiento de la información sensorial, el "cerebro cognitivo", para permitir al organismo ejecutar las conductas orientadas hacia una meta o la obtención de una recompensa.

El modelo se compone de tres partes, la primera formada por las cortezas asociativas responsables del inicio de las acciones a través de señales cognitivas de comando, y el sistema límbico que procesa los estímulos reforzadores y posibilita el estado motivacional preparando al organismo para la acción.

La segunda parte esta compuesta por la denominada interfase límbico-motora y la estructura central aquí es el núcleo accumbens (ACC) ubicado en la parte ventral del estriado. Este recibe conexiones de una gran cantidad de estructuras límbicas directamente, además de conexiones indirectas desde diversas estructuras límbicas también a través del área tegmental ventral (ATV). El núcleo accumbens (ACC) también recibe inervaciones desde varias cortezas asociativas directas e indirectas a través de diversas estructuras del sistema límbico.

El ACC tiene conexiones de salida hacia el globo pálido, el cual inerva a los generadores espinales de la locomoción. También las cortezas asociativas tienen una influencia indirecta en dichos generadores espinales de la locomoción a través de la corteza motora primaria. Dichas estructuras plenamente involucradas con la acción motora, constituyen la tercera parte del modelo de Moguenson.

Posteriormente, se han identificado una gran cantidad de interconexiones entre las diversas estructuras que han ido enriqueciendo el modelo transformándolo en un circuito extenso. Estas son la introducción del papel preponderante de la CPF en sustitución del concepto más amplio de cortezas asociativas; la sustitución del globo pálido por las estructuras pálido ventral y subpálido que envían información hacia estructuras del tallo cerebral que llega finalmente hasta los generadores espinales del movimiento (Hernández González, 2002). Además, la introducción de un circuito de retroalimentación desde la interfase límbico-motora, es decir desde el ACC, de vuelta a la CPF de manera indirecta a través del tálamo mediodorsal como estructura que recibe inervaciones desde pálido ventral y subpálido (Hernández-González, 2002; Houk, 1997).

La relación funcional entre las diversas estructuras que participan en la transición de la motivación a la acción se ha ido esclareciendo con base en estudios experimentales desarrollados en diversos laboratorios. Así, hoy se sabe que el ACC tiene una división en dos partes: el shell o corteza y el core o núcleo (Fernández.Espejo, 2000; Hernández-González, 2002). La corteza de ACC recibe inervaciones de la CPF, particularmente de las COF y CPFm, y de diversas regiones del sistema límbico; mientras el núcleo de ACC parece una estructura únicamente de salida motora hacia pálido ventral y subpálido con conexiones inhibidoras gabaérgicas (Fernández.Espejo, 2000; Hernández-González, 2002). Existe una relación inversa en el núcleo del ACC pues parece que este inhibe tónicamente a dichas estructuras y que cuando recibe glutamato desde las estructuras límbicas y la CPF, disminuye su inhibición tónica (Hernández-González, 2002).

Las neuronas de la corteza del ACC presentan dos estados electrofisiológicos, el bajo o hiperpolarizado a –81 mV; y el alto que eleva el estado de reposo hasta –63 mV lo que posibilita despolarizaciones abruptas que generan varios trenes de tres o cuatro espigas. Este estado bajo de la corteza o shell es sostenido debido a la apertura de canales de potasio de rectificación hacia adentro. Las entradas más densas a la corteza del ACC vienen de la AMG, el HIPP y la CPF permitiendo la transición del estado bajo al alto de la corteza o shell del ACC bajo ciertas condiciones. Sólo cuando la AMG o HIPP envían potenciales de acción a estas neuronas se da la transición, cuando solamente la CPF lo hace, la transición no ocurre (Fernández-Espejo, 2000).

Por otra parte, la inervación dopaminérgica que recibe desde el ATV parece cumplir una función de estabilización de la siguiente manera: normalmente, durante el estado bajo de las neuronas de la corteza del ACC los receptores D2 dopaminérgicos presentes tienen un efecto inhibitorio sobre sus células, sin embargo, cuando las neuronas se encuentran en estado alto, receptores NMDA son desbloqueados y en esta situación, los receptores D1 dopaminérgicos posibilitan la acción excitadora de la dopamina, permitiendo se prolongue aún más la apertura de los canales NMDA y el flujo de calcio hacia el interior de la célula (Fernández-Espejo, 2000).

Sin embargo, la dopamina no está presente únicamente en la corteza del ACC, también se encuentra en el núcleo o core. Bessareo y cols. (2002) hallaron que un estímulo gustativo al cual el organismo no está familiarizado eleva la cantidad de dopamina tanto en la CPF como en la corteza y el núcleo o core del ACC. De igual manera, descubrieron que estímulos gustativos aversivos como la quinina rápidamente incrementaron la cantidad de dopamina en la CPF y en el core del ACC pero no en su corteza o shell (Bessareo y cols. 2002).

Esta fisiología del ACC parece permitirle desarrollar ese papel de interfase limbica-motora, al integrar información motivo-emocional procesada en el sistema límbico, información sensorial y de procesamiento superior proveniente de la CPF, estabilizar su actividad y generar una salida moduladora a estructuras encargadas de la acción motora.

La motivación sexual

Al igual que para otras conductas impulsadas por el componente motivacional, la conducta sexual implica una interacción entre los procesos internos del organismo y los estímulos externos (Agmo, 1999). Así, la presencia de otros individuos de la misma especie y de sexo opuesto, las feromonas despedidas por éstos, y sus movimientos son percibidos por los complejos sistemas sensoriales que a su vez son influenciados por las propias hormonas del organismo en estado apetitivo.

Aunque comúnmente se ha considerado que el objetivo de la conducta sexual es la reproducción de las especies, para explicar el componente motivacional de este comportamiento no parece plausible recurrir a dicha argumentación, a menos quizá que halláramos mecanismos fisiológicos capaces de dar cuenta de una motivación "filogenética" exclusiva para la reproducción. Sin embargo, sí se han encontrado mecanismos fisiológicos motivacionales que posibilitan a un individuo, independientemente de la especie a la que pertenezca, ejecutar la conducta sexual, al parecer sin otro propósito diferente de la realización per sé. (Agmo, 1999).

Desde tal punto de vista, la ejecución de la conducta sexual descansa en mecanismos fisiológicos cuya base anatomo-estructural sí es heredada filogenéticamente pero que, sin embargo, no es exclusiva de la motivación para la reproducción, sino que posibilita la propiedad recompensante a la ejecución sexual y su función como incentivo (Agmo, 1999; Mathews y cols., 1997).

Ahora bien, de acuerdo con el modelo de motivación incentiva propuesta por Bindra (1974) y adaptado a la motivación sexual por Agmo (1999), (Fig. 2) las

conductas de aproximación y búsqueda tienen características diferenciadas entre los machos y las hembras de una especie. Es probable que para las hembras las señales del macho actúen en función de un reforzador incondicionado, de ello se tienen múltiples ejemplos como cuando la presencia del macho desencadena en una hembra conductas proceptivas, o las respuestas de receptividad ante la estimulación táctil del macho. Esto parece tener su explicación en estados motivacionales anteriores a la exposición de la hembra al macho que son determinados por los ciclos hormonales relacionados con la reproducción de las hembras y que convierten en recompensante per sé la exposición y el contacto con el macho. En tanto que para los machos las señales provenientes de las hembras podrían tratarse inicialmente como estímulo condicionado asociado a la sensación recompensante de la estimulación táctil de la región perineal de su cuerpo, ya que un macho inexperto sexualmente hablando, por ejemplo una rata, no lleva a cabo ninguna conducta apetitiva ante la presencia de una hembra en estado receptivo y es solamente cuando de manera accidental durante su jugueteo con la hembra estimula su región perineal, cuando comienza a ejecutar la conducta de monta y posteriormente intenta las intromisiones, posiblemente ante la experimentación de una estimulación mucho mayor cuando penetra a la hembra que cuando solo la monta. De manera que es solamente después de que una rata macho ha tenido esta primera experiencia, que es capaz de detectar los estímulos de la hembra como un incentivo (Agmo, 1999).

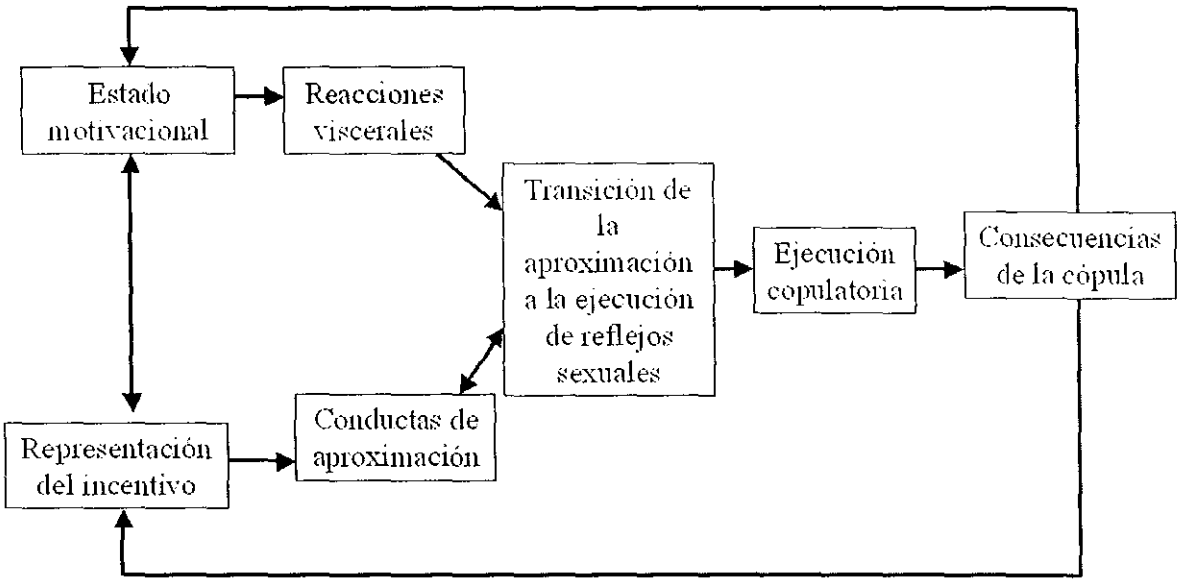

Fig. 2. Modelo de la motivación sexual incentiva en la rata macho propuesto por Agmo, 1999.

La conducta sexual

La conducta sexual en la rata puede dividirse en dos fases: una apetitiva y otra consumatoria. La fase apetitiva agrupa a todas aquellas conductas de cortejo del macho y a las de coqueteo de las hembras. La fase consumatoria se refiere a los comportamientos propios de la cópula en los mamíferos y que en la mayoría de estas especies finaliza con la eyaculación del macho (Meisel y Sachs., 1994).

Las conductas que caracterizan al período más propicio para la actividad sexual de la hembra (la fase del estro en las ratas), se dividen en tres componentes: las conductas atractivas, las proceptivas y las receptivas.

Dentro de las conductas atractivas se incluyen todas aquellas que permiten al macho identificar a una hembra receptiva para aproximarse a ella, como la

emisión de feromonas y los cambios de coloración de la región perigenital. Las conductas proceptivas son las que buscan provocar la respuesta de acercamiento del macho para iniciar la cópula, como los movimientos rápidos de la cabeza o los brincos entrecortados cuando se acerca el macho. Finalmente, las conductas receptivas son aquellas que permiten la cópula y que en el orden de los roedores se identifican con la lordosis, acto motor que implica un arqueamiento de la espalda de la hembra, el desvío de la cola y la inmovilización de su cuerpo en dicha posición (González Pimentel y Hernández González, 2002).

Para la rata macho, la fase apetitiva incluye, primeramente, a la identificación de las señales enviadas por la hembra que posibilitan la orientación y la aproximación a ésta; la persecución de la hembra receptiva ya en plena interacción con ella y, las conductas de interacción sexual: los trepes, las montas y las intromisiones. Los trepes, son aquellas conductas en donde el macho coloca sus patas delanteras sobre los flancos traseros de la hembra receptiva; en las montas, además de subir sus patas delanteras sobre los flancos de la hembra, realiza movimientos pélvicos rítmicos intentando lograr la inserción vaginal; las intromisiones aparecen cuando además de lo anterior ocurre ya la inserción peneana intravaginal, que termina, a diferencia de la monta, con un movimiento pélvico profundo hacia adelante y la desmonta rápida dando el macho dos o tres pasos bruscos hacia atrás (Meisel y Sachs., 1994).

Por otra parte, la conducta consumatoria es la eyaculación, que está constituída por una intromisión con un movimiento pélvico más profundo asociado con la expulsión seminal después de la cual el macho adopta una postura estática lejos de la hembra, por aproximadamente 5-10 minutos denominado intervalo

posteyaculatorio (Meisel y Sachs., 1994; González Pimentel y Hernández González, 2002).

En la rata, la manifestación de la conducta sexual parece depender del procesamiento adecuado de los estímulos provenientes de la pareja. González Pimentel y Hernández González (2002) han propuesto que la conducta sexual es multisensorial, esto quiere decir que del procesamiento conjunto de los estímulos olfatorios, auditivos, visuales, somatosensoriales e incluso gustativos resulta la ejecución de la conducta sexual. Sin embargo, se ha descrito que son la estimulación olfatoria y la somatosensorial las que desempeñan un papel crucial en la inducción de la ejecución sexual.

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los diseños experimentales de aprendizaje de inversión son paradigmas que han sido ampliamente usados para evaluar la funcionalidad de la COF durante tareas que requieren flexibilidad conductual en la asociación de estímulos incentivos, no obstante, los que se han desarrollado a la fecha son tareas complejas que han utilizado recompensas sobre todo de tipo alimenticio, de ingestión de líquidos o de detección de olores; sin embargo, hasta donde sabemos, ningún estudio ha sido realizado utilizando como refuerzo un incentivo sexual.

