



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA CELULAR

BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

**CONTRIBUCIÓN DE LAS CORTEZAS FRONTALES EN DECISIONES BASADAS
EN MEMORIAS GUSTATIVAS**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

SANDYBEL ÁNGELES DURÁN

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. FRANCISCO SOTRES BAYÓN
INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA CELULAR

COMITÉ TUTOR: DR. FEDERICO BERMÚDEZ RATTONI
INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA CELULAR

DR. OSCAR PROSPERO GARCÍA
FACULTAD DE MEDICINA

MÉXICO, D.F. MARZO, 2015



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA CELULAR
BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

**CONTRIBUCIÓN DE LAS CORTEZAS FRONTALES EN DECISIONES BASADAS
EN MEMORIAS GUSTATIVAS**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

SANDYBEL ÁNGELES DURÁN

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. FRANCISCO SOTRES BAYÓN
INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA CELULAR

COMITÉ TUTOR: DR. FEDERICO BERMÚDEZ RATTONI
INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA CELULAR

DR. OSCAR PROSPERO GARCÍA
FACULTAD DE MEDICINA

MÉXICO, D.F. MARZO, 2015

Dr. Isidro Ávila Martínez
Director General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Subcomité de Biología Experimental y Biomedicina en su sesión ordinaria, celebrada el día 19 de enero de 2015, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** de la alumna, **SANDYBEL ÁNGELES DURÁN** con número de cuenta **303050120** con la tesis "**Contribución de las cortezas frontales en decisiones basadas en memorias gustativas**", realizada bajo la dirección del **DR. FRANCISCO SOTRES BAYÓN**.

Presidente: DR. MARTHA LILIA ESCOBAR RODRÍGUEZ
Vocal: DR. GABRIEL ROLDÁN ROLDÁN
Secretario: DR. FEDERICO BERMÚDEZ RATTONI
Suplente: DR. JULIO MORAN ANDRADE
Suplente: DR. OSCAR PROSPERO GARCÍA

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 20 de enero de 2015.

M. del Coro Arriaga

DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA
COORDINADORA DEL PROGRAMA



c.c.p. Expediente del (la) interesado (a)

AGRADECIMIENTOS

La presente tesis fue posible gracias al Posgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM, haciendo extenso este agradecimiento a todo el personal que lo integra.

Agradezco el apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por haberme brindado los recursos necesarios para la realización de esta investigación (No. DE BECARIO 294497). A las instituciones que nos otorgaron el apoyo económico para la realización de la presente tesis: CONACyT (Proyecto 176639) y DGAPA-UNAM (IA200313).

A mi tutor principal, el Dr. Francisco Sotres Bayón, así como a mi comité tutor, el Dr. Federico Bermúdez Rattoni y el Dr. Oscar Prospero García, por la supervisión y revisión de este proyecto, además de sus valiosas aportaciones.

Agradecimiento a título personal

Quiero agradecer y dedicar este trabajo a la Psicóloga Irma Romero y al Arquitecto Mario Schjetnan, por ser un claro ejemplo de dedicación y amor a la vida.

Irmita, quiero agradecerte el tiempo, el apoyo y la enseñanza. Disfruto mucho trabajar contigo, pero disfruto más que seas mi amiga, gracias por eso. Espero conservarte en mi vida mucho tiempo, aún hay historias que contar y compartir contigo. Eres un ejemplo para mí en todos los sentidos, te admiro y te quiero.

A mis padres

Adela Durán Ángeles y Aristeo Ángeles Ángeles

En memoria de
Francisco Durán Jiménez

ÍNDICE

1 INTRODUCCIÓN	1
1.1 Emociones y toma de decisiones	1
Conductas motivadas	3
Anatomía de la corteza prefrontal	3
Circuito de miedo y la CPF.....	4
Procesamiento gustativo y la CPF	6
Aprendizaje inverso.....	9
Modelos conductuales para el estudio de la toma de decisiones emocionales	12
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	13
3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	14
4. HIPÓTESIS	14
4.1 Hipótesis general	14
4.2 Hipótesis específicas	14
5. OBJETIVO GENERAL	14
5.1 Objetivos específicos	15
6. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL	15
6.1 Canulación y Microinfusión	15
6.2 Condicionamiento aversivo a los sabores (CAS)	16
6.2.1 CAS sin opción.....	16
6.2.2 CAS con opción.....	18
6.3 Histología	19
7. RESULTADOS	20
8. DISCUSIÓN	31
9. CONCLUSIONES	36
10. REFERENCIAS	37

Resumen

Las emociones son mecanismos biológicos que nos motivan a acercarnos a un objeto o a alejarnos de él. De esta manera influyen sobre la toma de decisiones. No obstante, se desconocen los mecanismos cerebrales a través de los cuales las emociones influyen sobre la selección de una acción. Diversas investigaciones han sugerido que la corteza prefrontal (CPF) es necesaria para la toma de decisiones emocionales. La CPF incluye la corteza orbitofrontal lateral (COFI) y la corteza prefrontal medial (CPFm). Estas regiones tienen diferentes funciones en la regulación y selección de conductas motivadas como el miedo, la evitación de sabores aversivos y la flexibilidad conductual asociada a la entrega de un estímulo apetitivo. Sin embargo, no existe un paradigma conductual que permita estudiar la manera en cómo las conductas motivadas con valencia emocional influyen sobre las decisiones. Por lo tanto, en este proyecto desarrollamos una versión modificada del condicionamiento aversivo a los sabores (CAS). En el CAS un animal adquiere aversión a un estímulo gustativo novedoso cuando éste se asocia con un malestar gástrico. De manera habitual, el entrenamiento en el CAS consiste en presentar un estímulo gustativo novedoso en un solo bebedero (sin opción). En la versión del CAS modificado que desarrollamos, se le presenta al animal la opción de elegir entre cuatro bebederos colocados de manera simultánea (con opción). Una vez que el animal ha asociado el sabor novedoso con el malestar gástrico, se forma una memoria emocional aversiva. La memoria de aversión al sabor sirve como motivador para evitar el consumo de dicho sabor y elegir los bebederos que contienen un sabor familiar seguro. Así, el CAS con opción funge como un modelo conductual propicio para el estudio de la toma de decisiones motivadas por una memoria emocional aversiva. El objetivo del presente proyecto fue determinar si la COFI y la CPFm son necesarias para la elección forzada entre un sabor aversivo y uno seguro. Para esto, hicimos desactivaciones farmacológicas de estas estructuras comparando el CAS tradicional (sin opción) vs el CAS modificado (con opción). Observamos que la desactivación de la COFI y de la CPFm impide la evocación de la memoria del CAS con opción, pero no afecta la evocación del CAS sin opción. Nuestros resultados sugieren que la COFI y la CPFm son estructuras necesarias para seleccionar un sabor seguro y evitar un sabor potencialmente dañino. En conclusión, la comparación de la evocación del CAS cuando los animales pueden optar entre dos alternativas y cuando no pueden optar, nos permitió identificar que tanto la COFI como la CPFm son necesarias para la toma de decisiones basadas en una memoria gustativa aversiva.

Abstract

Emotions are biological mechanisms that motivate us to approach an object or avoid it. Thus, they influence on decision-making. However, the brain mechanisms through which the emotions influence the action selection are unknown. Research has suggested that the prefrontal cortex (PFC) is required for emotional decision-making. The PFC includes the lateral orbitofrontal cortex (IOFC) and the medial prefrontal cortex (mPFC). These regions have different roles in the regulation and selection of motivated behaviors such as fear, avoidance of aversive tastes and behavioral flexibility associated with the delivery of an appetitive stimulus. However, there is not a behavioral paradigm that allows us to study how the emotional motivated behavior can impact on decision-making. Therefore, in this project we developed a modified version of conditioning taste aversion (CTA). In CTA task the animal acquires aversion to a novel taste when it is associated with gastric illness. Usually, training in the CTA consist in to present a novel gustatory stimulus in one bottle (without choice). In the modified version of CTA, the animal is presented with the option to choose between four bottles placed simultaneously (with choice). Once the animal has the novel taste associated with gastric illness, an aversive emotional memory is formed. The taste aversion memory serves as a motivator to avoid consumption of the aversive taste and the animal chooses the bottles that contain a safe familiar taste. Thus, the CTA with option serves as an appropriate behavioral model for studying decision-making based on aversive emotional memory. The objective of this project was to determine whether IOFC and mPFC are necessary for the forced choice between an aversive taste and a safe one. For this, we performed pharmacological inactivation of these structures and compared the traditional CTA (without choice) and the modified CTA (with choice). We observed that the IOFC and mPFC inactivation prevent memory retrieval of CTA with choice, but they do not affect the retrieval of the CTA without choice. Our results suggest that the IOFC and mPFC are required to select a safe taste and avoid a potentially damaging taste. In conclusion, comparing the retrieval of CTA when animals can choose between two alternatives and when they cannot, allowed us to identify that both the IOFC and mPFC are necessary for emotional decision-making based on aversive taste memory.

1 INTRODUCCIÓN

1.1 Emociones y toma de decisiones

Las emociones son mecanismos biológicos que contribuyen a la supervivencia de las especies, ya que aseguran un correcto despliegue de un gran repertorio de conductas adaptativas (Dalgleish, 2004; LeDoux, 2012; Anderson & Adolphs, 2014). Además, tienen una poderosa influencia sobre el aprendizaje y memoria y por ende, pueden determinar nuestras futuras respuestas ante eventos determinados (Dolan, 2002). La toma de decisiones es definida como el proceso mediante el cual se evalúan las diversas alternativas y se selecciona el curso de la acción más adaptativa para el organismo (Schall, 2001). Existen diversos factores, tanto ambientales como intrínsecos, que influyen sobre la toma de decisiones, por ejemplo la expectativa de un reforzador puede motivar a un organismo a realizar una acción (van der Meer & Redish, 2009; Ding & Perkel, 2014; Silvetti *et al.*, 2014); la incertidumbre de los resultados de una acción puede promover toma de opciones riesgosas (St Onge & Floresco, 2010; St Onge *et al.*, 2012); la predictibilidad de los estímulos motiva al individuo a optar por recompensas demoradas (Sripada *et al.*, 2011; Namboodiri *et al.*, 2014).

Por mucho tiempo, predominó la idea de que existía un fuerza opuesta entre la emoción y la razón, las cuáles se consideraban que competían en la mente humana. Hoy en día, la neurociencia actual reconoce a las emociones como un modulador de la toma de decisiones, sugiriendo que los procesos afectivos pueden influir en conducta de elección (Phelps *et al.*, 2014).

El caso clínico de Phineas Gage fue un parteaguas que sentó las bases para considerar que la influencia de las emociones sobre la toma de decisiones tenía un sustrato en el lóbulo frontal humano (Damasio *et al.*, 1994). Phineas Gage era un hombre que trabajaba como capataz en la construcción del ferrocarril entre Rutland y Burlington, en Vermont, EE.UU. En un descuido, Gage golpeó pólvora con una barra de hierro, provocando una explosión. La barra de hierro de 105 cm. de longitud, 3 cm. de diámetro y 7 Kg. de peso, atravesó por completo el cráneo de

Gage, incrustándose por debajo del ojo izquierdo, saliendo por la línea media, cerca de la unión de los huesos frontal y parietal (Harlow, 1948). Gage sobrevivió a pesar de la severa lesión sufrida en su cerebro. Harlow, médico de Gage, reportó que éste no presentaba ningún deterioro cognitivo (memoria, atención, lenguaje, etc). Meses después del accidente, Harlow percibió cambios drásticos en la personalidad de Gage, a lo que actualmente se conoce como síndrome prefrontal: “tiene frecuentes accesos de irritabilidad, es irreverente y manifiesta poca consideración con las personas que lo rodean, es impaciente y obstinado, caprichoso pero vacilante, organiza múltiples planes para el futuro pero apenas termina de armar uno lo abandona para embarcarse en otra alternativa que le parece más factible”... (Harlow, 1868). A partir de este caso clínico surgió gran interés en la corteza prefrontal como sustrato anatómico de la regulación emocional y la toma de decisiones.

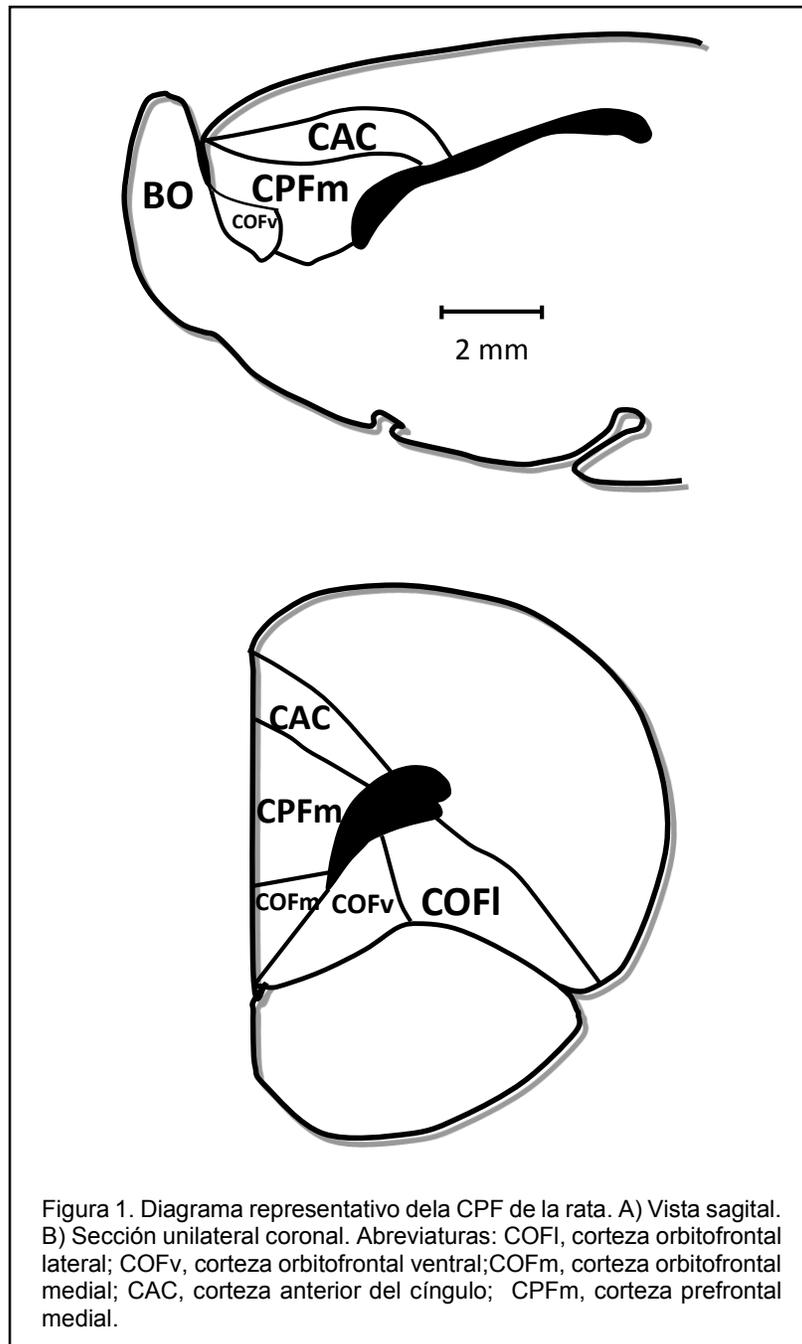
Estudios recientes de pacientes con daño cerebral, han mostrado que dichos sujetos conservan en buen estado la mayor parte de sus procesos cognitivos. No obstante, presentan dificultades para planificar y hacer decisiones bajo diversas situaciones, desde las más complejas hasta las más triviales. Damasio (1994) reportó que estas personas carecían de la capacidad de tener una reacción emocional ante los acontecimientos de su entorno. A partir de dichas observaciones, Damasio formuló una teoría conocida como hipótesis de los marcadores somáticos. Su propuesta se centraba en la premisa de que las respuestas autónomas asociadas a una emoción, podían influir en la toma de decisiones (Damasio, 1994). El caso de Phineas Gage representa una valiosa contribución a la localización de funciones cognitivas en el cerebro humano. Sin embargo, las limitaciones como la inespecificidad del daño cerebral que sufren, dificulta el estudio sistemático del estudio de la influencia de las emociones sobre las decisiones y su correlato neuronal. Para estudiar el impacto de las emociones sobre el comportamiento, se han desarrollado modelos animales basados en conductas motivadas de aproximación o evitación a estímulos placenteros o displacenteros. A continuación se revisará con más detalle en qué consisten estas conductas y como han contribuido al estudio de la influencia emocional sobre la conducta de elección, así como sus limitaciones.

1.1.1 Conductas motivadas

Una forma de estudiar los procesos emocionales es a través de las conductas motivadas. Una conducta motivada es aquella en la que un organismo se acerca a un estímulo apetitivo y se aleja de un estímulo aversivo (Lang & Davis, 2006). Este tipo de conductas adaptativas son propositivas, ya que el organismo debe operar en su ambiente para obtener un estímulo placentero reforzante o bien, alejarse de un estímulo potencialmente dañino o aversivo (Huys *et al.*, 2011). El carácter emocional de las conductas motivadas puede influir de manera importante sobre las decisiones que toma un organismo (Barberini *et al.*, 2012). Se ha descrito que la CPF es la región del cerebro relacionada con el procesamiento de conductas motivadas así como con la toma de decisiones.

1.1.2 Anatomía de la corteza prefrontal

La región frontal del cerebro incluye toda la porción de tejido que se encuentra delante del surco central. Esta zona cerebral está constituida por regiones funcionalmente distintas: corteza motora (CM) corteza premotora (CPM) y corteza prefrontal (CPF). En la rata, la CPF se divide en la corteza orbitofrontal (COF) y en la CPF medial (CPFm). La COF incluye una región lateral (COFl), una región ventral (COFv) y una región medial (COFm) (Figura 1). No obstante es importante mencionar que todas estas estructuras emiten y reciben proyecciones desde el núcleo medio dorsal del tálamo. (Groenewegen, 1988; van Eden *et al.*, 1998). La CPFm de la rata proyecta gran cantidad de fibras eferentes a los núcleos subcorticales que generan respuestas de alerta, también llamado sistema ascendente activador (Groenewegen & Uylings, 2000). Asimismo, se han descrito proyecciones directas entre la CPFm con la amígdala (McDonald, 1987; Hurley *et al.*, 1991; MacDonald *et al.*, 2009), en particular a las células intercaladas, neuronas gabaérgicas que inhiben a la parte medial del núcleo central de la amígdala (Pare & Smith, 1993; Vertes, 2004). Se ha descrito que la conexión entre la CPF y la amígdala es necesaria para la modulación del miedo condicionado, ya que la lesión de las células intercaladas produce un daño en la extinción del miedo (Likhtik *et al.*, 2008), mientras que la activación de dichas células facilita la extinción (Jungling *et al.*, 2008).

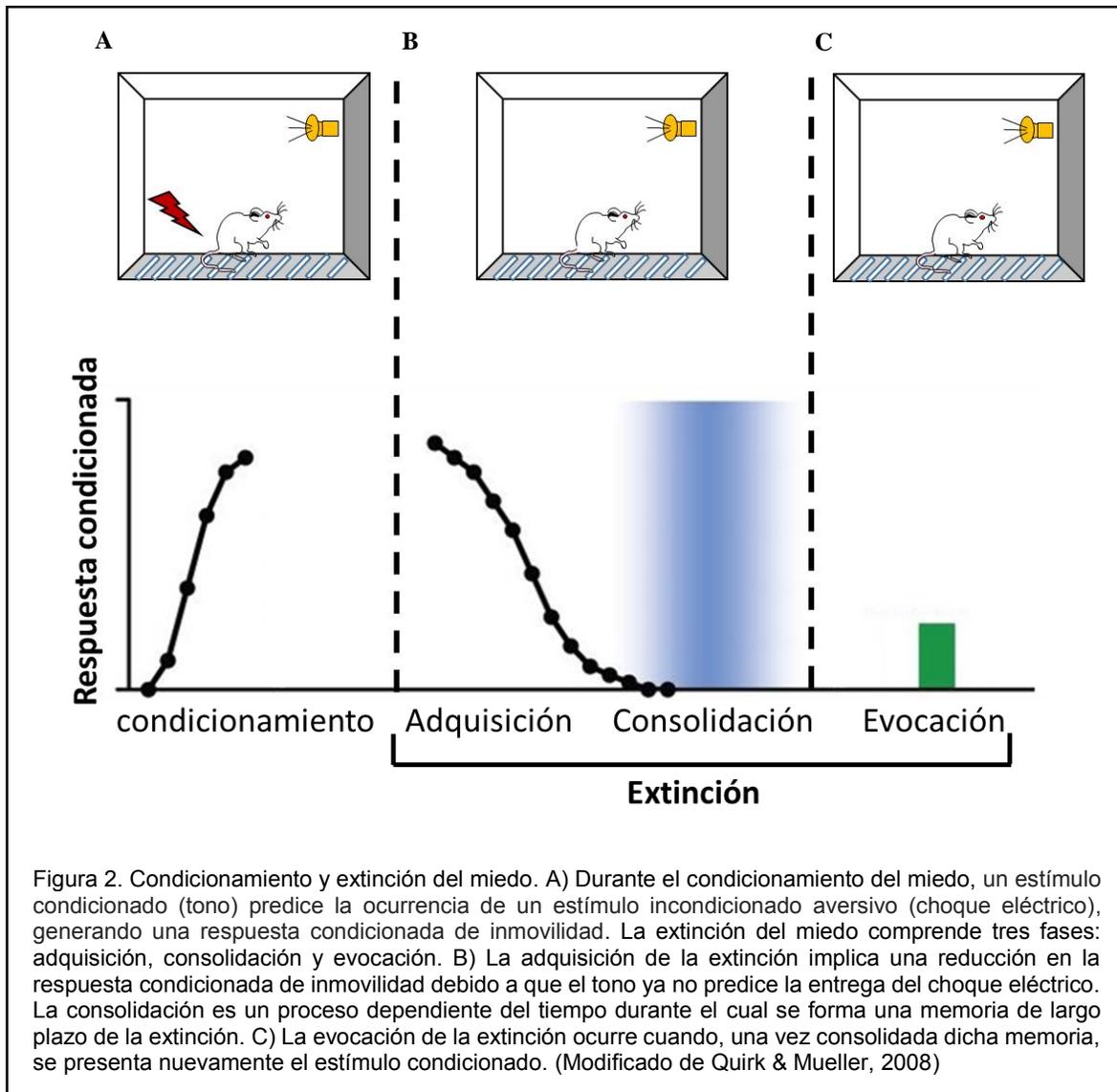


1.1.3 Circuito de miedo y la CPF

La información relacionada con el miedo, representa una emoción importante para la supervivencia de las especies. El miedo ha sido estudiado ampliamente, dado que puede ser manipulado experimentalmente. Un modelo conductual que ha