Puesto que la COF parece íntimamente relacionada con la motivación de conductas guiadas por el olfato y que la conducta sexual es una conducta motivada dependiente en gran medida de la estimulación olfatoria y somatosensorial proveniente de la pareja, el objetivo de este estudio fue investigar si la inactivación de la COF puede alterar el aprendizaje de inversión durante la solución de un laberinto "T" en ratas macho sexualmente expertas y sometidas a incentivos sexuales.

IV. OBJETIVOS

Objetivo General:

Determinar si la inactivación temporal de la COF altera el aprendizaje de inversión de ratas macho sometidas a la resolución de un laberinto "T" utilizando un incentivo sexual.

Objetivos Particulares:

1. Evaluar si ratas macho sexualmente motivadas pueden realizar el aprendizaje discriminativo de un incentivo sexual (hembra receptiva) en un laberinto "T" mientras su COF permanece inactiva.
2. Evaluar si ratas machos sexualmente motivadas pueden realizar el aprendizaje de inversión de un incentivo sexual en el laberinto "T" mientras su COF permanece inactiva.
3. Determinar si la inactivación temporal de la COF altera el valor incentivo de la hembra receptiva.

V. HIPÓTESIS

Las ratas macho sexualmente motivadas pueden realizar el aprendizaje discriminativo de un incentivo sexual en un laberinto "T" mientras su COF permanece inactiva. Sin embargo, esta inactivación temporal de la COF disminuye su habilidad para realizar el aprendizaje de inversión en la misma tarea utilizando el mismo incentivo.

CUCBA
BIBLIOTECA CENTRAL

VI. MÉTODO

Sujetos

Se utilizaron 36 ratas macho adultas de la cepa Wistar con una edad promedio de 80-100 días y un peso de 250-350 grs. del bioterio del Instituto de Neurociencias de la Universidad de Guadalajara. Estas fueron destetadas el día 22 posterior a su nacimiento y se hospedaron en cajas de acrílico transparente bajo condiciones de ciclo invertido de luz-oscuridad (12 horas luz/ 12 horas oscuridad), con una temperatura de 20-25° C aproximadamente y agua y comida ad-libitum.

Se utilizaron también ratas hembra de la misma cepa tratadas con benzoato de estradiol (0.5 μg) cada tercer día con el fin de mantenerlas receptivas al momento de la interacción sexual requerida con un macho.

Aparatos

Se utilizó una caja cuadrada de plástico (55 cms. x 55 cms.) con el piso dividido en 25 cuadros, de 11 cm. cada uno, para evaluar la actividad motora espontánea de la rata. Todo el interior de la caja de plástico era de color gris y las líneas divisorias de color negro. Las paredes de la caja tenían una altura de 14 cm. (Fig. 3).

También se utilizó un laberinto "T" hecho de madera. Este constaba de un corredor principal cuyo largo era de 52 cm. unido uno de sus extremos a un compartimento inicial cerrado por una puerta manualmente removible, que era una

caja cuadrada con dimensiones de 21 cm. por 21 cm., y en el otro extremo, se ensamblaba a otro corredor que constituía los dos brazos laterales. Cada brazo tenía de longitud 45 cm. La altura de las paredes de los corredores era de 10.5 cm. Al final de cada brazo se hallaban también dos compatimentos, del mismo tamaño que el inicial, que permanecían cerrados con puertas de madera removibles. Todo el interior del laberinto incluyendo las paredes de los compartimentos era de color café claro (Fig. 4).

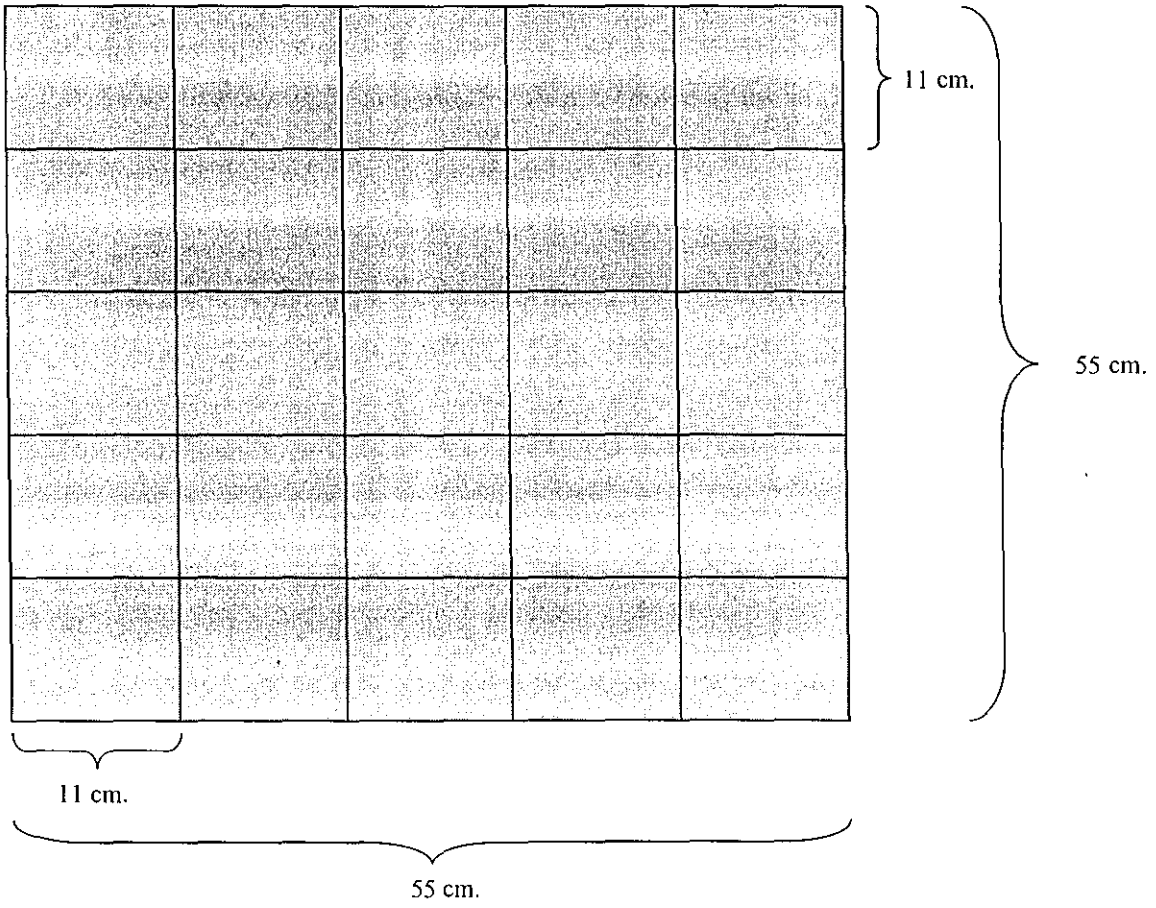

Fig. 3. Caja en donde se evaluó la actividad motora espontánea de la rata macho durante treinta minutos.

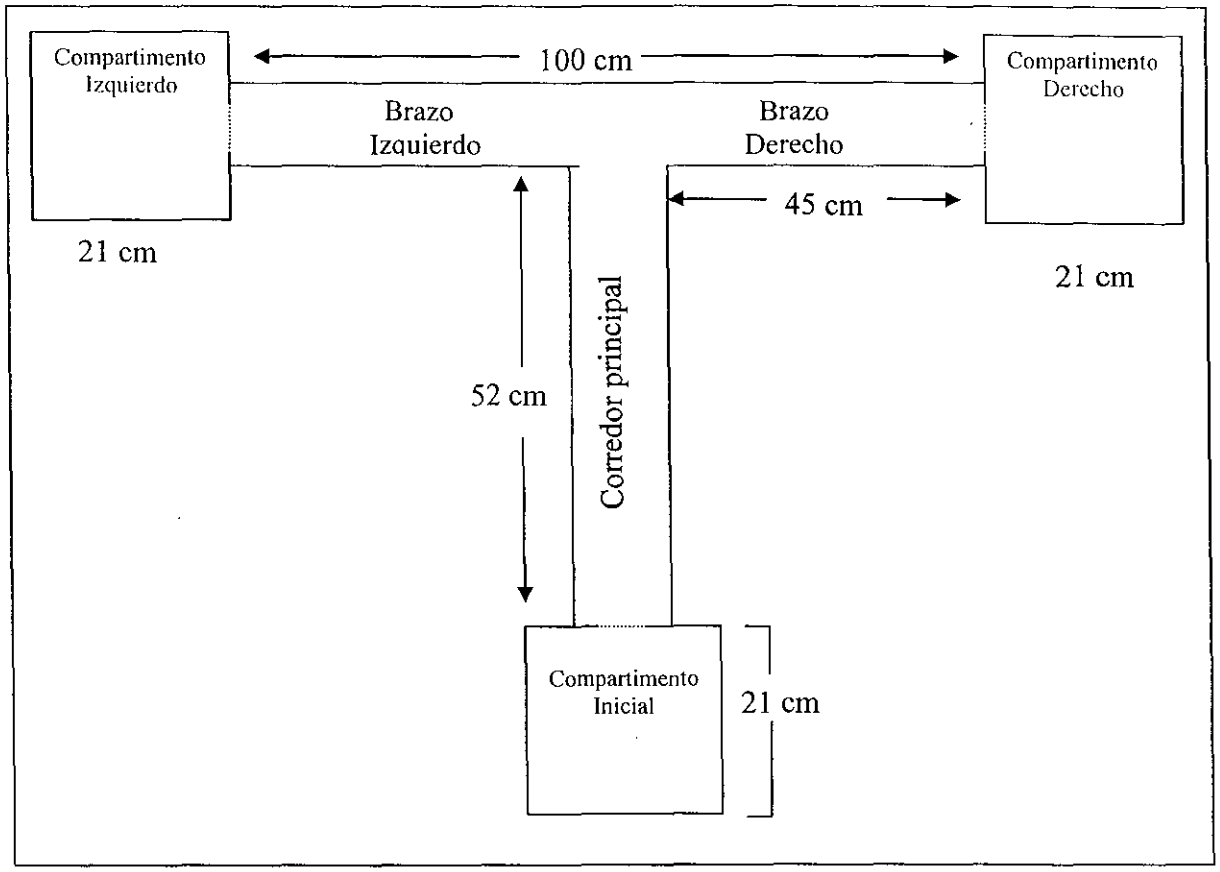

Fig. 4. Laberinto "T". Todos los compartimentos se hallaban sin acceso, sin embargo, poseían puertas removibles manualmente.

Procedimientos

1. Pruebas de interacción sexual.

Los machos fueron sometidos a pruebas de interacción sexual con hembras receptivas, y se consideraron sexualmente expertos cuando al menos en dos series copulatorias lograron eyacular antes de 15 minutos.

2. Cirugía para implantación de cánula.

Se sometieron 36 ratas macho sexualmente expertas a una cirugía estereotáxica para colocarles bilateralmente en la COF una cánula de acero inoxidable (calibre 23, 11 mm.). Las ratas fueron anestesiadas mediante una inyección intraperitoneal de anestesal (pentobarbital sódico, 35 μg/kg) y después se colocaron en el estereotáxico para realizarles la incisión que permitió visualizar la parte superior anterior del cráneo. En éste se taladraron dos agujeros para introducir las cánulas de manera bilateral, según las coordenadas estereotáxicas Anterior = + 3.70 mm, Lateral = ± 2 mm, y Altura = 3.5 mm. por debajo de la dura (de acuerdo al atlas de Paxinos y Watson, 1986). De modo que las puntas de las cánulas quedaron 1 mm. por arriba de la corteza orbital derecha e izquierda. Finalmente, las cánulas fueron fijadas al cráneo con acrílico dental.

Posterior a la cirugía, cada rata macho permaneció hospedada en el bioterio en cajas de acrílico transparente y de forma independiente. Después de un período de recuperación posquirúrgica de 5-7 días, cada rata fue sometida a una prueba de interacción sexual con el fin de determinar si la cirugía no afectó la ejecución sexual de la rata macho.

3. Preparación para el registro conductual.

Las ratas fueron asignadas a un grupo control (SS) o a uno de los dos grupos tratados con tetrodotoxina (TTX) para inactivar la COF.

Luego de lo anterior, cada una de las ratas fue pre-expuesta al laberinto "T. Esta pre-exposición se realizó en una sesión única llevada a cabo una o dos horas antes del experimento, donde las ratas permanecieron en el laberinto durante treinta minutos moviéndose libremente, adaptándose al medio y condiciones del cuarto de registro, el cual se mantuvo iluminado con luz roja y a una temperatura de 20-25 °C.

3.1. Formación de los grupos.

Los sujetos fueron integrados al azar en cada uno de los tres grupos hasta completar 12 sujetos para cada grupo. Aquellos sujetos que fueron asignados al grupo SS recibieron una microinyección bilateral de solución salina (0.5 μl) en la COF; en tanto que los asignados al grupo experimental TTX1 recibieron una microdósis de TTX de 2.5 ng/0.5 μl de solución salina en la misma estructura cerebral. Finalmente, los sujetos asignados al grupo TTX2 recibieron una microdósis de TTX de 5 ng/0.5 μl de solución salina también en la COF. La velocidad de la infusión fue de 0.5 μl/1 min. Las agujas se mantuvieron en ese lugar un minuto adicional para permitir la total difusión de la sustancia. Todas las microinyecciones se realizaron a través de las cánulas implantadas bilateralmente en la COF por medio de agujas (calibre 30, 14 mm.) acopladas a una jeringa Hamilton de 10 μl.

3.2. Registro de actividad motora

Treinta minutos después de la infusión, cada sujeto fue sometido a registro de actividad motora espontánea durante treinta minutos. Su recorrido dentro de la

caja descrita en el apartado anterior fue filmado para el conteo posterior del número de cuadros cruzados.