permitido evaluar el papel de la CPF en la regulación emocional es condicionamiento y extinción del miedo (Milad & Quirk, 2012). El condicionamiento de miedo es un tipo de aprendizaje mediante el cual un estímulo neutro, es decir, que por sí sólo no produce una respuesta de miedo (*ej., un tono*) se asocia con un estímulo aversivo (*ej., choque eléctrico*). Por lo tanto, después de repetidas asociaciones, el estímulo que antes era neutro, adquiere la capacidad de evocar una respuesta de miedo. La extinción de la respuesta de miedo se refiere a la capacidad de suprimir una respuesta de miedo previamente aprendida (Sotres-Bayon *et al.*, 2004) (Figura 2). Diversos estudios han mostrado que la CPFm regula la expresión y supresión de miedo aprendido (Vidal-Gonzalez *et al.*, 2006; Sotres-Bayon & Quirk, 2010).

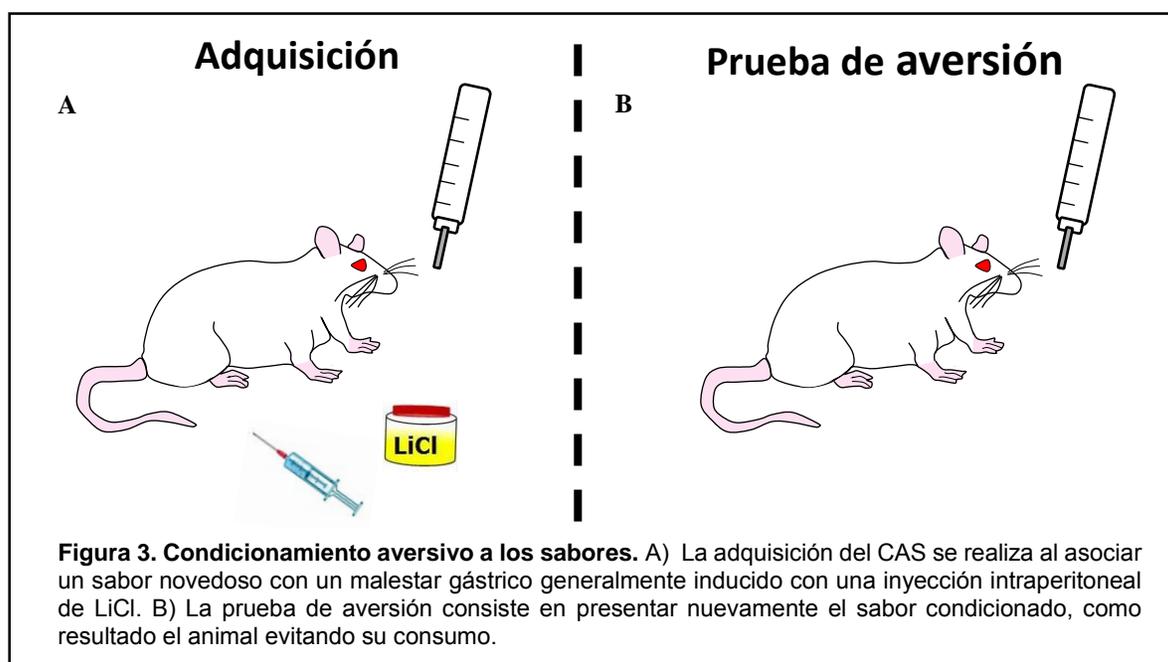
Estudios electrofisiológicos y de lesión han implicado a la corteza PL en la expresión de miedo aprendido y a la corteza IL en la extinción del miedo (Quirk & Mueller, 2008). Se ha reportado que el grado de éxito en la extinción de una memoria de miedo se correlaciona con la tasa de disparo de las neuronas de la corteza IL (Burgos-Robles *et al.*, 2007). En relación con lo anterior, también se ha descrito que el condicionamiento y la extinción de miedo, disminuye y aumenta respectivamente la excitabilidad de las neuronas de la corteza IL (Santini *et al.*, 2008). Asimismo, utilizando marcadores de la actividad neuronal como c-Fos, se ha descrito que hay un aumento en la actividad en la corteza IL en animales que han extinguido una memoria de miedo, en comparación a otros que extinguieron de manera deficiente. (Knapska & Maren, 2009). Por otro lado, se ha reportado que la corteza PL está relacionada con la expresión del miedo (Vidal-Gonzalez *et al.*, 2006). La desactivación temporal de la PL reduce la expresión del miedo condicionado, pero no afecta la extinción (Corcoran & Quirk, 2007; Laurent & Westbrook, 2009). Aunado a lo anterior, también se ha reportado que hay un aumento en la actividad de las neuronas de la corteza PL, la cual predice la magnitud de la respuesta de miedo condicionado. Es así como la CPFm es capaz de coordinar respuestas emocionales como lo son la expresión y la supresión de miedo condicionado a través de su interacción con estructuras subcorticales como la amígdala.



1.1.4 Procesamiento gustativo y la CPF

Además del control prefrontal de respuestas emocionales como el miedo, existen otras conductas motivadas que también se han visto relacionadas con la actividad de la CPF. Una de estas conductas motivadas, que es necesaria para la adaptación y la supervivencia de los organismos, es la selección de nutrientes y la evitación de alimentos potencialmente dañinos. Los animales son capaces de asociar rápidamente los sabores con los efectos gástricos, influyendo en gran medida en su conducta de ingesta. En este sentido, John Garcia en 1955 describió lo que hoy se conoce como condicionamiento aversivo a los sabores (CAS) (Garcia *et al.*, 1955).

El CAS es una tarea conductual donde un animal adquiere aversión a un estímulo gustativo novedoso cuando éste se asocia con una irritación gástrica (Figura 3). El CAS es un tipo de condicionamiento clásico, donde un sabor nuevo sirve como estímulo condicionado y el malestar gástrico como estímulo incondicionado. Por lo tanto, el sabor novedoso por sí solo es capaz de producir una respuesta condicionada (Garcia *et al.*, 1985). El CAS conserva características que lo hacen un modelo conductual robusto para el estudio del aprendizaje y la memoria.



Con el desarrollo del CAS, se derivaron diversas investigaciones en torno al estudio de las vías y los mecanismos neuronales que subyacen al aprendizaje gustativo. En la actualidad se conoce la vía anatómica que recorren los estímulos gustativos desde la periferia hasta la corteza gustativa primaria. Cuando un sabor es detectado por los receptores gustativos de la boca, es transmitido hacia la porción anterior del núcleo del tracto solitario (NTS) en el tallo cerebral, vía los nervios craneales facial (VII) y glossofaríngeo (IX) principalmente y de manera secundaria por el vago (X). El segundo relevo de la vía gustativa se ubica en el núcleo parabraqueal del puente (NPB), en lo que se ha denominado área gustativa del puente. Una vez aquí se reconocen dos rutas a seguir: en su mayoría las aferencias del NPB se dirigen a la

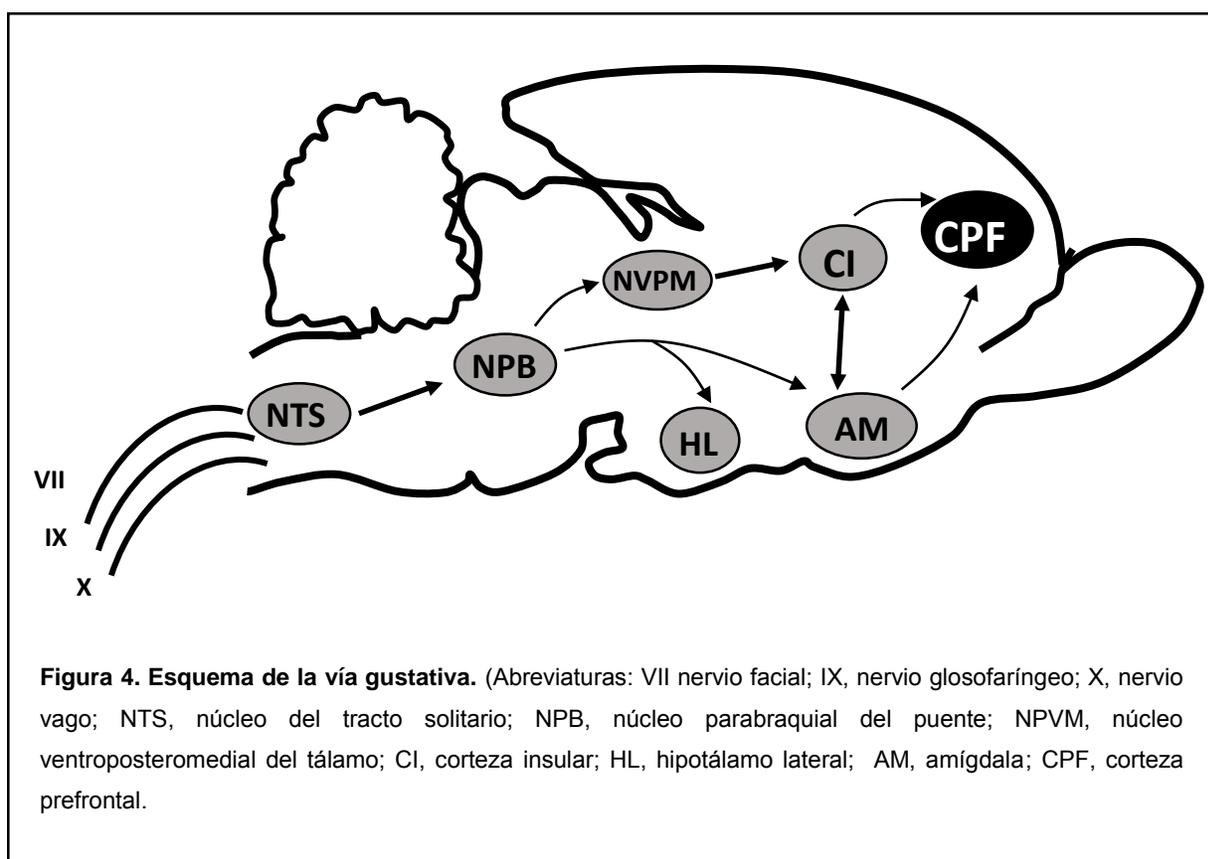
amígdala, la zona lateral del hipotálamo y la sustancia innominata. La segunda ruta se dirige al núcleo ventroposteromedial del tálamo (NVPM), el cual se comunica con la corteza gustativa primaria o corteza insular (CI) (Figura 4).

Diversos estudios han mostrado la importancia de la conectividad recíproca entre la CI y la amígdala, estructura cerebral vinculada estrechamente con la memoria aversiva (McGaugh *et al.*, 1990; LeDoux, 1993), específicamente las proyecciones que recibe directamente del núcleo basolateral amigdalino (Krettek & Price, 1974; Bermudez-Rattoni & McGaugh, 1991). A partir de esto ha sido posible considerar a la CI como una estructura fundamental en los procesamientos de integración y almacenamiento de información gustativo-visceral.

Aunado a lo anterior, se ha reportado que hay neuronas de la CI que responden a combinaciones particulares de sabor y textura de los estímulos gustativos. Sin embargo, se ha sugerido que la actividad neuronal de la CI no representa el valor reforzante de los sabores. Estudios han mostrado que la CI envía proyecciones a la COF y a la CPFm (Baylis *et al.*, 1995; Gabbott *et al.*, 2003; Simon *et al.*, 2006) y se ha propuesto que estas regiones están relacionadas con la palatabilidad y con la toma de decisiones guiadas por estímulos gustativos (MacDonald *et al.*, 2009; Jezzini *et al.*, 2013). En este sentido, se ha reportado que las neuronas de la COF responden a cada uno de los cuatro sabores prototípicos (dulce, salado, amargo y agrio) (Kadohisa *et al.*, 2005), por lo que es considerada como la corteza gustativa secundaria. Se ha sugerido que la COF tiene un papel en la modulación del valor reforzante de los estímulos gustativos. El valor reforzante de un sabor depende del estado de privación o saciedad que se tenga con dicho estímulo. Estos estudios sugieren que la actividad en la COF podría estar reflejando el valor apetitivo o aversivo de los sabores. Con relación al papel de la CPFm en el procesamiento de estímulos gustativos, estudios electrofisiológicos han mostrado que las neuronas de la CPFm tienen la habilidad de responder a diferentes sabores y a la palatabilidad de cada uno de ellos (Petyko *et al.*, 2009; Jezzini *et al.*, 2013). También, se ha reportado que existen diferentes grupos de neuronas en la CPFm que codifican selectivamente para estímulos gustativos aversivos, los cuales evocan respuestas más robustas en comparación a los estímulos apetitivos (Jezzini *et al.*, 2013).

Asimismo, se ha reportado que lesiones de la CPFm producen deficiencias en la adquisición y retención del CAS (Hernadi *et al.*, 2000). Lo anterior sugiere que además de la CI, la COF y la CPFm juegan un papel fundamental en el procesamiento de estímulos gustativos aversivos y apetitivos. En este sentido, la toma de decisiones a menudo implica el uso de señales sensoriales para predecir las posibles consecuencias (negativas o positivas) antes de seleccionar un curso de acción.

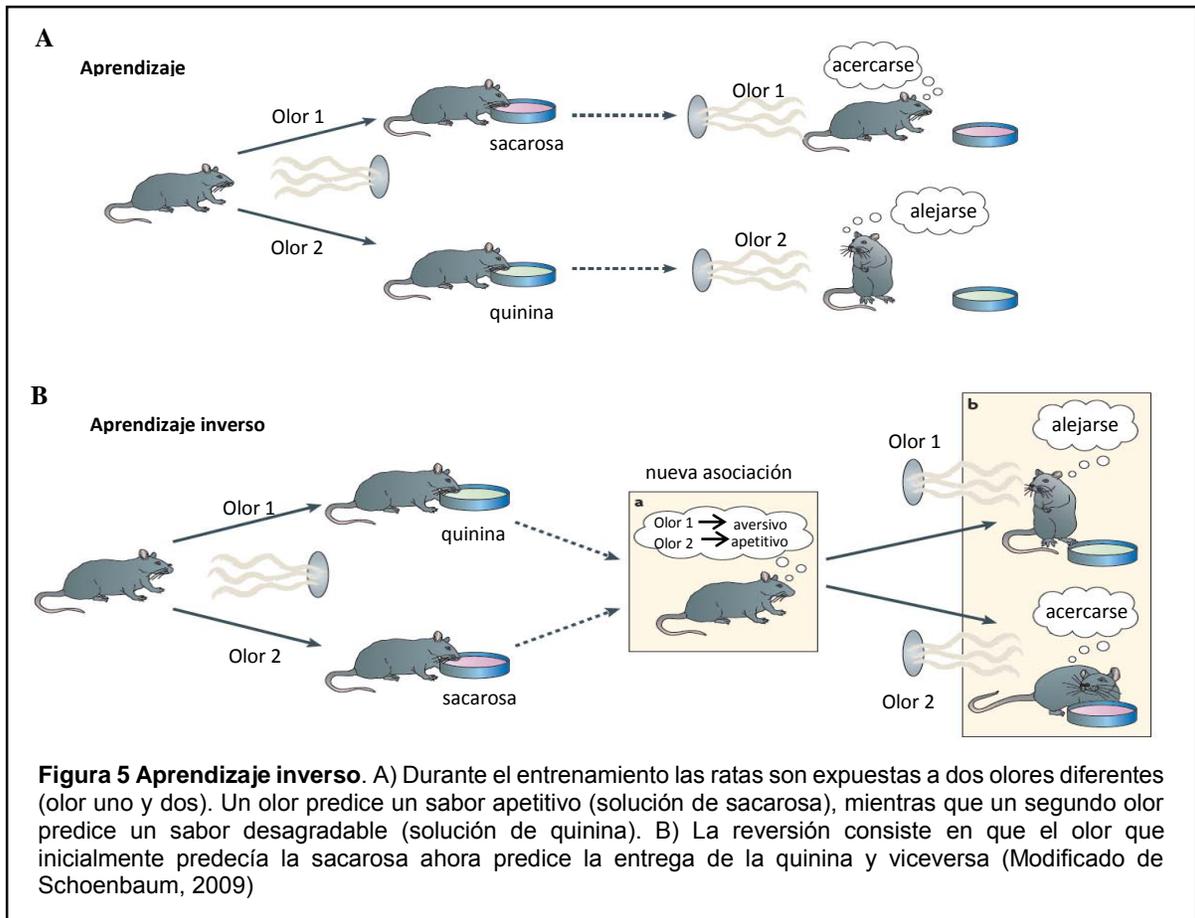
Por lo tanto, el CAS podría ser un modelo para el estudio de la toma de decisiones que se basen en una experiencia gustativa previa con un resultado aversivo.



1.1.5 Aprendizaje inverso

Otro tipo de conducta motivada, que se encuentra bajo control prefrontal y en el que también está relacionado con estímulos gustativos es el aprendizaje inverso.

Este tipo de aprendizaje está asociado con la flexibilidad conductual, cuando las contingencias entre una respuesta y su consecuencia cambian. Por lo tanto en este tipo de comportamiento se considera que el organismo aprende de sus experiencias previas para responder a eventos futuros. La flexibilidad conductual es evaluada tradicionalmente usando una tarea en la cual los sujetos deben cambiar una respuesta bien establecida con el objetivo de adaptarse a nuevas contingencias. Un paradigma que se ha utilizado para el estudio del aprendizaje inverso es la tarea de discriminación de olores (Schoenbaum & Roesch, 2005; Schoenbaum *et al.*, 2009) (Figura 5). En esta tarea los animales aprenden a que un olor determinado predice la entrega de una solución con sacarosa, un estímulo naturalmente apetitivo. Un segundo olor servirá de pista para predecir la entrega de quinina, un sabor naturalmente aversivo. Las ratas prefieren la solución de sacarosa y se aproximarán a ella, mientras que evitarán la solución de quinina, alejándose de ella. Por lo tanto, los animales aprenden a discriminar entre esas dos pistas olfativas. Una vez que los animales han aprendido, la habilidad para revertir rápidamente su respuesta es evaluada cambiando la asociación entre el olor y su consecuencia.



Numerosos estudios muestran que lesiones en la COF causan un deterioro en la capacidad de los animales para revertir rápidamente sus respuestas ante nuevas contingencias (Chudasama & Robbins, 2003; McAlonan & Brown, 2003; Schoenbaum *et al.*, 2003; Bissonette *et al.*, 2008). Estos resultados sugieren que la COF es necesaria para la flexibilidad conductual, porque codifica rápidamente nuevas asociaciones, en particular entre pistas específicas y sus consecuencias. Estudios electrofisiológicos han mostrado que las neuronas de la COF rápidamente modifican su frecuencia de disparo al codificar las nuevas contingencias (Thorpe *et al.*, 1983; Schoenbaum *et al.*, 1998). Lo anterior sugiere que la COF contribuye al aprendizaje inverso a través de la selección de respuestas correctas o a través de la inhibición de respuestas incorrectas. Durante el aprendizaje de discriminación de olores, se ha descrito que distintas poblaciones de neuronas en la COF disparan ante la anticipación de la entrega de sacarosa o de quinina (Schoenbaum *et al.*,

1998). Asimismo, se ha visto que diferentes ensambles neuronales responden a pistas que predican diferentes resultados (Takahashi *et al.*, 2009). Lo anterior sugiere que la COF es necesaria para el despliegue de este tipo de conductas adaptativas porque almacena la nueva información asociativa.

En comparación con la COF, no se conoce con claridad el papel que juega la CPFm en el aprendizaje inverso. Estudios de inactivación y de lesión han mostrado que la desactivación de la CPFm no afecta la adquisición ni la evocación de una tarea de discriminación visual. Sin embargo, observaron deficiencias en la reversión de dicha tarea (Salazar *et al.*, 2004; Shaw *et al.*, 2013). Estas deficiencias inducidas por la lesión o la desactivación pueden reflejar una falta de inhibición de las respuestas instrumentales aprendidas.

1.1.6 Modelos conductuales para el estudio de la toma de decisiones emocionales

El modelo conductual que ha permitido estudiar de manera extensa el papel de la CPF en la regulación emocional es el condicionamiento y la extinción del miedo. Sin embargo, la extinción del miedo no permite el estudio de la toma de decisiones de manera directa. Lo anterior se debe a que en este tipo de condicionamiento clásico, el animal no puede operar sobre su ambiente para obtener una recompensa o evitar un castigo. De esta manera, hablamos de que en la extinción y condicionamiento de miedo el organismo de manera pasiva sólo actúa como receptor de los estímulos que han sido condicionados, generando una respuesta automática ante su presentación.