4. Registro Conductual

Al finalizar el registro de actividad motora se le permitió a cada macho tener una intromisión con una de las hembras receptivas dentro de una caja de acrílico transparente, con la finalidad de inducir el estado sexualmente motivado en la rata, antes de comenzar el registro conductual.

Las ratas de los diferentes grupos fueron sometidas a dos sesiones de siete ensayos cada una. En los siete ensayos de la primera sesión se permitía que los sujetos aprendieran a resolver el laberinto "T" para obtener un refuerzo positivo (una monta o una intromisión con una hembra receptiva) y se designó a esta sesión como de aprendizaje discriminativo.

En la segunda sesión, o de aprendizaje de inversión, se determinaba la capacidad de las ratas para establecer el aprendizaje de inversión del incentivo al invertir el lugar donde estos obtendrían el refuerzo.

Durante cada ensayo de ambas sesiones se midieron los siguientes parámetros:

a) La latencia de salida del compartimento inicial.
b) Tiempo que tardaba en recorrer el corredor principal del laberinto
c) Número de ensayos en que se dirigía al compartimento en donde se encontraba la hembra receptiva (correctos);
d) Número de ensayos en los cuales no se dirigía a dicho compartimento (incorrectos)

e) Número de ensayos en los que no abandonaba el compartimento inicial (sin respuesta) en un período de 2 minutos.

f) Número de veces que se movía de un brazo a otro (en un período de 5 segundos).

4.1. Primera Sesión (aprendizaje discriminativo de la tarea).

La primera sesión iniciaba, inmediatamente después de que cada sujeto experimental había tenido la intromisión con la hembra receptiva, cuando la rata macho era colocada en el compartimento inicial del laberinto y luego de 3 minutos de adaptación comenzaban los siete ensayos llevados a cabo de la siguiente manera:

1) En uno de los compartimentos del laberinto se colocaba a la hembra receptiva con la cual la rata macho infundida en COF había tenido la interacción sexual y en el otro a una hembra no receptiva.
2) Cada ensayo comenzaba cuando se abría la puerta del compartimento inicial del laberinto "T".
3) Al momento en que la rata macho llegaba al brazo en que la hembra receptiva se encontraba, se le permitía ingresar de manera contingente a su llegada a este compartimento para tener una monta o una intromisión con la hembra receptiva, y después era regresada al compartimento inicial.
4) Para cada uno de los ensayos, luego de atravesar el corredor principal, si es que la rata macho no se dirigía al compartimento en donde se hallaba la hembra receptiva, tenía 5 segundos en que podía moverse

libremente entre los brazos antes de que fuera regresada al compartimento inicial.

5) En los siete ensayos de la primera sesión se colocaba a la hembra receptiva en el mismo brazo del laberinto.

4.2. Segunda Sesión (aprendizaje de inversión).

Treinta minutos después del término de la primera sesión, se iniciaba la segunda. En ésta se repetía el mismo procedimiento para cada rata macho (7 ensayos) con la salvedad de que esta vez las ratas hembras eran cambiadas al brazo opuesto del laberinto "T" (si la hembra receptiva se hallaba en el brazo derecho, era cambiada al brazo izquierdo y viceversa).

5. Verificación histológica

Posterior al registro experimental, las ratas fueron sacrificadas para determinar histológicamente si las puntas de las cánulas se localizaron exactamente por arriba de la COF. Si con alguno de los sujetos no sucedió lo anterior, dicho sujeto fue eliminado del experimento.

6. Análisis Estadístico

Se realizaron análisis de parcelas divididas (grupos x condiciones) para los siguientes parámetros registrados en cada ensayo: preferencia del brazo en donde se encuentra la hembra receptiva, preferencia del brazo en donde no se encuentra

la hembra receptiva y número de ensayos en que la rata no salió en el tiempo determinado.

Cuando se hallaron diferencias significativas en la interacción entre las dos variables independientes ($p<0.05$) en dichos análisis se procedió a la aplicación de una prueba Tukey-Kramer para conocer entre cuáles grupos y en qué sesión existieron diferencias.

Para los parámetros de latencia de salida del compartimento inicial y de tiempo de recorrido del corredor principal, se realizó un análisis a través de la prueba no paramétrica Kruskall-Wallis, ensayo por ensayo comparando entre sí los grupos. Cuando se hallaron diferencias significativas en dicha prueba se procedió a la aplicación de una prueba U de Mann Whitney para conocer entre cuáles grupos existieron diferencias.

VII. RESULTADOS

Actividad Motora

Los resultados de la actividad motora en campo abierto registrada en los sujetos de los distintos grupos se presentan en la Fig. 5. Como puede observarse, el número de cuadros cruzados por sujeto no difiere significativamente entre los sujetos de cada grupo ($F_{(0.05, 2, 27)}=0.33$; $p=0.7202$).

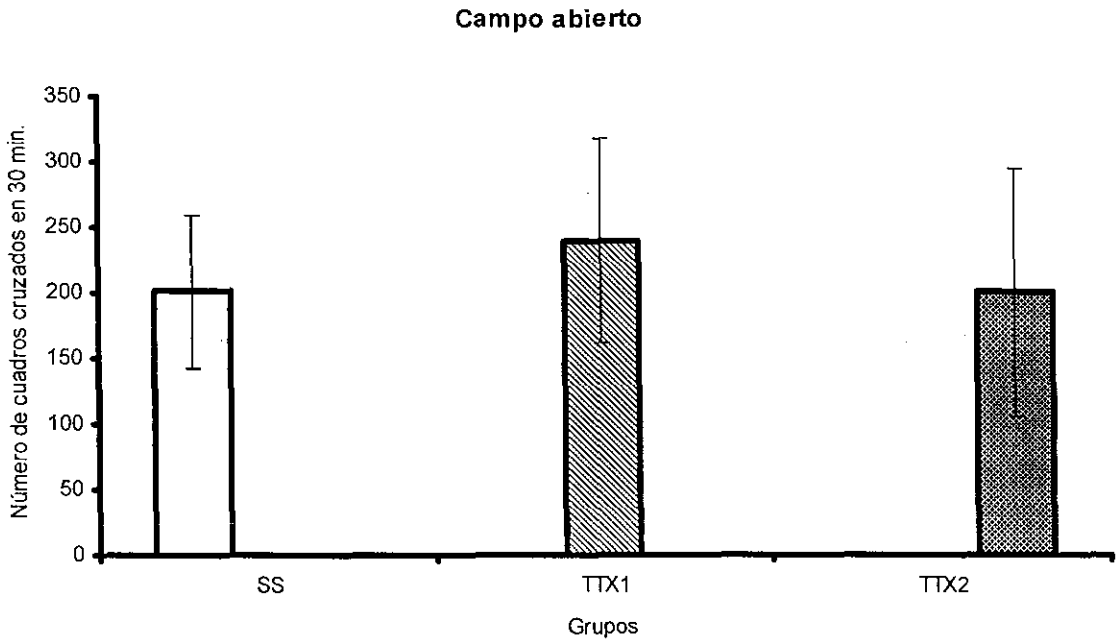

Fig. 5. La gráfica representa la media ± 2 errores estándar del número de cuadros cruzados por los sujetos de cada grupo en el registro de campo abierto.

Efecto de la TTX sobre el desempeño de los sujetos durante el aprendizaje discriminativo y el de inversión

Se encontró un efecto de interacción entre la dosis y el número correcto de ensayos aplicando un análisis de varianza por parcelas divididas ($F_{AXB\ (0.05,\ 3,\ 2,\ 33)}$ =3.59; $p<0.05$). Para determinar específicamente las diferencias entre cada grupo, en cada una de las sesiones, se realizó una prueba de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer. Se encontraron diferencias significativas entre el aprendizaje discriminativo y el aprendizaje de inversión sólo en los sujetos tratados con la dosis más alta de TTX (TTX2) ($p<0.01$), es decir, la inactivación temporal de COF con 5 ng de TTX disminuyó el número de ensayos correctos en la sesión de aprendizaje de inversión respecto al número de ensayos correctos efectuados durante el aprendizaje discriminativo. De manera similar, se encontró que los sujetos tratados con la dosis más alta de TTX presentaron un menor número de respuestas correctas durante el aprendizaje de inversión respecto al SS y al grupo TTX1 ($p < 0.05$) (Fig. 6).

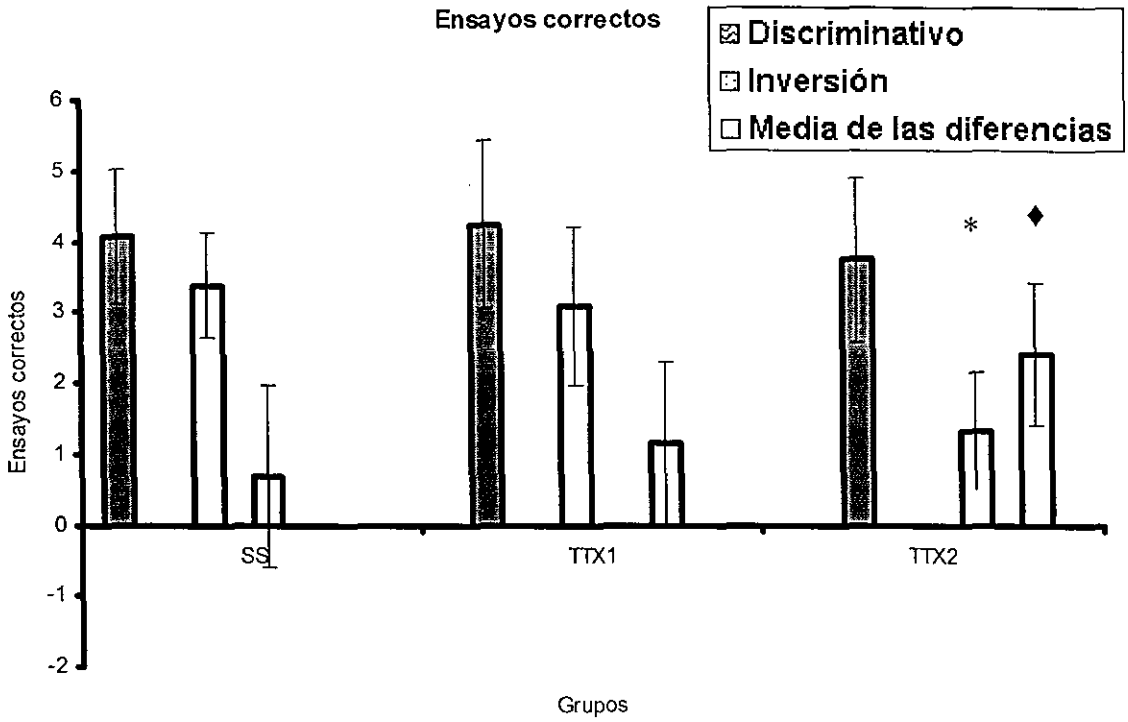

Fig. 6. La gráfica representa las medias ± 2 errores estándar del número de ensayos correctos por grupo en cada una de las dos sesiones, aprendizaje discriminativo y aprendizaje de inversión.

* $p < 0.05$ significativamente menor respecto al aprendizaje de inversión del grupo SS y TTX1.

♦$p < 0.05$ diferencia significativa entre medias del mismo grupo donde en aprendizaje de inversión los sujetos tienen un menor número de respuestas correctas respecto al aprendizaje discriminativo.

Respecto al número de ensayos en que la rata no respondió dirigiéndose a donde se encontraba la hembra receptiva sino hacia donde se encontraba la no receptiva (ensayos incorrectos), no parece existir una diferencia significativa entre los diferentes grupos ni durante el aprendizaje discriminativo ni en el aprendizaje de inversión ($FAxB_{(0.05, 3, 2, 33)} = 0.19$; $p > 0.823$) (Fig. 7).

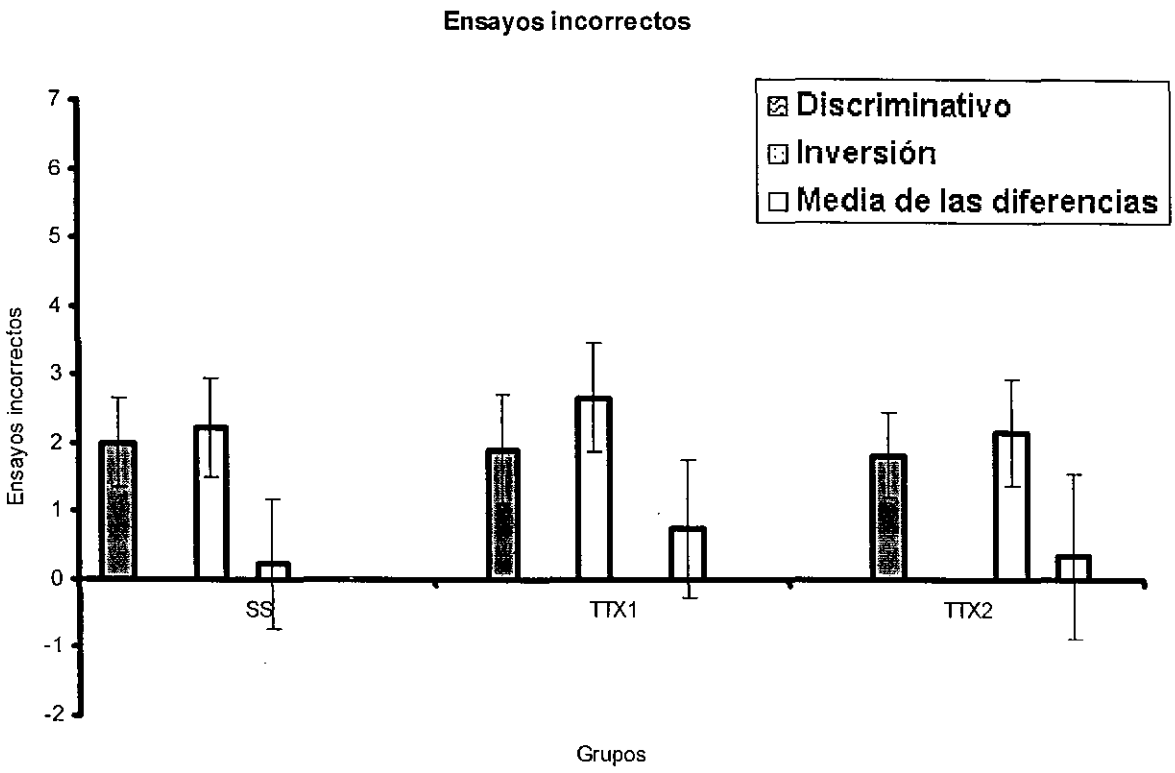

Fig. 7. La gráfica representa las medias $\pm$ 2 errores estándar del número de ensayos incorrectos por grupo en cada una de las dos sesiones, aprendizaje discriminativo y aprendizaje de inversión.