El CAS es un modelo que involucra la generación de una memoria emocional gustativa de tipo aversivo, que motiva al animal a evitar el consumo de un sabor condicionado. La COF es la corteza gustativa secundaria y su papel en el procesamiento gustativo ha sido implicado principalmente en la asignación del valor hedónico de los sabores. La CPFm de manera reciente ha sido relacionada con el proceso gustativo, principalmente en la codificación de estímulos gustativos aversivos. En el protocolo habitual del CAS, el animal no tiene la oportunidad de

elegir entre distintos sabores, dado que únicamente se le presenta el sabor condicionado. Una alternativa al protocolo tradicional de CAS podría consistir en una serie de modificaciones con el objetivo de evaluar la toma de decisiones motivadas por la memoria gustativa aversiva. Es decir, la colocación simultánea de diferentes sabores, permitiría los animales decidir entre el sabor aversivo condicionado y uno seguro. Este protocolo modificado del CAS tendría la ventaja de poder estudiar la participación de la CPF en decisiones motivadas por una memoria emocional aversiva.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La corteza prefrontal se encuentra estrechamente relacionada con la toma de decisiones y con la regulación de las respuestas emocionales. Diversas investigaciones han mostrado que tanto la COFI como la CPFm están involucradas en el procesamiento de información gustativa. Sin embargo, actualmente no se sabe cuáles de estas regiones son necesarias para la toma de decisiones motivadas por memorias gustativas aversivas. Para ello proponemos una modificación del paradigma de aprendizaje denominado condicionamiento aversivo a los sabores (CAS). Dicha modificación consiste en elegir de manera activa entre distintos sabores presentados de manera simultánea. Un punto importante en el proyecto, es comparar cuando un animal tiene opción (CAS con opción) y cuando no la tiene (CAS sin opción). La comparación de estas dos tareas durante la desactivación temporal de la CPFm y la COFI, nos permitirá identificar si estas regiones son necesarias para la selección de sabores motivada por una memoria gustativa aversiva.

3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Son necesarias las cortezas frontales (orbitofrontal lateral y prefrontal medial) en la toma de decisiones motivadas por una memoria gustativa aversiva?

4. HIPÓTESIS

4.1 Hipótesis general:

- Las cortezas frontales (tanto orbitofrontal lateral como prefrontal medial) son necesarias para la toma de decisiones guiadas por memorias gustativas aversivas.

4.2 Hipótesis específicas:

- La desactivación de la COFI y la CPFm impedirá la selección entre un sabor aversivo y uno seguro.
- La desactivación de la COFI y la CPFm no afectará la evocación de la memoria de aversión al sabor.
- La respuesta en la selección del estímulo gustativo aversivo será diferente entre el grupo con desactivación en la COFL y el grupo con desactivación en el CPFm

5. OBJETIVO GENERAL

Identificar que corteza frontal es necesaria para la toma de decisiones motivadas por una memoria gustativa aversiva.

5.1 Objetivos específicos:

- Desarrollar un protocolo experimental que permita evaluar la toma de decisiones basadas en memorias gustativas aversivas.
- Determinar si la COFI es necesaria para tomar decisiones motivadas por una memoria gustativa aversiva.
- Determinar si la CPFm es necesaria para tomar decisiones motivadas por una memoria gustativa aversiva.

6. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

En todas las fases de la presente investigación se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar con pesos de 280-300 g. Se mantuvieron en cajas individuales de acrílico a una temperatura promedio de 23°C. Los animales permanecieron en un ciclo de luz-oscuridad 12h/12h, con comida y agua ad libitum (excepto en las fases experimentales que indiquen lo contrario).

6.1 Canulación y Microinfusión

La cirugía estereotáxica de los animales consistió en la implantación bilateral de guías cánulas de acero inoxidable de 1.5 cm. de longitud. Las ratas fueron anestesiadas con Ketamina (10 mg/Kg. i.p.) y Xilazina (8 mg/Kg. i.p.) Las coordenadas empleadas para COFI fueron AP = +3.8 mm; ML = +/- 2.6 mm; DV = -3.9 mm. Las coordenadas usadas para la CPFm fueron AP = +2.9 mm; ML = +/- 0.6 mm; DV = -3.2 mm (Paxinos et al., 1998). Las cánulas se colocaron 0.8 mm arriba de la COFI y 1 mm arriba de la CPFm bilateralmente; fueron fijadas al cráneo usando acrílico dental. Un estilete de acero inoxidable se colocó al interior de las cánulas con el objetivo de proteger su luz de obstrucciones con material orgánico durante el periodo de recuperación y entrenamiento. Los grupos canulados fueron infundidos con una mezcla de muscimol y baclofen (agonistas de los receptores GABA_A y GABA_B respectivamente) con el objetivo de desactivar a las cortezas frontales. Ambas drogas fueron disueltas de forma separada en solución salina a una concentración de 500ng/μl y después fueron combinadas en volúmenes iguales

con una concentración final de cada compuesto de 250 ng/ μ l (St Onge & Floresco, 2010). Para todos los grupos, las infusiones fueron administradas por microinyectores consistentes en agujas dentales de calibre 30. El microinyector fue introducido en la cánula previa remoción del estilete. Se extendió 0.8 mm o 1 mm por debajo del extremo inferior de la cánula, alcanzando así la región correspondiente a la COFI y a la CPFm respectivamente. Los microinyectores estuvieron conectados mediante mangueras de polietileno a jeringas Hamilton de 10.0 μ l. Las microinyecciones fueron dosificadas mediante una bomba de microinfusión a una velocidad de flujo de 0.5 μ l/75 segundos. Una vez inyectado el volumen total del fármaco o salina, los microinyectores permanecieron durante un minuto más para asegurar la adecuada difusión de la solución en el tejido.

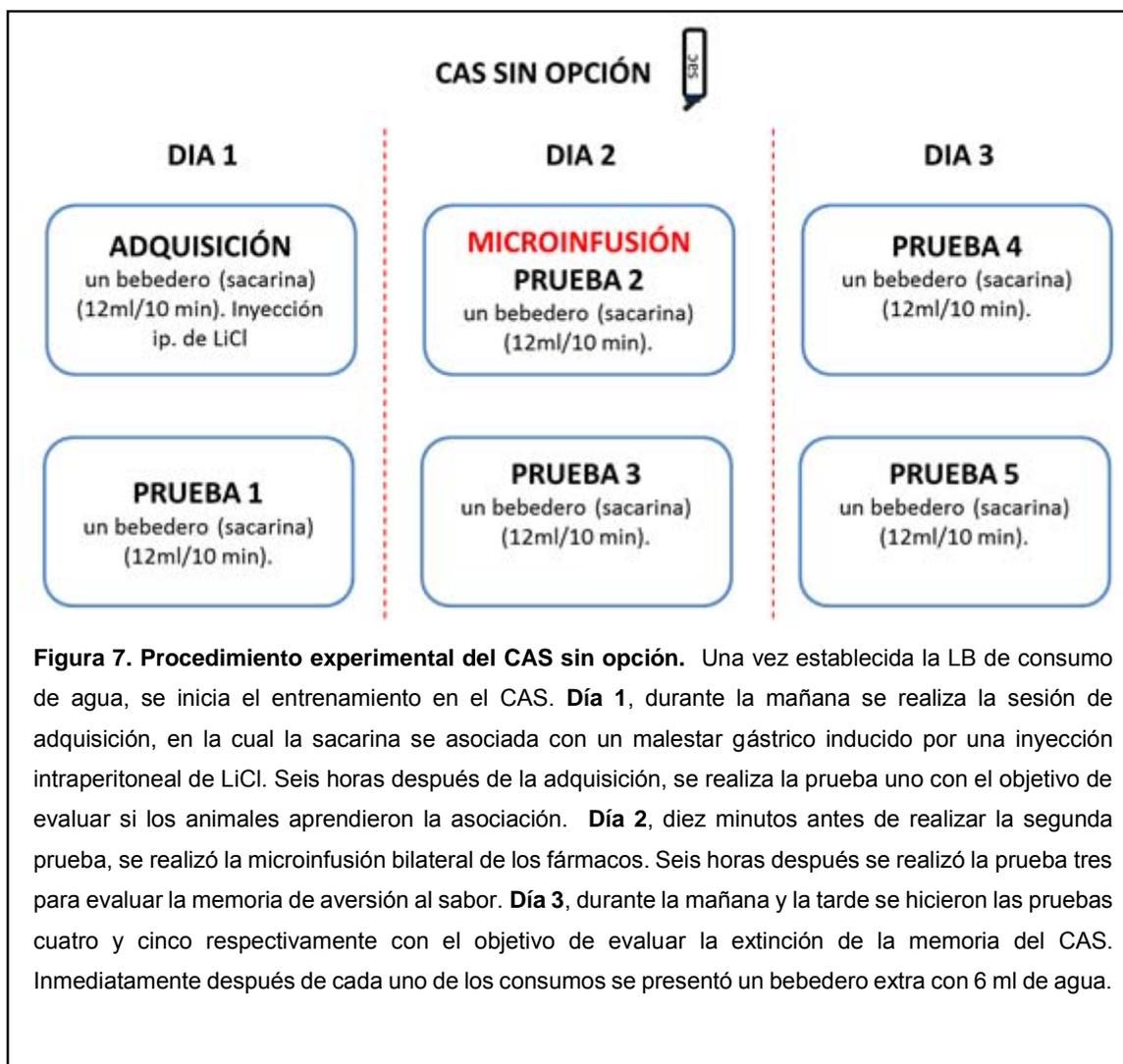
6.2 Condicionamiento aversivo a los sabores (CAS)

Con el objetivo de determinar cuáles son las regiones de la corteza frontal necesarias para elegir entre un sabor aversivo y uno seguro familiar, en este proyecto utilizamos dos protocolos diferentes del CAS: sin opción y con opción. A continuación se detalla el protocolo habitual de CAS (sin opción) y la versión modificada que proponemos del CAS (con opción).