Sin embargo, también se encontró un efecto de interacción entre la dosis y el número de ensayos sin respuesta en cada una de las dos sesiones (aprendizaje inicial y aprendizaje de inversión) ($FAxB_{(0.05, 3, 2, 33)} = 4.39$; $p < 0.05$). Nuevamente, para identificar entre qué grupos se produjo esta diferencia, se aplicó una prueba

de comparaciones múltiples, Tukey-Kramer. Con ella se hallaron diferencias significativas en la sesión de aprendizaje de inversión entre el grupo TTX2 y los otros dos grupos en la misma condición ($p<0.01$), así como diferencias significativas entre ambas sesiones dentro del mismo grupo TTX2 ($p< 0.01$) (Fig. 8).

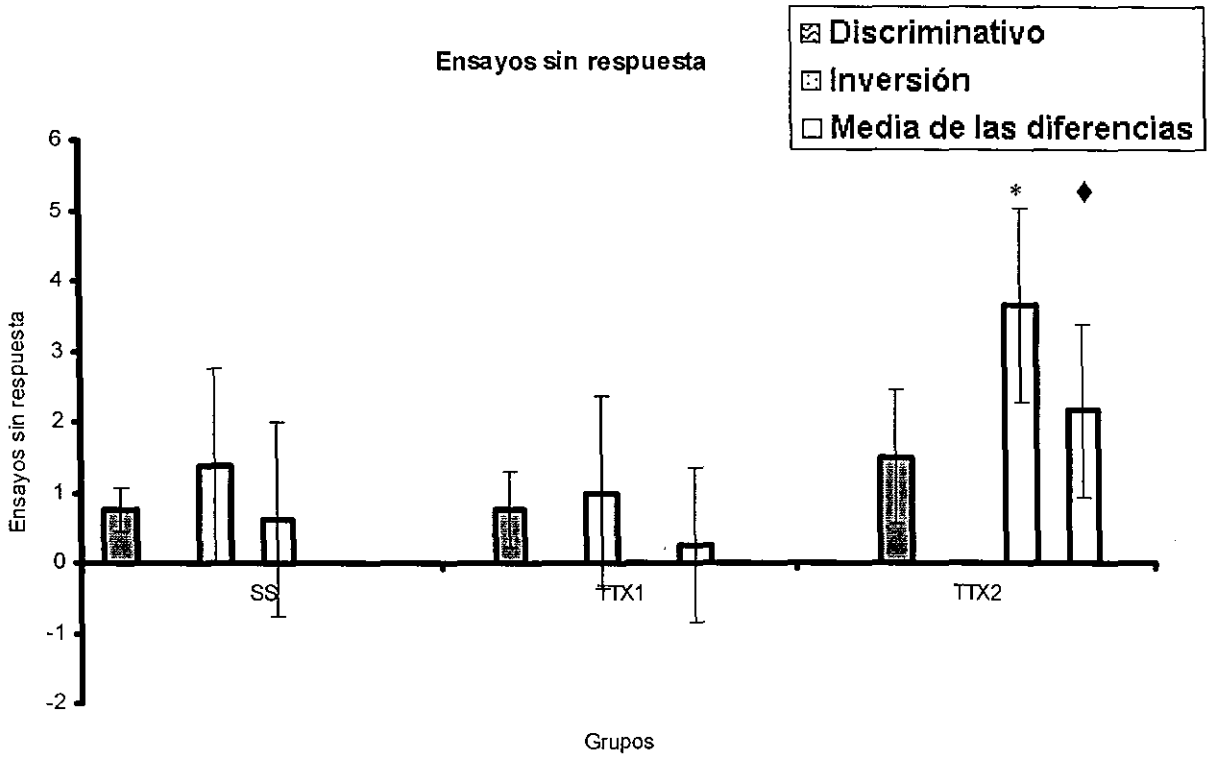

Fig. 8. Media $\pm$ 2 ES del número de ensayos en donde la rata no atravesó del corredor principal por grupo en cada una de las dos sesiones, aprendizaje discriminativo y aprendizaje de inversión.
* $p < 0.05$ significativamente mayor respecto al aprendizaje de inversión del grupo SS y TTX1.
♦$p < 0.05$ diferencia significativa entre medias del mismo grupo donde en aprendizaje de inversión los sujetos tienen un menor número de respuestas correctas respecto a aprendizaje discriminativo.

Efecto de la TTX sobre las latencias de salida de los sujetos durante el aprendizaje discriminativo y el de inversión

También se evaluaron las latencias de salida del compartimento inicial en segundos por cada una de las dos sesiones en cada grupo (Fig. 9 y 10).

Para la condición de aprendizaje discriminativo, no se encontraron diferencias significativas entre los grupos al compararlos ensayo por ensayo con una prueba no paramétrica de Kruskall-Wallis (Fig. 9).

En lo que concierne a las latencias de salida durante la condición de aprendizaje de inversión, sólo se encontraron, con la prueba Kruskall-Wallis, diferencias significativas entre los grupos, al compararlos ensayo por ensayo, en los ensayos cuatro ($H=9.72$; $p=0.0078$) y cinco ($H=11.07$; $p=0.004$). Los resultados de la aplicación de la prueba U de Mann Whitney mostraron que los sujetos del grupo TTX2 tuvieron una mayor latencia de salida respecto a los sujetos del grupo TTX1 en el ensayo cuatro ($U=23$; $p=0.0032$); y una mayor latencia de salida con respecto a ambos grupos en el ensayo cinco: entre SS y TTX2 ($U=32$; $p=0.0179$), y entre TTX1 y TTX2 ($U=22$; $p=0.003$) (Fig. 10).

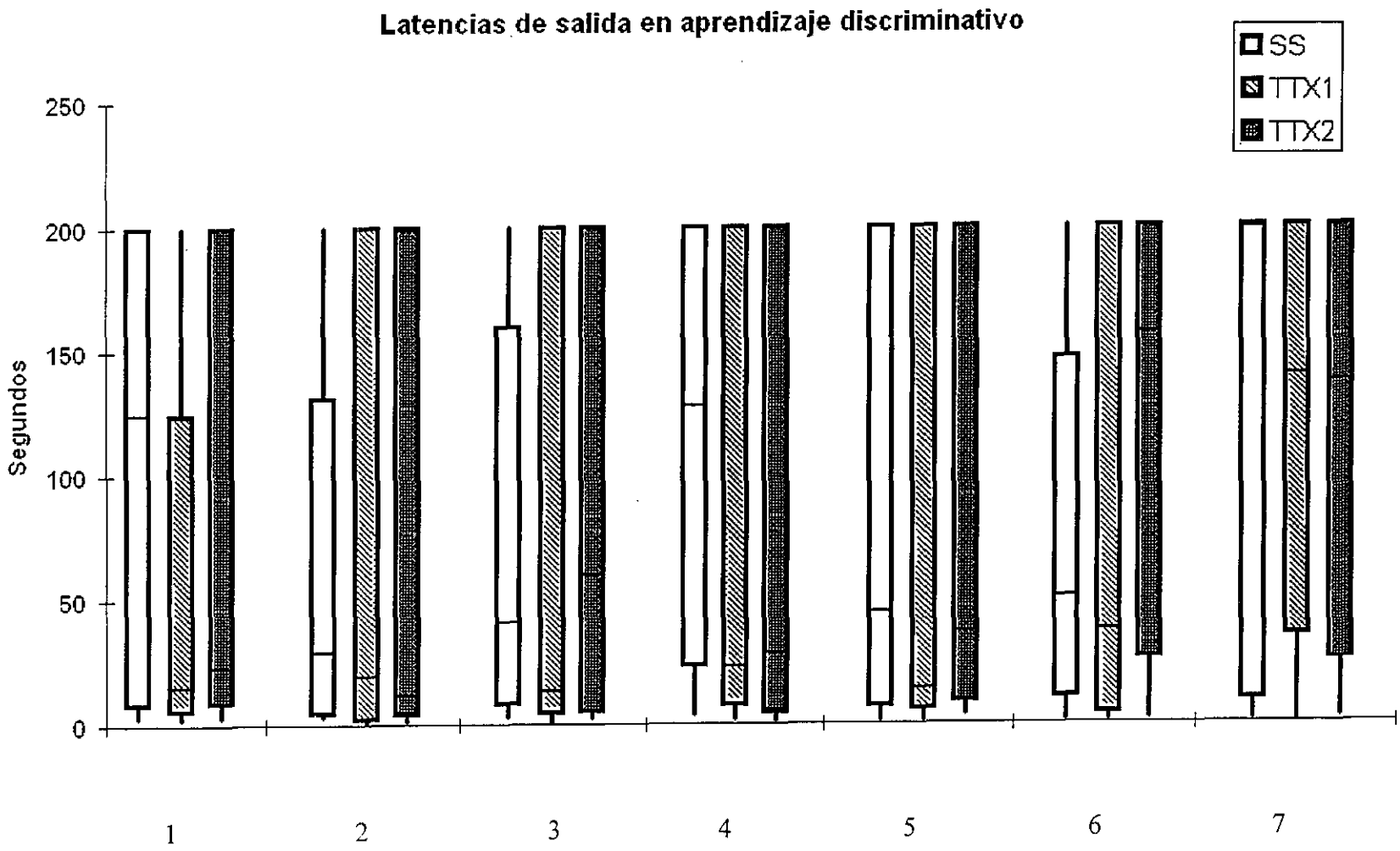

Fig. 9. Las cajas de Tukey indican la mediana, rangos intercuartiles y límites inferior y superior de las latencias de salida por grupo en cada ensayo de la condición de aprendizaje discriminativo.

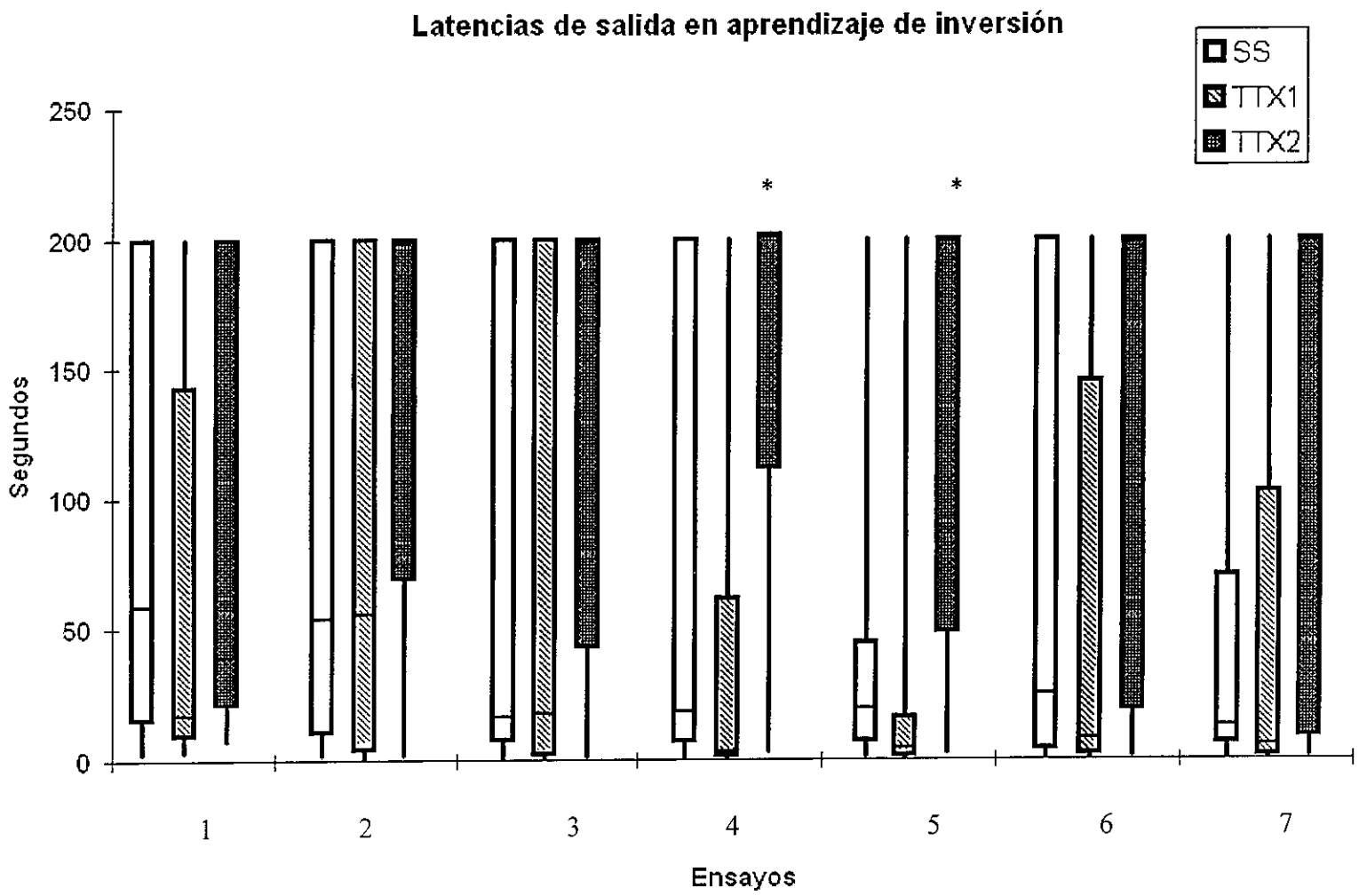

Fig. 10. Las cajas de Tukey indican la mediana, rangos intercuartiles y límites inferior y superior de las latencias de salida por grupo en cada ensayo de la condición de aprendizaje de inversión.

* $p < 0.05$ significativamente mayor respecto a la latencia de salida del grupo SS y/o del grupo TTX1.

Efecto de la TTX sobre el tiempo de recorrido del corredor principal de de los sujetos durante el aprendizaje discriminativo y el de inversión

Finalmente, se registró el tiempo de recorrido del corredor principal del laberinto en cada ensayo.

No se encontraron diferencias significativas en el tiempo en segundos que tardaron las ratas de los tres grupos en atravesar el corredor principal durante la condición del aprendizaje discriminativo al compararlos ensayo por ensayo (Fig. 11).

En lo que respecta al tiempo de recorrido del corredor principal durante la condición de aprendizaje de inversión, con la prueba Kruskall-Wallis sólo se encontraron diferencias significativas en el tiempo en segundos que tardaron las ratas de los tres grupos en atravesar el corredor principal durante los ensayos tres ($H=7.98$; $p=0.0185$), cuatro ($H=10.35$; $p=0.0057$) y cinco ($H=9.62$; $p=0.0082$). De acuerdo a los resultados de la aplicación de la prueba U de Mann Whitney, estas ocurrieron entre TTX1 y TTX2 en el ensayo tres ($U=28$; $p=0.0011$); entre SS y TTX2 ($U=31$; $p=0.0124$) y TTX1 y TTX2 ($U=22$; $p=0.0026$), en el ensayo cuatro; y entre SS y TTX2 ($U=29$; $p=0.0109$) y TTX1 y TTX2 ($U=27$; $p=0.0077$, en el ensayo cinco (Fig. 12).

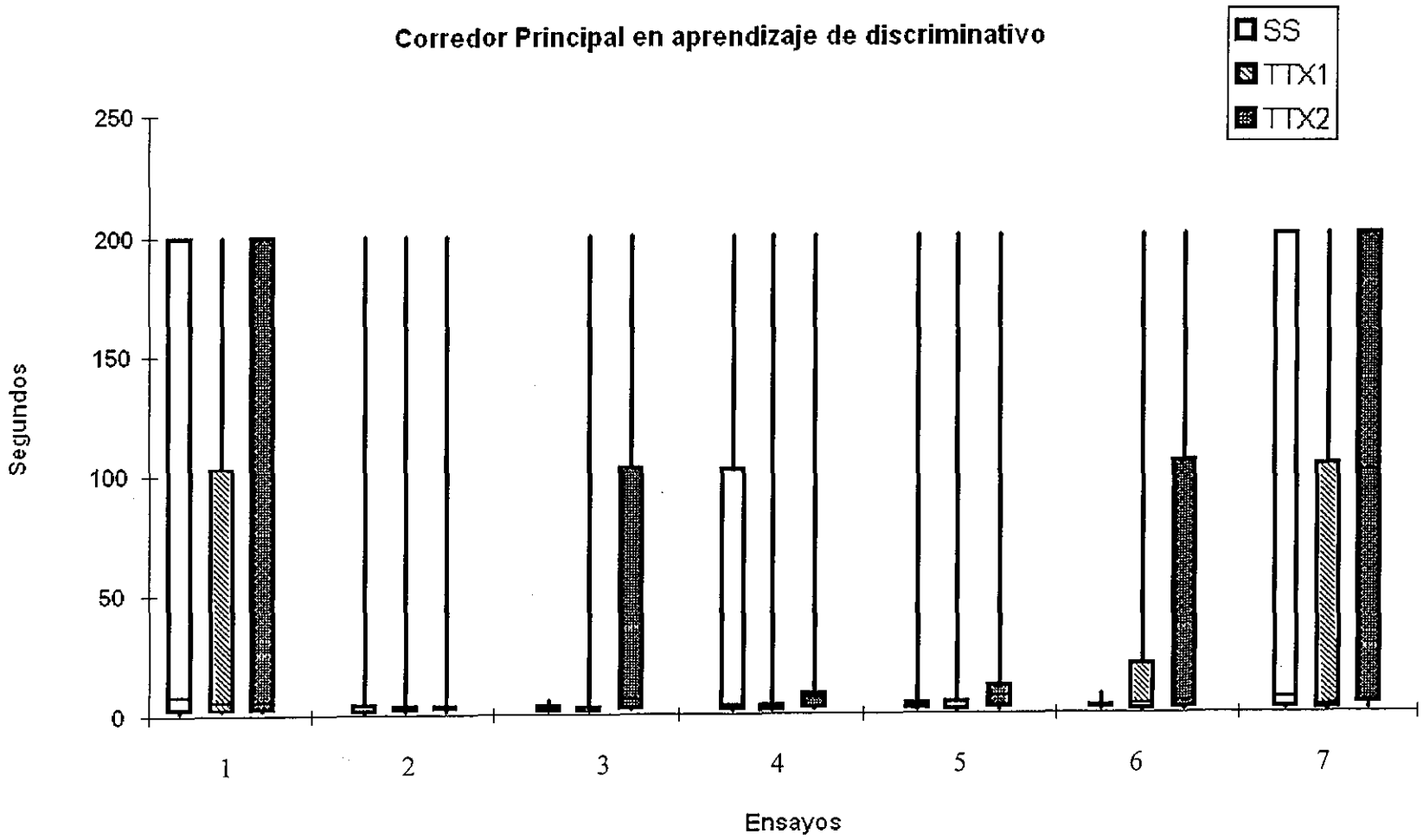

Fig. 11. Las cajas de Tukey indican la mediana, rangos intercuartiles y límites inferior y superior del tiempo de recorrido del corredor principal por grupo en cada ensayo de la condición de aprendizaje de discriminativo.

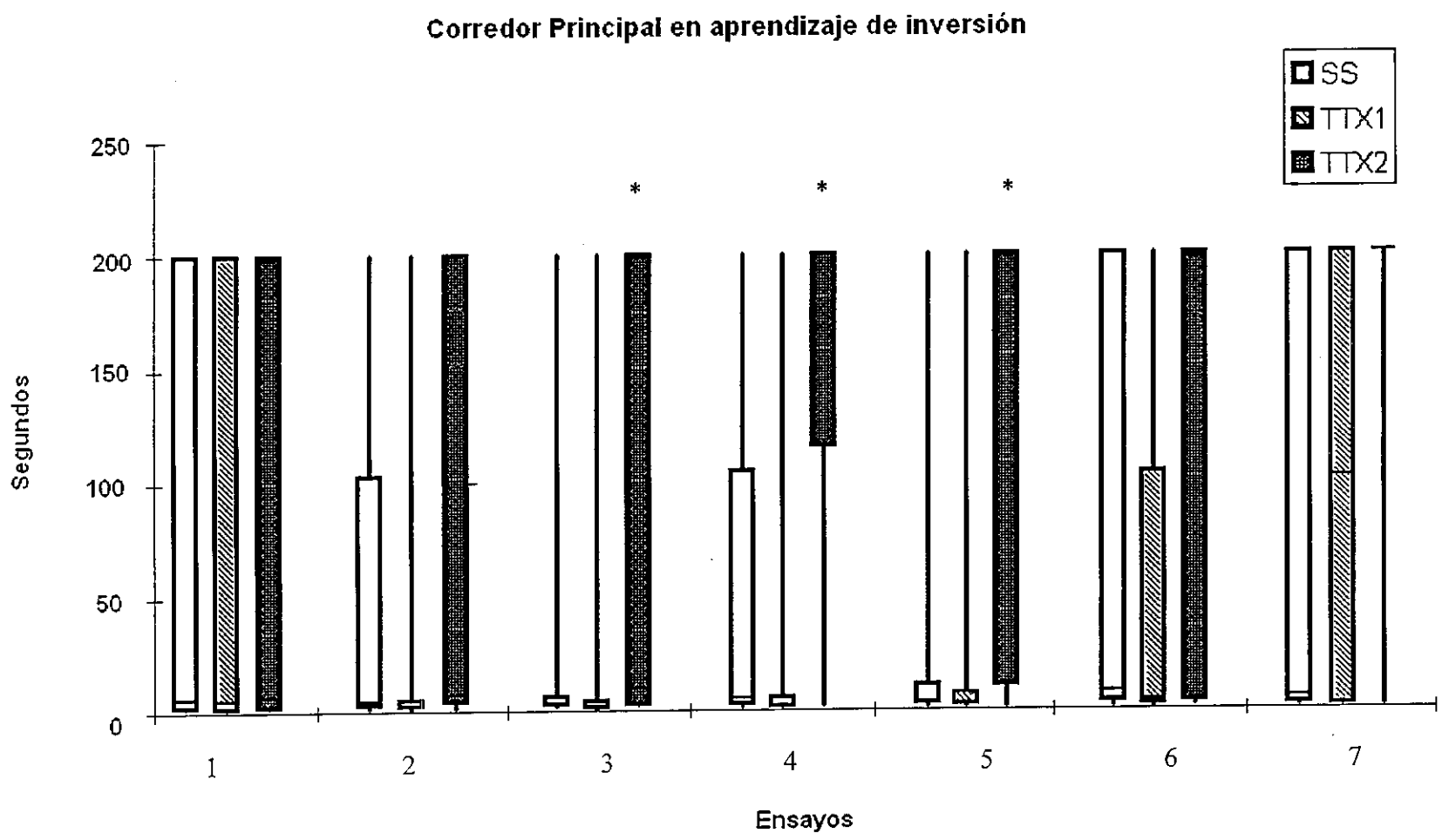

Fig. 12. Las cajas de Tukey indican la mediana, rangos intercuartiles y límites inferior y superior del tiempo de recorrido del corredor principal por grupo en cada ensayo de la condición de aprendizaje de inversión.
* $p < 0.05$ significativamente mayor respecto al tiempo de recorrido del grupo SS y/o del grupo TTX1.

VIII. Discusión

Los resultados del presente estudio parecen apoyar la vasta bibliografía acerca del papel preponderante que la COF juega en el aprendizaje de inversión. La inactivación de esta área de la CPF imposibilitó a los sujetos experimentales que recibieron bilateralmente la dosis más alta de TTX para desarrollar dicha tarea de la manera como lo lograron hacer los sujetos que no fueron sometidos a inactivación de la COF. Más aún, su respuesta difirió significativamente incluso del desempeño del grupo que recibió una dosis de TTX menor.

Tal divergencia en el desempeño entre los grupos que recibieron TTX nos permite afirmar que la dosis de 2.5 ng/0.5 µl no tuvo el efecto de inactivación de la COF deseado. Estos datos coinciden con el estudio de Vafaei y Rashidy-Pour (2004), quienes reportaron que se necesita una dosis de TTX superior a 5 ng/0.5 µl para obtener la inactivación cortical deseada. Una dosis similar o incluso mayor ha sido ya usada en otros estudios con éxito, aunque no en COF sino en el HIPP (Lorenzini y cols., 1997a; 1997b; 1999; Cimadevilla y cols., 2001), el cerebelo (Sacchetti y cols., 2002), otras áreas de la neocorteza (Baldi y cols., 2000; Bermudez-Rattoni y cols., 2001), y la AMG (Lorenzini y cols., 1999). Sin embargo, con base en los resultados mostrados, parece no existir un efecto de deterioro significativo de la TTX, a ninguna de estas dosis, sobre la ejecución motora de las ratas.

La disminución de la habilidad para realizar el aprendizaje de inversión, sin afectar el aprendizaje discriminativo, no parece ser consecuencia del efecto temporal de la TTX, ya que en este estudio la diferencia temporal entre la fase del

aprendizaje discriminativo y la de inversión fue de apenas media hora y en una sola sesión para disminuir el riesgo del efecto acumulado de la administración de la TTX. Tampoco podría atribuirse a la posibilidad de que la TTX alcanzó un mayor efecto cuando la rata se encontraba en la fase de aprendizaje de inversión y un menor efecto cuando se hallaba en la fase de aprendizaje discriminativo debido a que la administración de la TTX se dio aproximadamente una hora antes del inicio de la fase de aprendizaje discriminativo tomando en cuenta los reportes acerca de que el efecto máximo de la TTX ocurre aproximadamente a los 20 minutos a partir de su administración y que este efecto máximo se mantiene durante más de 80 minutos (Bohenke y Rasmusson, 2001), y prosigue hasta por 120 o 240 minutos (Ali Vafaei y Rashidy-Pour, 2004).

Este disminución en la habilidad para realizar el aprendizaje de inversión, de manera contraria a lo esperado de acuerdo a los reportes de diversos estudios que van desde pacientes con lesión (Levine y cols., 1999), o en ratas bajo diversos paradigmas de aprendizaje (Mobini y cols., 2002; McAlonan y Brown, 2003; Chaudasama y Robbins, 2003); no pareció generar, en los sujetos con inactivación de COF, una conducta de perseveración de la respuesta aprendida durante la fase de inversión del aprendizaje.

De acuerdo a los presentes hallazgos, no nos parece posible atribuir la dificultad para llevar a cabo el aprendizaje de inversión de manera exclusiva a una falla en la inhibición de la respuesta, como paso requerido para la regulación posterior bajo control de la COF, que generaría una inflexibilidad conductual como lo proponen Morén (2002) y Morén y Balkenius (2002), o que daría paso a la aparición de la conducta perseverativa con características de impulsividad

(Chaudasama y Robbins, 2003; Mobini y cols., 2002; McAlonan y Brown, 2003; Levine y cols., 1999) porque en este estudio, las ratas no presentaron la perseveración de respuestas incorrectas, que se esperaría de acuerdo con esta propuesta, como consecuencia del fallo en la inhibición de la conducta preponderante aprendida.