6.2.1 CAS sin opción

Con el objetivo de identificar si la COFI y la CPFm son necesarias para la evocación de la memoria de aversión al sabor, se llevó a cabo el entrenamiento en el CAS tradicional (sin opción). Esta tarea consistió en la presentación de un solo bebedero durante toda la tarea. La figura 7 muestra el diagrama de flujo del CAS sin opción. Para dar inicio al entrenamiento en el CAS sin opción, las ratas fueron privadas de agua por 24 horas. Posteriormente fueron entrenadas a beber de un bebedero con agua dos veces al día (12 ml/10 min), seguido de un bebedero extra con agua (6 ml/10min) por 3 días, hasta alcanzar una línea base de consumo de agua. En el día uno se realizó la sesión de adquisición, en la cual se presentó un bebedero con una solución de sacarina (0.1 %) (12ml/10 min) seguido de un bebedero extra con agua (6 ml/10min); Diez minutos después, los animales recibieron una inyección intraperitoneal de cloruro de litio (7.5 ml/Kg/0.4 M) con el objetivo de inducir irritación

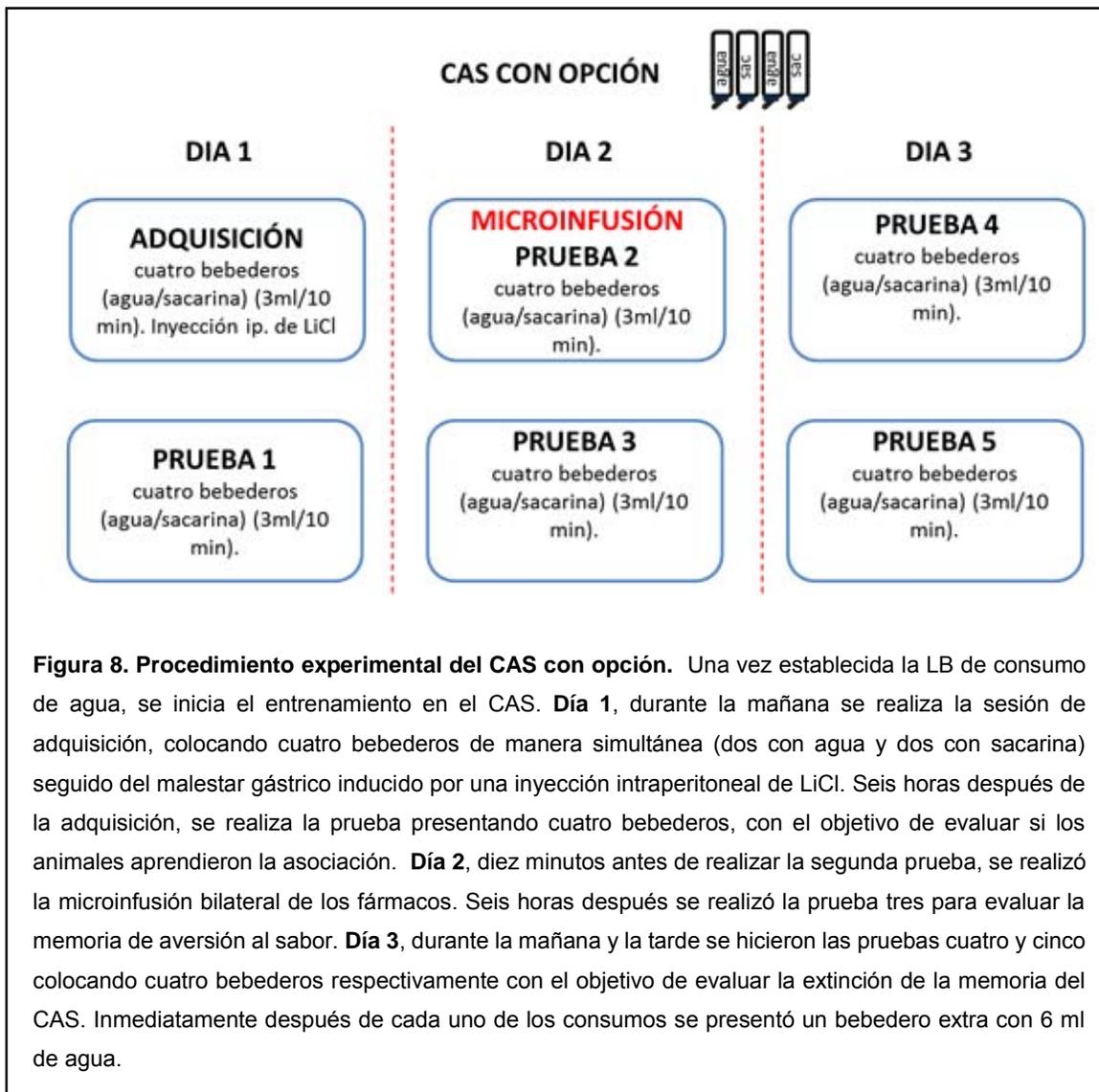
gástrica. Seis horas después de la adquisición se realizó una prueba de aversión, que consistió en la presentación de un bebedero con una solución de sacarina (0.1 %) (12ml/10 min), seguido del bebedero extra con agua (6 ml/10min). La disminución del consumo de sacarina con respecto a la ingesta de agua durante la línea base fue usada como parámetro comparativo de la fuerza aversiva del CAS. En el día dos, las ratas recibieron una microinfusión bilateral de muscimol y baclofen o salina. Diez minutos después de finalizar la microinfusión, se llevó a cabo la segunda prueba de aversión, en la que se presentó un bebedero con sacarina (0.1 %) (12ml/10 min), seguido del bebedero extra con agua (6 ml/10min). Durante el día tres se llevaron a cabo dos pruebas de aversión adicionales.



6.2.2. CAS con opción

Para evaluar la toma de decisiones basadas en memorias gustativas aversivas, proponemos una versión modificada del CAS. En la versión que desarrollamos se le presenta al animal la opción de elegir entre cuatro bebederos colocados de manera simultánea (con opción). La figura 8 muestra el diagrama de flujo correspondiente al diseño del CAS con opción.

Durante la línea base, las ratas fueron entrenadas a consumir de cuatro bebederos con agua colocados simultáneamente, dos veces al día (3ml/10 min), seguido del bebedero extra con agua (6 ml/10min) por tres días. El día uno se llevó a cabo la adquisición, presentando cuatro bebederos, dos con agua y dos con una solución de sacarina (0.1 %)(3ml/10 min), seguido del bebedero extra con sacarina (6ml/10 min). Diez minutos después, los animales recibieron una inyección intraperitoneal de cloruro de litio (7.5 ml/Kg/0.4 M) con el objetivo de inducir irritación gástrica. Seis horas después de la adquisición se realizó la primera prueba de aversión, en la que se colocaron nuevamente cuatro bebederos, dos con agua y dos con la solución de sacarina, seguida del bebedero extra con agua (6ml/10 min). En el día dos, las ratas recibieron una microinfusión bilateral de muscimol y baclofen o salina. Diez minutos después de finalizar la microinfusión, se llevó a cabo la segunda prueba de aversión, en la que nuevamente se presentaron los cuatro bebederos, dos con agua y dos con una solución de sacarina, para evaluar la desactivación de las cortezas frontales sobre la toma de decisiones del estímulo gustativo que previamente fue asociado con el malestar gástrico. Durante el día tres, se realizaron dos pruebas de aversión adicionales.



6.3 Histología

Una vez concluidas las fases conductuales, los cerebros de los animales fueron analizados a través de la técnica histológica de Nissl con el fin de observar la ubicación exacta de las puntas de los microinyectores. Los animales fueron sacrificados mediante una sobredosis del anestésico pentobarbital. Se efectuó una perfusión intracardial de las ratas canuladas con solución salina al 0.9%. Los cerebros fueron extraídos y almacenados para su postfijación en formalina al 10% a 4°C. Transcurrido este periodo, fueron almacenados en una solución de sacarosa al 30% y formalina al 10% hasta que alcanzaron una densidad mayor a la de la

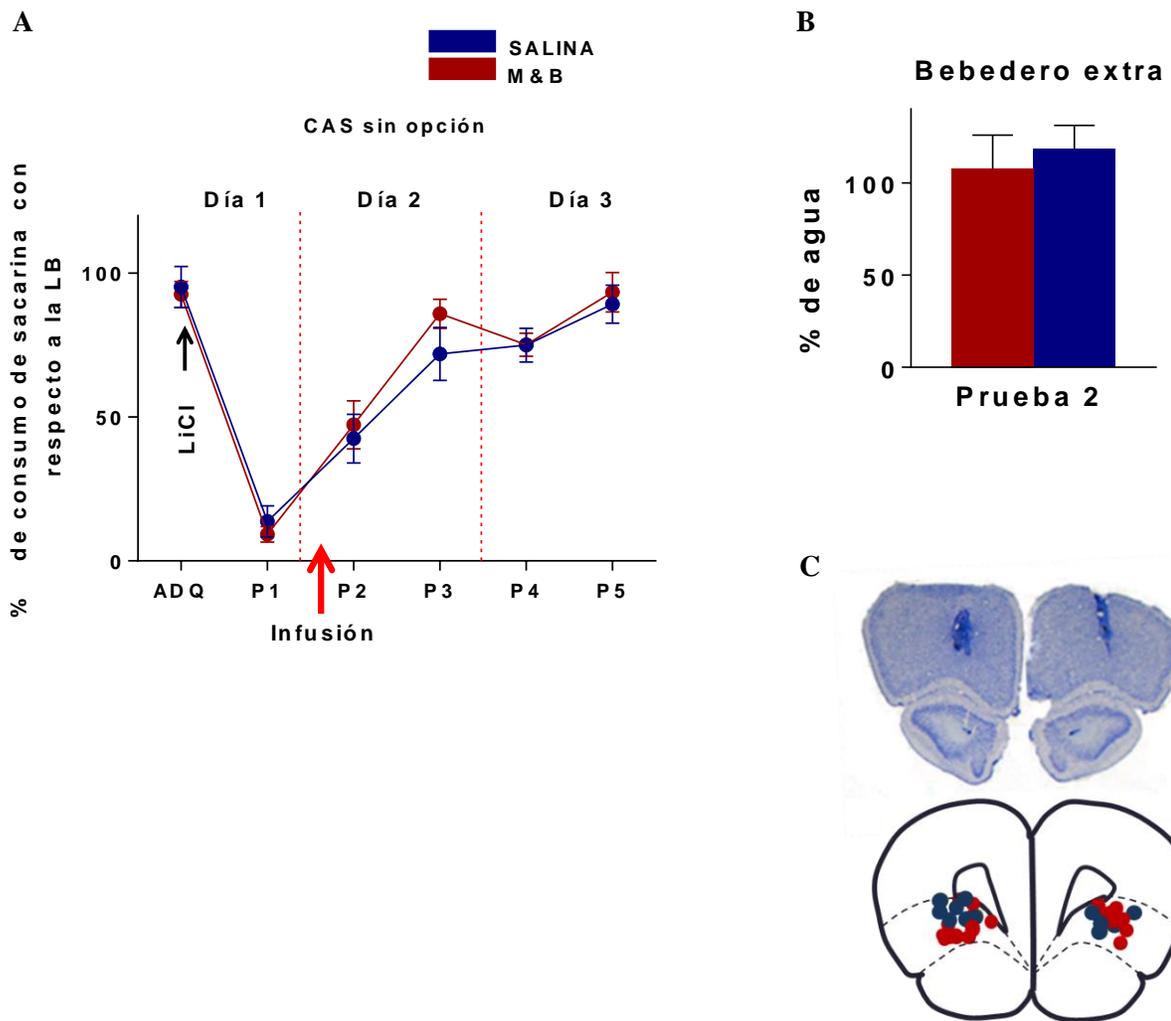
solución. Solo entonces los cerebros fueron congelados y rebanados en cortes coronales de 40 μm . Las muestras fueron teñidas con violeta de cresilo y examinadas en un microscopio de luz, con el fin de verificar la posición de la punta del microinyector. Los cortes se montaron en portaobjetos de cristal bañados de gelatina y cromalúmina. Los animales cuya posición de la punta del microinyector no se localizaba en el área de interés fueron descartados del experimento.

7. RESULTADOS

La desactivación de la COF lateral impide la evocación de la memoria del CAS con opción, sin interferir con la evocación del CAS sin opción

La desactivación de la COFI no afecta la memoria del CAS sin opción

Uno de los objetivos de este proyecto fue identificar si la COFI era necesaria para la evocación de la memoria de aversión al sabor. Para ello, se empleó el protocolo del CAS sin opción. En la gráfica 1A se observa el porcentaje de consumo de sacarina con respecto a la línea base entre los grupos tratados con salina (SAL; $n = 8$) y con muscimol y baclofen (M&B; $n = 9$) durante el CAS sin opción. El análisis realizado con la prueba ANOVA de medidas repetidas no mostró diferencias entre ambos grupos en durante la sesión de adquisición ni durante las cinco pruebas realizadas ($F_{(1,15)} = 0.28528$, $p = 0.60109$). Como puede observarse, la desactivación de COFI no afectó la evocación de la memoria de aversión al sabor, ya que no hay diferencias entre ambos grupos. En la gráfica 1B se muestra el porcentaje de consumo de agua del bebedero extra del grupo SAL y el grupo M&B. El análisis de la t de Student de muestras no pareadas mostró que no hay diferencias significativas en el consumo de agua de ambos grupos ($t_{(14)} = 0.4891$, $p = 0.6323$). En la figura 1C se observa un corte coronal del cerebro de la rata donde se observa la ubicación de la punta de los microinyectores.



Gráfica 1 La desactivación de la COFI no afecta la evocación de la memoria de aversión al sabor. **A)** La gráfica representa el consumo de sacarina con respecto al consumo basal de agua (SAL: n=8, M&B: n=9) durante el CAS sin opción. La flecha negra muestra el momento de la inyección de LiCl y la flecha roja indica el momento de la infusión de los fármacos. No se observaron diferencias significativas entre los grupos ($p>0.05$). **B)** La gráfica muestra el porcentaje de consumo de agua del bebedero extra durante la prueba 2. **C)** Imagen de un corte coronal que muestra la localización de las puntas de los inyectores en la COFI (+ 3.8mm a partir de Bregma).

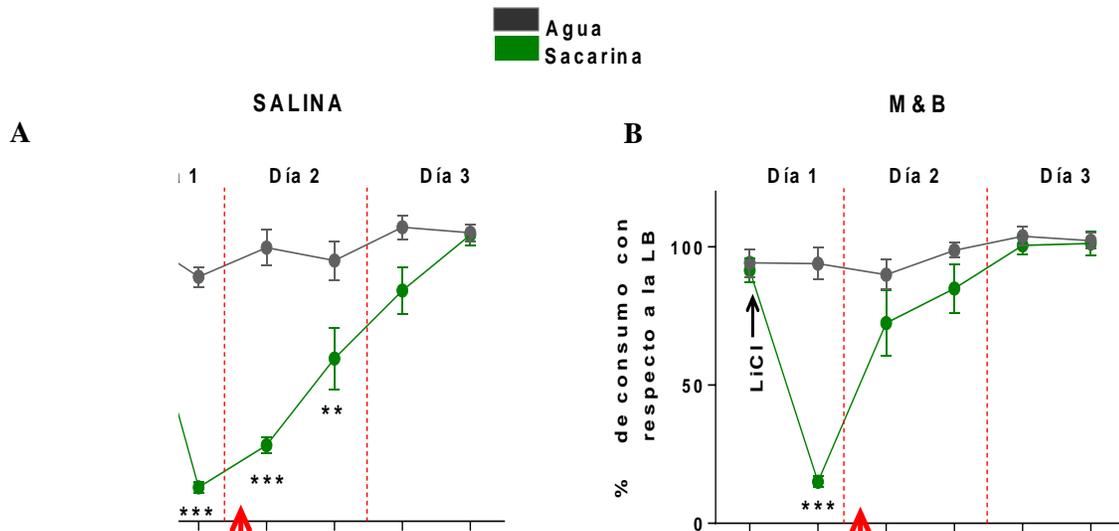
La desactivación de la COFI impide la evocación del CAS con opción

Una vez que determinamos que la COFI no es necesaria para la evocación de la memoria del CAS, el siguiente objetivo era identificar si la COFI era necesaria para la toma de decisiones basadas en la memoria de aversión al sabor. Para ello utilizamos el CAS con opción.

En la gráfica 2A se observa el porcentaje de consumo de agua y de sacarina con respecto a la línea base del grupo infundido con salina (SAL: n = 7). En el día uno, el análisis realizado con la prueba ANOVA de medidas repetidas no mostró diferencias entre el consumo de agua y de sacarina durante la adquisición del CAS con opción ($p > 0.05$). Durante la Prueba 1 observamos que hay una disminución significativa en el consumo de sacarina con respecto al consumo de agua (ANOVA de medidas repetidas, post hoc de Tukey, $F_{(1, 12)} = 120.03$, $p = .0001$). En el día dos, se realizó la microinfusión de salina en la COFI, diez minutos antes de la prueba dos. Como puede observarse, hay diferencias significativas entre el consumo de agua y de sacarina (ANOVA de medidas repetidas, post hoc de Tukey, $p = .000118$). También se observaron diferencias significativas en la prueba tres (ANOVA de medidas repetidas, post hoc de Tukey, $p = .0001$). En el día tres, no se observaron diferencias significativas entre el consumo de agua y de sacarina durante la prueba cuatro y la prueba cinco ($p > 0.05$).

En la gráfica 2B se observa el porcentaje de consumo de agua y de sacarina con respecto a la línea base del grupo infundido con muscimol y baclofen (M&B; n = 9). Durante el día uno, el análisis realizado con la prueba ANOVA de medidas repetidas no mostró diferencias entre el consumo de agua y de sacarina durante la adquisición del CAS con opción ($p > 0.05$). Durante la Prueba 1 observamos que hay una disminución significativa en el consumo de sacarina con respecto al consumo de agua (ANOVA de medidas repetidas, post hoc de Tukey $F_{(1,16)} = 28.840$, $p = .00006$). En el día dos, se realizó la microinfusión de muscimol y baclofen en la COFI, diez minutos antes de la prueba dos. Como puede observarse, no hay diferencias significativas entre el consumo de agua y de sacarina ($p = 0.558326$). No se observaron diferencias significativas en la prueba tres ($p = 0.846886$). En el día tres,

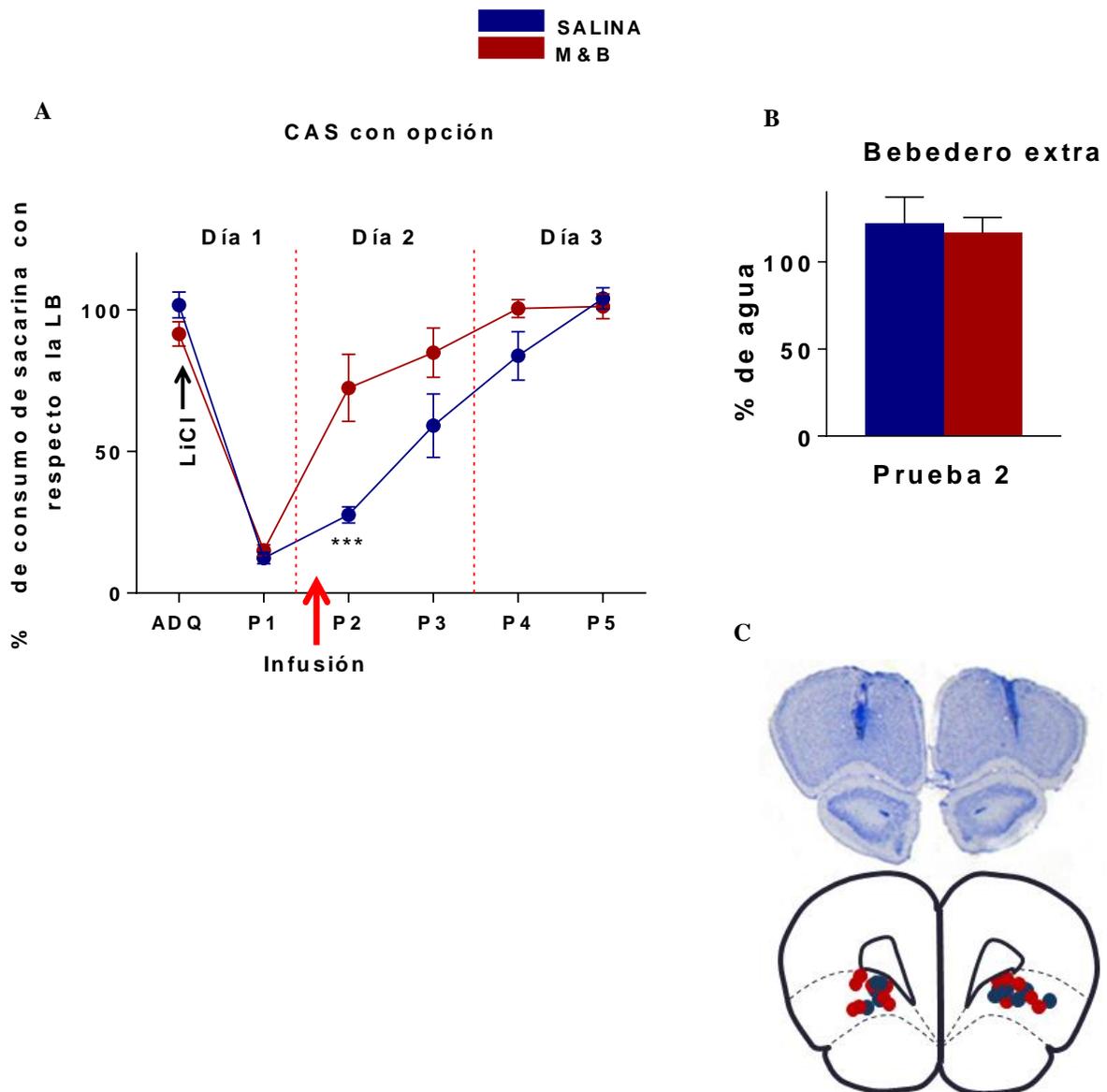
no se observaron diferencias significativas entre el consumo de agua y de sacarina durante la prueba cuatro y la prueba cinco ($p > 0.05$).