Podemos recurrir entonces al argumento desarrollado por Schoenbaum y cols. (2003a; expuesto ya en el apartado de antecedentes), con respecto a la necesidad de que la aparición de la falla en la inhibición de la respuesta, producto de la lesión en COF, debería ser constante en todas las circunstancias para que pudiésemos argüir que es la función inhibitoria propia de la COF la responsable de la disminución de las respuestas correctas durante la inversión. Al no presentarse la perseveración de las respuestas incorrectas, no parece ser plausible, por tanto, concluir que el papel primordial jugado por la COF es el de la inhibición de la respuesta aprendida como producto de la asociación establecida a nivel de la AMG entre el estímulo y el valor incentivo.

De manera adicional, no hemos encontrado reportes que muestren la existencia de conexiones inhibitorias de la COF a la AMG. Lo cual no significa de ningún modo que estas conexiones no existan ni mucho menos se niega la posibilidad de que uno de los efectos modulatorios que estén presentes en la conectividad entre la COF y la AMG sea la inhibición de la primera a la segunda estructura a través de conexiones inhibitorias indirectas. Sólo apunta a que no podemos concluir que sea este el papel fundamental de la conectividad establecida entre la COF y la AMG durante el fenómeno de aprendizaje de inversión durante una tarea sexualmente motivada.

Como hemos visto en el apartado de resultados, la ausencia de respuestas de los sujetos con inactivación de la COF fue el fenómeno que sustituyó a las respuestas correctas en la fase de inversión. Este interesante hallazgo nos remite a la división, ya comentada en los antecedentes del presente trabajo, de las funciones que Öngur y Price (2000) definen de manera acertada para la COF, como una alternativa a la propuesta de su rol inhibitorio: la asociación sensorial y motora, y la de guía de las conductas instrumentales; ya que estas dos funciones representan, en síntesis, los principios de dos propuestas contemporáneas contrapuestas: por un lado, las propuestas de E. Rolls y cols. (Rolls, 1999, 2000, 2004; Rolls y cols., 2003; Rolls y Treeves, 2001), y de A. Damasio (Damasio y cols., 1994; Bechara, Damasio y Damasio, 2000); mientras que por el otro, estaría la propuesta de Schoenbaum (Schoenbaum y cols., 1999, 2000, 2001, 2002, 2003a, 2003b, 2003c).

Esta presencia de una disminución de la habilidad para realizar el aprendizaje de inversión sin deterioro significativo del aprendizaje discriminativo, parece ser evidencia a favor de la propuesta de Schoenbaum y cols. (1999, 2000, 2001, 2002, 2003a, b, c), la cual menciona que las neuronas de la COF participan de manera importante en la codificación de las asociaciones entre señales del medio ambiente y una recompensa que permitirían que dichos estímulos del medio predigan la aparición del incentivo. Tal codificación proveería una base para los procesos psicológicos en los cuales las representaciones de las recompensas son requeridas para guiar la conducta. Más aún, la eliminación de dicha representación podría dar cuenta de la disminución de las respuestas correctas producida en monos luego del daño al circuito AMG-COF, de manera

que el sujeto no tendría posibilidad de recibir una guía adecuada proveniente del valor incentivo modificado de las recompensas esperadas (Baxter y cols., 2000).

Una función comparable del circuito AMG-COF en los humanos podría explicar ciertas similitudes observadas en pacientes con daño en la corteza prefrontal ventromedial y en la AMG. Por ejemplo, en las tareas de apuesta-riesgo (denominadas en inglés como "gambling-tasks"), los pacientes con daño en cualquiera de estas regiones del encéfalo fallan al utilizar información sobre la llegada de recompensas y penalidades para tomar decisiones adaptadas (Bechara y cols., 2000). La falta de una guía efectiva para la acción bien podría contribuir a la deficiencia observada, puesto que la representación deficiente puede verse alterada al existir destrucción del área donde está codificada, es decir, la COF; o al codificar una representación deficiente debido a que la información proporcionada por la AMG no estaría bien adaptada si la COF estuviese dañada (Schoenbaum y cols., 2003c). Esto es, que la afectación específica ocurriría durante el aprendizaje de inversión y no durante la solución en aprendizaje discriminativo, por dos razones:

1) Por problemas de espacio, es decir, debido a que las pocas zonas de la COF que probablemente aún disparan para codificar el estímulo, se ocuparon ya de codificar la relación aprendida durante esa primera fase discriminativa y, no existe espacio para codificar las nuevas relaciones establecidas en la fase de inversión (Schoenbaum y cols. 2003c).

2) Debido a que las nuevas asociaciones, entre señales del medio y aparición del incentivo, planteadas durante la etapa de inversión no llegan a ser aprendidas, básicamente existe una imposibilidad para poder recurrir a estas y

utilizarlas como guía de la conducta y solución a la tarea (Schoenbaum y Setlow, 2001).

Sin embargo, la ausencia de las respuestas en la etapa de inversión de este estudio, parecería más relacionada con una baja de motivación al dañar la COF y sería evidencia favorable a la propuesta de Rolls (Rolls, 1999, 2000, 2004; Rolls y Treeves, 2001; Rolls y cols., 2003), la cual menciona que la COF parece más relacionada con la asignación del valor incentivo a las señales provenientes del medio relacionadas con la obtención de una recompensa. Rolls y Treeves (2001) han mostrado que muchas neuronas de la COF en primates responden selectivamente cuando a los sujetos se les presentan estímulos que predicen la entrega de un refuerzo en un ensayo, y han encontrado también que la activación de estas neuronas refleja la preferencia relativa del primate por recompensas asociadas, de ahí, su propuesta de que la COF constituiría una red asociadora de dos tipos de patrones de activación que estarían codificando, por un lado, información sobre reforzadores primarios (en particular la estimulación de tipo olfativo, somatosensorial y gustativo), y por otro, información proveniente de la estimulación auditiva o visual a la cual, la COF asignaría un valor incentivo trasladado desde los reforzadores primarios para convertirlos en reforzadores secundarios. En el presente estudio, suponemos que la estimulación olfativa y somatosensorial proveniente de la hembra receptiva constituye la fuente de reforzadores primarios para la rata macho que ha interactuado sexualmente con dicha hembra receptiva y que puede olerla durante el transcurso de todo el experimento, mientras que la estimulación auditiva y visual (concretamente de orientación visoespacial) constituye la fuente de reforzadores secundarios cuya

asignación de valor incentivo ocurriría en el transcurso de los ensayos de cada condición. Por tanto, el hecho de que ocurra, hacia los últimos ensayos, una ausencia de respuestas de parte de la rata macho podría darnos razones para pensar que para los sujetos de este estudio ha disminuido el valor incentivo de los reforzadores secundarios, en concreto, de las señales provenientes del laberinto en "T" que orientarían al sujeto hacia la obtención de su recompensa. Esta presunción, sin embargo, parecería dejar irresuelta la pregunta de por qué esa baja de motivación no ocurre desde la presentación del incentivo en el aprendizaje.

Siguiendo la propuesta de Rolls y Treeves (2001), ello podría deberse a que existen otras estructuras con un nivel más básico de asociación entre reforzadores primarios y posibles reforzadores secundarios, como es el caso de la AMG. Bajo esta premisa, la AMG sería la encargada de realizar, en un primer momento, una asociación entre estímulos o situaciones neutras (generalmente novedosas y sin posesión de valor incentivo) y reforzadores primarios, es decir, generaría una asignación de valor incentivo para los estímulos neutros a fin de convertirlos en reforzadores secundarios, cuya codificación sería enviada a la COF para que esta corteza, que contaría con representaciones mucho más complejas (provenientes del procesamiento más elaborado llevado a cabo por diversas áreas de la neocorteza), realizara la confirmación de esta asignación o su revaloración incentiva. Por esto, la presencia de una disminución de la habilidad para desarrollar el aprendizaje de inversión y no el aprendizaje discriminativo vendría dada por las siguientes razones:

1) Porque las asociaciones necesarias para el aprendizaje discriminativo son desarrolladas por la AMG, pues son principalmente las neuronas de esta estructura las encargadas de realizar la asociación entre estímulos neutros novedosos y reforzadores primarios (Rolls y Treeves, 2001).

2) Porque las asociaciones realizadas por la AMG son menos flexibles mientras que la COF es la estructura encargada de dotar de reevaluaciones mucho más rápidas y enlazar nuevas asociaciones entre estímulos ya reforzados (reforzadores secundarios) y reforzadores primarios (Rolls y Treeves, 2001).

Ello no implicaría, como varios estudios lo han confirmado (Schoenbaum y cols., 1999; 2003a), que aún con daño en la COF, las asociaciones requeridas en una tarea de aprendizaje de inversión no se realicen, sin embargo, se logran con mayor dificultad o en un numero mayor de ensayos, y que dado el limitado número de ensayos a que tuvieron posibilidad los sujetos del presente experimento, no pudimos observar si, en efecto, con un número mucho mayor de ensayos, hubiesen realizado el aprendizaje de inversión de manera similar a los sujetos sin daño en la COF.

Sin embargo, es probable que la prevalencia de ausencia de respuestas en lugar de perseveraciones sea debida, al menos en parte, al tipo de variable utilizada en este estudio, es decir, a la variable de motivación sexual, tan distinta a la de hambre o sed utilizadas en los estudios mencionados.

La motivación sexual, al no ser una variable vital para los individuos parecería carecer de las señalizaciones neurales suficientes para obligar a los sujetos a obtener su reforzador. Esta carencia permitiría que fuese más plausible la aparición de ausencias de respuesta en lugar de la típica perseveración que ha

sido descrita en experimentos con animales sometidos a tareas que impliquen aprendizaje de inversión con incentivos de comida o bebida.

Otro resultado interesante en este trabajo es que las latencias de salida y el tiempo de recorrido en el corredor principal de los sujetos de los distintos grupos no presentaron diferencias significativas en el aprendizaje discriminativo, pero sí en el aprendizaje de inversión. Estas diferencias entre grupos no ocurrieron en todos los ensayos sino sólo en los ensayos cuarto y quinto. El aumento significativo en el tiempo registrado en ambas variables para los sujetos con inactivación de la COF, con respecto a los que permanecieron con la COF activada, (contrario a lo esperado debido al reporte de impulsividad de los sujetos con daño en la COF de Bechara, y cols., 2000; Bohn y cols., 2003), no ocurrió durante los primeros ensayos; sino hasta los ensayos mencionados, pero de manera interesante, tal diferencia tampoco se conserva hasta los últimos ensayos. Existe, al parecer, un aumento de las latencias de salida y del tiempo de recorrido de todos los grupos, sin embargo, parece también que ese aumento es a cada ensayo un poco mayor para los sujetos con la COF inactiva. Esto podemos interpretarlo como un decremento en la motivación para todos los grupos, ya que a medida que transcurrieron los ensayos, se elevaron las latencias de salida y el tiempo de recorrido. Sin embargo, para el grupo TTX2, se observó este decremento de la motivación para continuar con la tarea más pronto con respecto a los otros dos grupos. Esa caída de la motivación representada por los aumentos en las latencias y tiempos de recorrido en todos los grupos alcanzó un nivel máximo o superior hacia los últimos ensayos, sobre todo de la fase de inversión.

El grupo TTX2, sin embargo, parece haber llegado desde los ensayos cuarto y quinto a dicho nivel máximo y no esperar hasta el ensayo siete.

Así pues, el tratar de encajar nuestros resultados a una determinada teoría del funcionamiento de la COF parece complicado en virtud de que efectivamente, la inactivación de esta área cortical parece provocar algunos efectos que pueden explicarse mejor por la teoría descrita por Schoenbaum, en tanto que otros efectos son más adecuadamente explicados por la teoría de Rolls.

De tal forma que asignar roles demasiado estrechos en términos de procesamiento y funcionalidad de la COF, con límites demasiado marcados entre procesamiento emocional o de asignación de valor incentivo y cognitivo o ejecutivo lo consideramos forzado, sobre todo porque la posición de la COF en los eventos procesados determinada por su enorme cantidad de interconexiones con otras estructuras, y por la funcionalidad y características de esas interconexiones, parecería indicarnos que dicha estructura juega papeles conjugados que quizá hacen coincidir dentro de procesamientos en paralelo a aquellos aspectos cognitivos que permiten la guía de las respuestas que ayudan a la resolución de la tarea a partir de la codificación de las señales del medio, con los aspectos emocionales derivados de la asignación de valor incentivo a determinadas señales presentes en la circunstancia de reforzamiento

IX. CONCLUSIONES

Con base en los resultados y la discusión, del presente estudio podemos concluir que:

1) La dosis de TTX requerida para generar un efecto de inactivación de la COF en ratas macho de la cepa Wistar debe ser al menos igual a 5 ng/0.5 µl.
2) La dosis utilizada de TTX (5 ng/0.5 µl), para inactivar la COF no genera un deterioro significativo de la conducta motora espontánea de la rata macho de la cepa Wistar.
3) La inactivación de la COF con TTX no genera decremento significativo en la habilidad de la rata macho para desarrollar una tarea de aprendizaje discriminativo de la misma manera que lo hace una rata macho con la COF activa.
4) La inactivación de la COF con TTX genera decremento significativo en la habilidad de la rata macho, de la cepa ya mencionada, para desarrollar una tarea de aprendizaje de inversión de la misma manera que lo hace una rata macho con la COF activa.
5) Este decremento en la habilidad de las ratas macho con la COF inactiva para desarrollar una tarea de aprendizaje de inversión de la misma manera que ratas macho con la COF activa, no parece generar

conductas perseverativas en los sujetos inactivados en COF cuando la recompensa es una interacción sexual con una rata hembra receptiva.

6) Ante el tipo de recompensa sexual lo que aparece es una ausencia de la respuesta, durante la fase de inversión, del sujeto con inactivación en la COF, después de unos pocos ensayos en que al realizar la misma conducta que ahora no es recompensada, no tiene acceso al incentivo.

7) La participación de la COF en el aprendizaje de inversión podría consistir en que juega un papel importante tanto a nivel de los procesos cognitivos y de flexibilidad de las respuestas, como a nivel de los procesos motivo-emocionales implicados.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agmo, A. (1999). Sexual motivation-an inquiry into events determining the ocurrence of sexual behavior. *Behavioral Brain Research* 105(1):129-150.

Baxter, M., Parker, A., Lindner, C.C., Izquierdo, A. y Murray, E.A. (2000). Control of response selection by reinforcer value requieres interaction of amygdala and orbital prefrontal cortex. *The Journal of Neuroscience* 20(11):4311-4319.

Baldi, E., Lorenzini, A., Sacchetti, B., Tassoni, G. Y Bucherelli, C. (2000). Effects of coupled perirhinal cortex and medial septal area, fimbria-fornix, entorhinal cortex tetrodotoxin inactivations on passive avoidance consolidation in the rat. Neuroscience letters 280: 91-94.

Bermudez-Rattoni, F., Introini-Collison, I. Y McGaugh, J. L. (1991). Reversible inactivation of the insular cortex by tetrodotoxin produces retrograde and anterograde amnsesia for inhibitory avoidance and spatial learning. *PNAS* 88: 5379-5382.

Bechara, A., Damasio, H. y Damasio A. R. (2000). Emotion, decision making and the orbitofrontal cortex. *Cerebral cortex* 10: 295-307.

Bessareo, V., De Luca, M.A., Di Chiara, G. (2002). Differential expresión of motivational stimulus properties by dopamine in nucleus accumbens shell versus core and prefrontal cortex. *The Journal of Neuroscience* 22(11):4709-4719.

Bindra, D. (1974). A motivational view of learning, performance and behavior modification. *Psychological Review* 81(3): 199-213.

Bohn, I., Gietler, Ch. y Hauber, W. (2003). Orbital prefrontal cortex and guidance of instrumental behavior of rats by visuospatial stimuli predicting reward magnitude. Learning & Memory 10: 177-186.

Cimadevilla, J., Wesierka, A., Fenton, A. Y Bures, J. (2001). Inactivating one hippocampus impairs avoidance of a stable room-defined place during dissociation of arena cues from room cues by rotation of the arena. *PNAS*, 98 (6): 3531-3536.

Clark, L., Cools, R. y Robbins, T. (2004). The neuropsychology of ventral prefrontal cortex: Decision-making and reversal leraning. Article in Press.

Chaudasama, Y., y Robbins, T. (2003). Dissociable contributions of the orbitofrontal and infrlimbic cortex to pavlovian autoshaping and discrimination reversal learning: further evidence for the functional heterogeity of the rodent frontal cortex. *The Journal of Neuroscience* 23(25): 8771-8780.

Damasio, A. R. (1994). Descartes' error: emotion, reason and the human brain. New York: Grosset/Putnam.

Elliot, R. Dolan, R. y Frith, Ch. (2000). Dissociable functions in the medial and lateral orbitofrontal cortex: Evidence from human neuroimaging studies. *Cerebral Cortex* 10: 308-317.

Feenstra, M. G. Y De Bruin J. P. (2004). Strategy switching and the rat prefrontal cortex. En: Otani, S. (Ed.). Prefrontal cortex. Boston: Kluwer Academic Publishers. Pp. 175-200.

Fernández-Espejo, E. (2000). ¿Cómo funciona el nucleus accumbens?. *Revista de Neurología* 30(9): 845-849.

Freedman, M., Black, S., Ebert, P. y Binns, M. (1998). Orbitofrontal function, object alternation and perseveration. Cerebral Cortex 8: 18-27.

Fuster, J. (1989). The Prefrontal Cortex. New York: Raven Press. Pp.1-31.

Gallagher, M., McMahan, R. y Schoenbaum, G. (1999). Orbitofrontal cortex and representation of incentive value in associative learning. *The Journal of Neuroscience* 19 (15): 6610-6614.

González Pimentel, R. y Hernández González, M. (2002). Aspectos motivacionales de la conducta sexual. En: Hernández González, M. (Ed.) Motivación Animal y Humana. México, D.F.: El Manual Moderno. Pp. 127-151.

Hernández González, M. (2001). Transición de la Motivación a la acción: bases neurales. En: Alcaraz, V., Gumá, E. (Eds.). Texto de Neurociencias Cognitivas. México, D.F.: El Manual Moderno. Pp. 51-80.

Hernández González, M. y Prieto Beracoechea, C. (2002). Un acercamiento a la motivación. En: Hernández González, M. (Ed.) Motivación Animal y Humana. Guadalajara: El Manual Moderno. Pp. 3-17.

Hernández González, M. (2002). Neurofisiología de los procesos motivacionales. En: Hernández González, M. (Ed.) Motivación Animal y Humana. Guadalajara: El Manual Moderno. Pp. 21-37.

Houk, J. C. (1997). Information processing in modular circuits linking basal ganglia and cerebral cortez. En: Houk, J., Davis, J., Beiser, D. Models of

Information Processing in the Basal Ganglia. New York: Bradford Book. Pp. 3-10.

Joseph, R. (1996) The Limbic system. En: Joseph, R. Neuropsychiatry, Neuropsychology and Clinical Neurosciences. E.U. : Williams & Williams. Pp. 161-205.

Levine, B., Freedman, M., Dawson, D., Black, S. y Stuss, D. (1999). Ventral frontal contribution to self-regulation: convergence of episodic memory and inhibition. *Neurocase* 5: 263-275.

Li, L., Shao, J. (1998). Restricted lesions to ventral prefrontal subareas block reversal but not visual discrimination learning in rats. *Physiology & Behavior* 65 (2): 371-379.

Lorenzini, A. Baldi, E., Bucherelli, C., Sacchetti, B. Y Tassoni, G. (1997a). Analysis of mnemonic processing by means of totally reversible inactivations. *Brain Research protocols* 1: 391-398.

Lorenzini, A. Baldi, E., Bucherelli, C., Sacchetti, B. Y Tassoni, G. (1997b). Role of ventral hippocampus in acquisition, consolidation and retrieval of rat's passive avoidance response memory trace. *Brain Research* 768: 242-248.

Lorenzini, A. Baldi, E., Bucherelli, C., Sacchetti, B. Y Tassoni, G. (1999). Neural Topography and chronology of memory consolidation: A review of functional inactivation findings. *Neurobiology of learning and memory* 71: 1-18.

Matthews, T.J., Grigore, M., Tang, L., Doat, M., Kow, L.M., Pfaff, D.W. (1997). Sexual reinforcement in the female rat. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior* 68: 399-410.

McAlonan, K., Brown, V. (2003). Orbital prefrontal cortex mediates reversal learning and not attentional set shifting in the rat. *Behavioural Brain Research* 146: 97-103.

Meisel, R., Sachs, D. (1994). The Physiology of male sexual behavior. En: Knobil, E., Neill, J. (Eds.) The Phsyiology of Reproduction. Second Edition. New York: Raven Press.

Moguenson, G. J., Jones, D.L., Yim, C.Y. (1980). From motivation to action: functional interface between the limbic system and the motor system. *Progress in Neurobyology* 14:69-97.

Mobini, I. S., Body, S., Ho, M., Bradshaw, C. M., Szabadi, E., Deakin, J. F. W., Anderson I. M. (2002). Effects of lesions of the orbitofrontal cortex on sensitivity to delayed and probabilistic reinforcement. *Psychopharmacology* 160: 290-298.

Morén, J. (2002). Emotion and Learning: A computational model of the amygdala. Lund: Lund University Cognitive Studies. Pp. 9-41.

O'Doherty, J. (2003) Cant't learn without you: Predictive value coding In orbitofrontal cortex requieres the basolateral amygdala. *Neuron* Previews 39: 731-733.

Öngur , D. y Price, J. (2000). The organization of networks within the orbiotal and medial prefrontal cortex of rats, monkeys and humans. *Cerebral cortex* 10: 206-219.

Paxinos, G. Watson, C. (1986) The rat brain in stereotaxic coordinates. Orlando: Academic Press.

Rolls, E. T. (1999). The brain and emotion. Oxford: Oxford University Press.

Rolls, E. T. (2000). The orbitofrontal cortex and reward. *Cerebral Cortex* 10:284-294.

Rolls, E. T. , Treeves, A. (2001). Neural Networks and Brain Function. Oxford: Oxford University Press. Segunda reimpresión.

Rolls, E. T., O'Doherty, J., Kringelbach, M., Francis, S., Bowtell, R. y McGlone, F. (2003). Representations of pleasant and painful touch in the human orbitofrontal and cingulate cortices. *Cerebral cortex* 13: 308-317.

Rolls, E. T. (2004). The functions of the orbitofrontal cortex. *Brain and Cognition* 55: 11-29.

Rose, J. y Woolsey, C. (1948). The orbital cortex and its connections with the mediodorsal nucleus in rabbit, sheep and cat. *Research Publications Association for Research in Nervous and Mental Disease*, 27: 210-232.

Sacchetti, B., Baldi, E., A. Lorenzini y Bucherelli, C. (2002). Cerebellar role in fear-conditioning consolidation. *PNAS* 99 (12): 8406-8411.

Schoenbaum, G. y Eichenbaum (1995). Information coding in the rodent prefrontal cortex. I. Single-neuron activity in orbitofrontal cortex compared with that in pyriform cortex. *Journal of Neurophysiology* 74 (2): 733-750.

Schoenbaum, G. Chiba, A. y Gallagher, M. (2000). Changes in functional connectivity in orbitofrontal cortex and basolateral amygdala during learning and reversal training. *The Journal of Neuroscience* 20 (13): 5179-5189.

Schoenbaum, G., Setlow, B. (2001). Integrating orbitofrontal cortex into prefrontal theory: Common processing themes across species and subdivisions. *Learning & Memory* 8: 134-147.

Schoenbaum, G., Setlow, B. y Gallagher M. (2002). The orbitofrontal cortex. En: Squire, L. y Schacter, D. (Eds.). Neuropsychology of Memory. New York: Guilford Press.

Schoenbaum, G., Setlow, B., Nugent, S., Saddoris, M., y Gallagher, M. (2003a). Lesions of orbitofrontal cortex and basolateral amygdala complex disrupt acquisition of odor-guided discriminations and reversals. *Learning & Memory* 10:129-140.

Schoenbaum, G., Setlow, B., Ramus, S. (2003b). A systems approach to orbitofrontal cortex function: recordings in rat orbitofrontal cortex reveal interactions with different learning systems. *Behavioural Brain Research* 146: 19-29.

Schoenbaum, G. Setlow, B., Saddoris, M. y Gallagher, M. (2003c). Encoding predicted outcome and acquired value in orbitofrontal cortex during cue sampling depends upon input from basolateral amygdala. *Neuron* 39: 855-867.

Schultz, W., Tremblay, L. y Hollerman, J. (2000) *Cerebral Cortex* 10: 272-283.

Toates, F. (1986). Motivational systems. Cambridge: Cambridge University Press. Pp. 6-10.

Tszchentke, T. (2000). The medial prefrontal cortez as a part of the brain reward system. *Amino Acids* 19: 211-219.

Uylings, H., Groenewegen, H., Kolb, B. (2003) Do rats have a prefrontal cortex?. *Behavioral Brain Research* 146: 3-17.

Vafaei, A. Rashidy-Pour, A. (2004). Reversible lesion of the rat's orbitofrontal cortex interferes with hippocampus-dependent spatial memory. *Behavioral Brain Research* 149: 61-68.

Valenstein, E. S. (1986). Great and desperate cures. New York: Basic Books, Inc. Publishers.

Winstanley, C., Theobald, D., Cardinal, R. y Robbins, T. (2004) Contrasting roles of basolateral amygdala and orbitotal cortex in impulsive choice. *The Journal of Neuroscience* 24(20): 4718- 4722.

Wirtshafter, D. y Asin, K. (1986) Discrimination learning and reversal following electrolytic lesions of the median raphe nucleus. Physiology & Behavior 37:213-219.

Wise, R.A., Bauco, P., Carlezon, W.A., Trojniar, W. (1992). Stimulation and drug reward mechanisms. En: Kalivas, P.W., Samson, H. *Anals of the New York Academic of Sciences* 654: 192-198.

Yonemori, M., Nishijo, H., Uwano, Tamura, R., Furuta, I., Kawasaki, Takashima, Y., Ono, T. (2000). Orbital cortex neuronal responses during an odor-based conditioned associative task in rats. Neuroscience 95(3): 691-703.

Zald, D. H., Won Kim, S. (2001). The orbitofrontal cortex. En: Sallowey, S.P. The frontal Lobes and Neuropsychiatry Illnes. New York: American Psychiatric Publishing. 33-69.

XI. ANEXOS

AI

Resultados del primer estudio piloto

Para cumplir con los dos objetivos particulares planteados en este trabajo era necesario determinar primeramente:

1) Si las hembras en estro eran incentivos adecuados para lograr que el macho ejecutara la tarea en un laberinto "T".
2) Evaluar si el número de ensayos al que sería sometida la rata bastaba para consolidar su aprendizaje.

Para ello se planteó realizar un estudio piloto con ratas macho sexualmente expertas e intactas. Para este estudio el grupo piloto estuvo constituido por 10 ratas macho de la cepa Wistar de aproximadamente tres meses de edad a los que se sometió al procedimiento especificado anteriormente (ver Metodología), con excepción de que el número de ensayos fue de cinco para cada sesión.

Los datos obtenidos de las diez ratas macho registradas en este piloto aparecen en la tabla 1. Encontramos que en la condición de aprendizaje, con excepción de la rata 7, todas prefirieron dirigirse al brazo en que se hallaba la hembra en estro en la mayoría de los cinco ensayos, es decir, aprendieron a solucionar en cinco ensayos el laberinto "T" para recibir su recompensa. Sin embargo, el aprendizaje invertido sólo lo realizaron seis de las diez ratas en este número de ensayos. Una presentación más clara de estos datos se tiene en la Figura 5.

No. de Rata	Condición	Promedio de Latencia de Salida (seg.)	Promedio de recorrido de corredor principal (seg.)	Hembra receptiva	Hembra No receptiva	No. de veces que cambió de brazo
1	Aprendizaje	1	4.6	5	1	1
	Inversión	1.6	4.6	3	3	1
2	Aprendizaje	3	5.6	3	3	1
	Inversión	7.6	6.4	2	3	0
3	Aprendizaje	0.6	2.6	4	1	0
	Inversión	1.6	2.3	4	2	1
4	Aprendizaje	1	3.4	3	2	0
	Inversión	0.4	3.2	4	1	0
5	Aprendizaje	13.6	16.3	4	1	0
	Inversión	10.8	5.2	3	2	0
6	Aprendizaje	3	4.5	3	2	0
	Inversión	5.6	10.45	0	3	0
7	Aprendizaje	2	5.44	1	1	0
	Inversión	5	12.9	1	0	0
8	Aprendizaje	23.8	5.3	4	1	0
	Inversión	8.4	4.8	2	3	0
9	Aprendizaje	58.8	8.1	3	2	0
	Inversión	54.5	22	0	3	0
10	Aprendizaje	50	87	3	2	0
	Inversión	21.3	40	0	3	0

Tabla 1. Puede observarse el tiempo, en promedio de los cinco ensayos, que cada rata tardó en salir del compartimento inicial luego de abrirse la compuerta; así como el número de ensayos en los cuales la rata macho prefirió dirigirse hacia la hembra receptiva o hacia la hembra no receptiva.

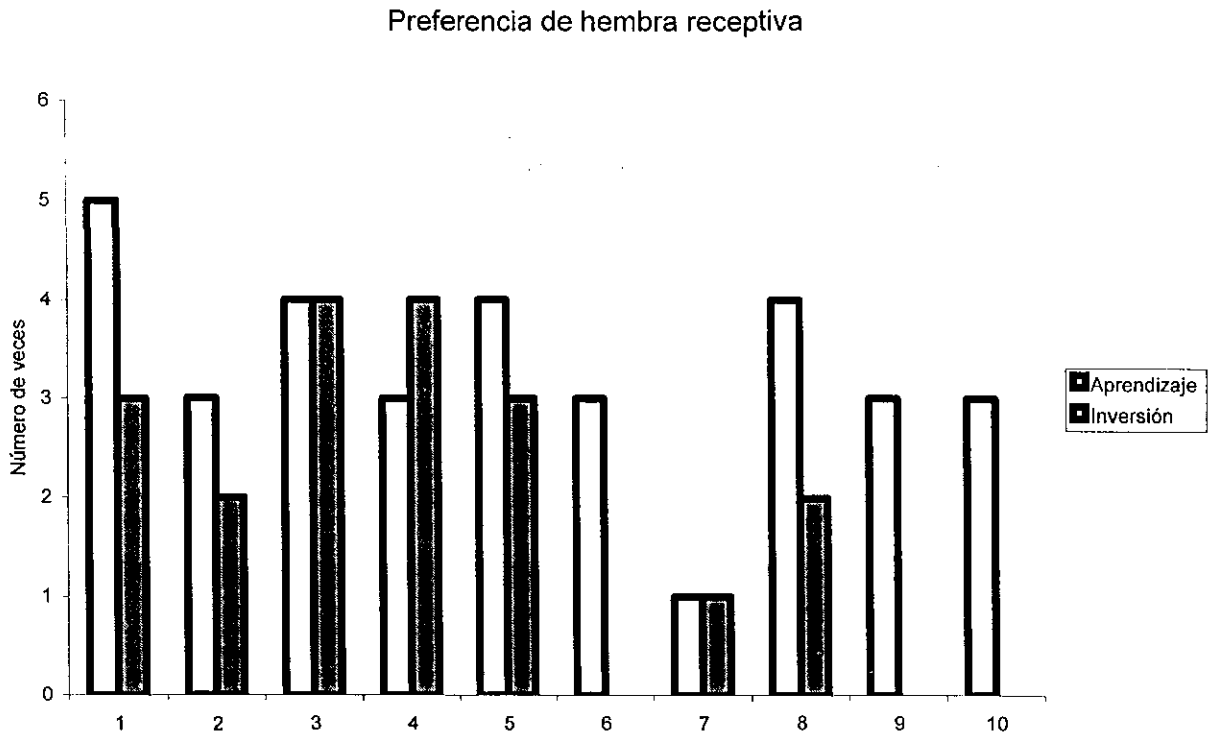

Figura 37. Se muestra el número de veces que la rata macho prefirió dirigirse al compartimento en donde se hallaba la rata hembra receptiva, es decir, el número de veces que resolvió la tarea como se esperaba en ambas sesiones: aprendizaje e inversión del incentivo. La rata 7 nunca pudo aprender en donde se encontraba la hembra receptiva, en tanto que las ratas 6, 9 y 10 no pudieron realizar el aprendizaje de inversión del incentivo.

Los datos anteriores nos permiten concluir con respecto al primer piloto que:

1. Una hembra receptiva, luego de que el macho haya interactuado sexualmente con ella hasta obtener una intromisión, representa un incentivo sexual adecuado para que las ratas macho sexualmente expertas recorran un laberinto "T" para obtener como recompensa interacción sexual.
2. La mayoría de los machos sexualmente expertos e intactos logran el aprendizaje de inversión del incentivo dentro de un laberinto "T" luego de 5 ensayos, (Fig. 37).

3. Es necesario elevar el número de ensayos en cada condición con el fin de determinar más adecuadamente los procesos de aprendizaje e inversión en un laberinto “T”.

AII

Resultados del segundo estudio piloto

Un indicador más, que se ha utilizado con frecuencia para calcular la motivación, es la latencia de salida de la rata macho de su compartimento y el tiempo que tarda en recorrer el laberinto para llegar a donde está la hembra en estro, sin embargo, era necesario descartar la posibilidad de que la sustancia que ha de inactivar la COF no tenga efectos en el componente motor de la conducta.

Fue necesario realizar otro piloto, esta vez de actividad motora en ratas macho intactas, pero con la infusión de la sustancia a utilizar en el experimento, la Tetrodotoxina (TTX).

Procedimos entonces a realizar la cirugía estereotáxica a 20 ratas macho con la finalidad de implantarles cánulas que permitieran la infusión de la TTX en la COF, según las coordenadas estereotáxicas del atlas de Paxinos y Watson (1986) en: + 3.20 mm. anterior a Bregma; $\pm$ 2.8 mm. lateral a la línea media, y con una profundidad de 4.2 mm. por debajo de la dura, de modo que las puntas de las cánulas quedaran 1 mm. por encima de la COF derecha e izquierda. Finalmente, las cánulas fueron fijadas al cráneo con acrílico dental.

Seis días después del implante, las ratas fueron infundidas con dos concentraciones distintas de TTX. Cinco ratas recibieron 2.5 ng./0.5 μl de sol. salina, cinco más recibieron 5 ng/0.5 μl de sol. salina; además de un grupo control (n = 10) infundido sólo con 0.5 μl de sol. salina.

Treinta minutos después de la infusión, fue registrada la actividad motora de las ratas en cajas con fotoceldas para detección del movimiento durante 1 hora.

Posterior a los registros de actividad motora, las ratas fueron sacrificadas y perfundidas a fin de extraer sus cerebros, mismos que fueron sometidos a un análisis histológico para verificar que la trayectoria de las cánulas efectivamente se dirigiera a la COF. En la Fig. 38 pueden observarse algunos de los cortes histológicos del cerebro de una de las ratas a las que se midió la actividad motora[1].

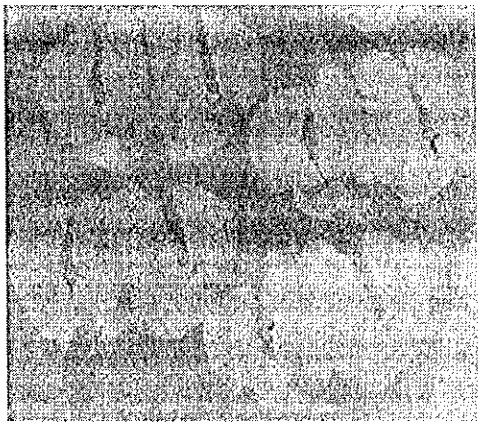

Fig. 38. Corte histológico del cerebro de una de las ratas implantadas, la rata 13. Puede observarse la trayectoria bilateral de las cánulas y cómo bajan aproximadamente 5 mm. por debajo de la dura, altura en la que se encuentra la COF, de acuerdo al atlas de Paxinos y Watson (1986).

[1] Este segundo piloto fue realizado en el mes de agosto del 2004 en el laboratorio de Aprendizaje y Memoria del Instituto de Neurobiología de la UNAM Campus Juriquilla. Para ello se contó con la ayuda de todo el personal de ese laboratorio, a quienes se agradece ampliamente. Sin embargo, lo anterior no hubiera sido posible sin el apoyo incondicionado de la Dra. Gina Lorena Quirarte quien además de la instrucción para la construcción e implante de las cánulas a las ratas macho, y del material requerido para la infusión de la TTX y el registro de la actividad motora, nos proporcionó todo el material requerido para el piloto; y a quien en particular agradecemos profundamente.

De las veinte ratas implantadas solamente en siete las trayectorias de las cánulas se dirigieron bilateralemente a la COF, ver tabla 2.

Rata	Coordenadas Antero-posterior		Estructuras	
	Izquierda	Derecha	Izquierda	Derecha
1	2.20 mm		Caudado-Putamen	
2	2.20 mm	3.20 mm	Fimbria	COF ventral
3	3.20 mm	3.20 mm	COF lateral	COF lateral
4	2.70 mm	2.20 mm	N. Accumbens	COF lateral
5	2.20 mm	3.20 mm	Caudado-Putamen	COF insulo-agranular
6	2.20 mm	3.20 mm	COF lateral	COF lateral
7	2.20 mm	2.20 mm	Caudado-Putamen	Área motora M1
8	3.20 mm	3.70 mm	COF ventral	COF lateral
9	2.20 mm	1.70 mm	COF lateral	Caudado-Putamen
10	1.20 mm	1.20 mm	Caudado-Putamen	Caudado-Putamen
11	3.20 mm	3.20 mm	COF lateral	COF lateral
12	2.70 mm	2.20 mm	COF insulo-agranular	Caudado-Putamen
13	3.70 mm	3.20 mm	COF lateral	COF lateral
14	3. 70 mm	3.70 mm	COF ventral	COF lateral
15	2. 70 mm	2. 70 mm	Fimbria	Fimbria
16	1.60 mm	1.70 mm	Caudado-Putamen	Caudado-Putamen
17	2.20 mm	2.20 mm	Caudado-Putamen	Caudado-Putamen
18	2.70 mm	2.70 mm	Fimbria	COF ventral
19	Fallecida	Fallecida	Fallecida	Fallecida
20	2.70 mm	2.20 mm	COF lateral	COF ventral

Tabla 2. Solamente siete ratas fueron implantadas correctamente en CPFo, tres en ganglios basales (GB) y la mayoría de manera mixta, con una cánula en ganglios y otra en CPFo.

ellas se logró llegar a las áreas de interés, también hubo varias ratas en las cuales la punta del electrodo quedó fuera de la COF.

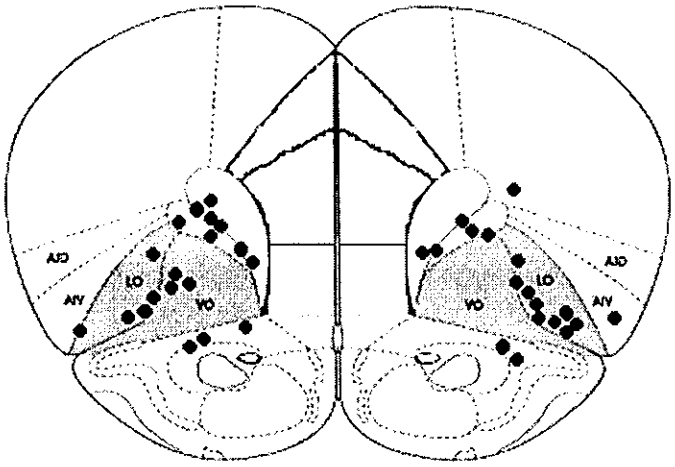

Figura 39. Esquema de un corte coronal de cerebro de rata a 3.2 mm. por delante de Bregma (modificado de Paxinos y Watson, 1986). Los puntos negros indican los lugares de infusión de las sustancias (TTX y solución salina) de las 19 ratas perfundidas.

Los resultados de las pruebas de actividad motora en las ratas infundidas en la COF, aparecen en la tabla 3.

Infusión	No. de rata	Actividad Horizontal	Actividad Vertical	Total de movimientos
Solución salina	3	7152	282	211
	8	6644	951	304
	11	5557	260	197
	20	2381	230	52
TTX	6	345	0	3
	13	1237	73	39
	14	4668	415	107

Tabla 3. Datos de actividad motora de ratas control y ratas con infusión de TTX en la COF. Los datos fueron obtenidos a través del programa VERSADAT versión 1.90 a partir del registro de actividad espontánea de la rata durante una hora en cajas de acrílico con fotoceldas.

Con respecto al segundo piloto puede concluirse que:

5. Puesto que la mayoría de las cánulas pareció quedar atrás de la COF, se propone realizar los implantes 3.70 mm. por delante de Bregma en lugar de

3.20, como se había planeado. A una altura de 3.5 mm. por debajo de la dura y a 2 mm. Lateral a la línea media.

6. El número de ratas implantadas en la COF fue muy bajo como para asegurar que en efecto la TTX infundida en esta área está afectando la actividad motora. A fin de poder comprobarlo, fue menester ampliar la muestra de ratas infundidas con TTX y evaluar su actividad motora.