Gráfica 2 La desactivación de la COFI daña la evocación de la memoria gustativa durante el CAS con opción. **A)** En la gráfica se observa el porcentaje de consumo de agua (gris) y el porcentaje de consumo de sacarina (verde) durante el CAS con opción del grupo infundido con salina (SAL: $n=7$). Se observan diferencias significativas entre el consumo de agua y de sacarina (ANOVA de medidas repetidas, post hoc de Tukey: ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$). **B)** La gráfica muestra el consumo de agua (gris) y el consumo de sacarina (verde) en el grupo infundido con muscimol y baclofen (M&B: $n=9$). Se observaron diferencias significativas durante la P1 (ANOVA de medidas repetidas), post hoc de Tukey: *** $p < 0.001$

En la gráfica 3A observamos la comparación del consumo de sacarina entre el grupo SAL y el grupo M&B. En el día uno, el análisis realizado con la prueba ANOVA de medidas repetidas no mostró diferencias significativas en el consumo de sacarina durante la adquisición y durante la prueba uno ($p > 0.05$). En el día dos, se observa una diferencia significativa en el consumo de sacarina entre ambos grupos durante la prueba dos (ANOVA de medidas repetidas, post hoc de Tukey $F_{(1,14)} = 9.1330$; $p = 0.000597$). No se observaron diferencias significativas en la prueba tres ($p = 0.0231410$). En el día tres, no se observaron diferencias significativas en el consumo de sacarina durante la prueba cuatro ($p = 0.828628$) y la prueba cinco ($P > 0.05$) entre ambos grupos. En la gráfica 3B se muestra el porcentaje de consumo de agua del bebedero extra del grupo SAL y el grupo M&B. El análisis de la t de

Student de muestras no pareadas mostró que no hay diferencias significativas en el consumo de agua de ambos grupos ($t_{(15)} = 0.3374$, $p = 7405$). En la figura 3C se observa un corte coronal del cerebro de la rata donde se observa la ubicación de la punta de los microinyectores.



Gráfica 3 La desactivación de la COFI daña la selección de sabores. A) La gráfica representa el consumo de sacarina con respecto al consumo basal de agua (SAL: $n = 7$; M&B: $n = 9$). La flecha negra indica el momento de la inyección de LiCl y la flecha roja indica el momento de la microinfusión. Ambos grupos fueron estadísticamente significativos durante la prueba 2 (post hoc de Tukey: $***p < 0.001$). **B)** La gráfica muestra el porcentaje de consumo de agua del bebedero extra durante la prueba 2 **C)** Imagen de un corte coronal que muestra la localización de las puntas de los inyectores en la COFI (+ 3.8mm a partir de Bregma).

Estos resultados sugieren que la COFI es necesaria para la evocación de la memoria de aversión al sabor, únicamente cuando esa información es utilizada para la toma de decisiones. Nuestros datos concuerdan con lo que se ha descrito en pacientes con daño en la COFI. Estos pacientes tienen capacidades cognitivas intactas (como la memoria), pero se ven afectados en la toma de decisiones cotidianas (Wallis, 2007). Diversos estudios indican que la COFI está involucrada particularmente en situaciones complejas, donde se requiere un procesamiento significativo para determinar el valor de los resultados y guiar la toma de decisiones. En relación con lo anterior, nuestros resultados indican que la COFI es necesaria para la evaluación y comparación de varias opciones con diferente valor emocional.

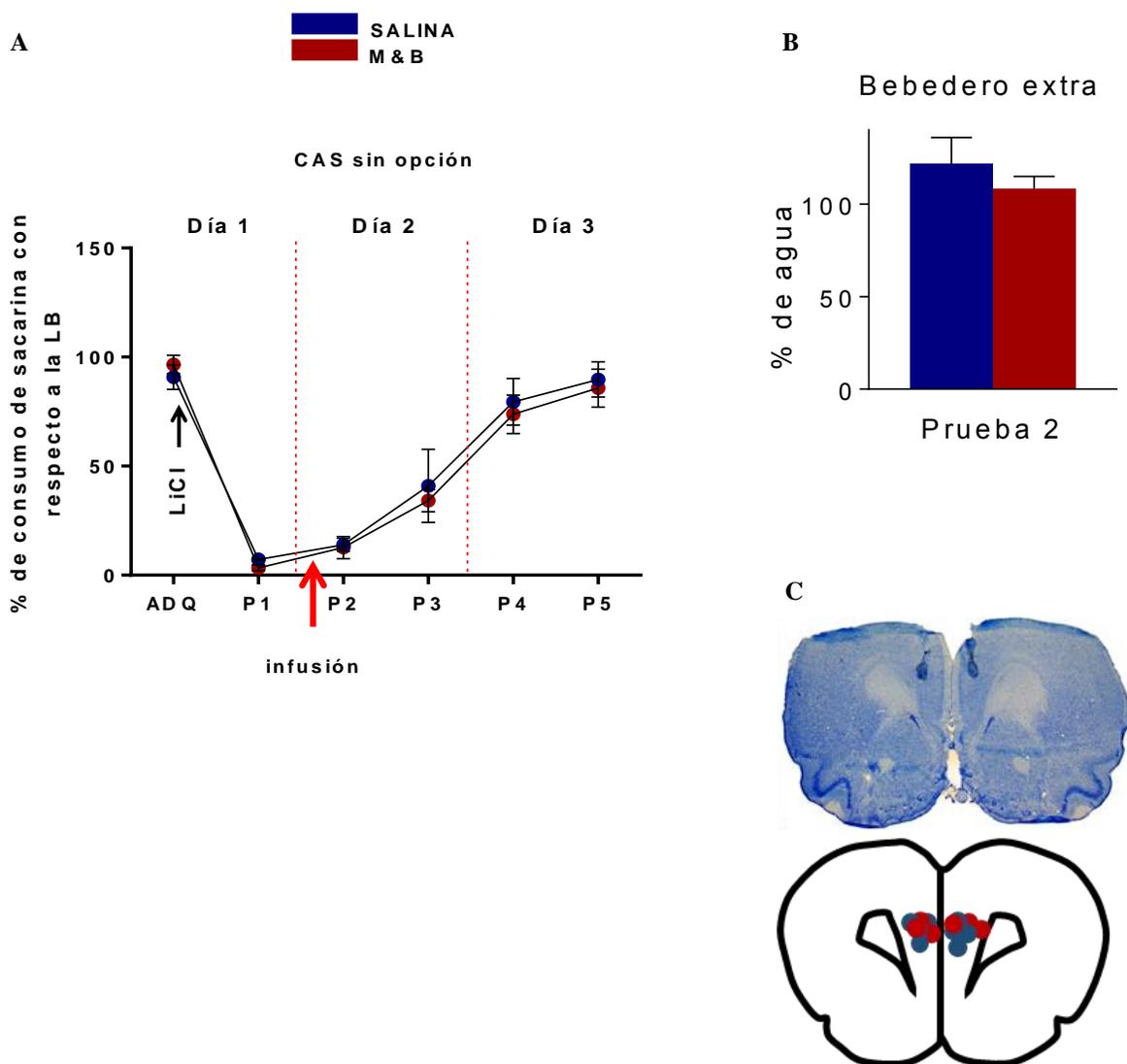
La desactivación de la CPFm daña la evocación de la memoria del CAS con opción, pero no afecta la evocación del CAS sin opción

La desactivación de la CPFm no afecta la memoria del CAS sin opción

El siguiente objetivo de este proyecto estaba encaminado a identificar si la CPFm es necesaria para la evocación de la memoria de aversión al sabor. Para ello, se empleó el protocolo del CAS sin opción.

En la gráfica 4A se observa el porcentaje de consumo de sacarina con respecto a la línea base entre los grupos microinfundidos con salina (SAL; $n = 4$) y con muscimol y baclofen (M&B; $n = 3$) durante el CAS sin opción. El análisis realizado con la prueba ANOVA de medidas repetidas no mostró diferencias entre ambos grupos en durante la sesión de adquisición ni durante las cinco pruebas realizadas ($F_{(1,5)} = 0.9685$, $p=0.76820$). Como puede observarse, la desactivación de CPFm no afectó la evocación de la memoria de aversión al sabor, ya que no hay diferencias entre ambos grupos en la prueba dos ($p > 0.05$). En la gráfica 4B se muestra el porcentaje de consumo de agua del bebedero extra del grupo SAL y el grupo M&B. El análisis de la t de Student de muestras no pareadas mostró que no hay diferencias significativas en el consumo de agua de ambos grupos ($t_{(7)} = 0.1567$, p

= 0.8799). En la figura 4C se observa un corte coronal del cerebro de la rata donde se observa la ubicación de la punta de los microinyectores.



Gráfica 4 La desactivación de la CPFm no afecta la evocación de la memoria gustativa aversiva. La gráfica representa el consumo de sacarina con respecto al consumo de agua durante la línea base (SAL: n=4, M&B: n=3) durante el CAS sin opción. La flecha negra muestra el momento de la inyección de LiCl y la flecha roja indica el momento de la infusión. No se observaron diferencias significativas entre los grupos ($p > 0.05$). **B)** La gráfica muestra el porcentaje de consumo de agua del bebedero extra durante la prueba 2. **C)** Imagen de un corte coronal que muestra la localización de las puntas de los inyectores en la CPFm (+ 2.9 mm a partir de Bregma).

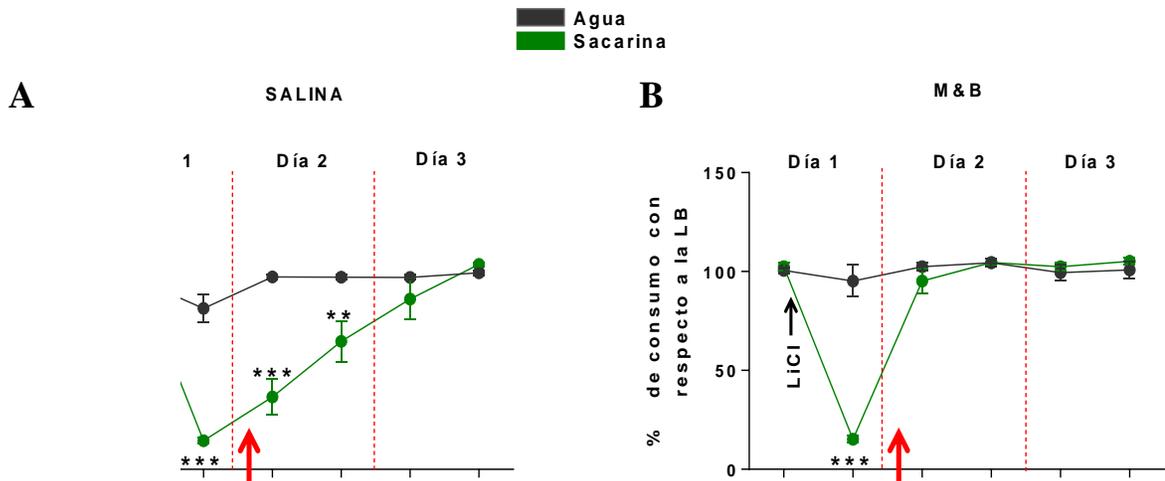
La desactivación de la CPFm daña la evocación del CAS con opción

Una vez que definimos que la CPFm no es necesaria para la evocación de la memoria del CAS, el siguiente objetivo era identificar si la CPFm era necesaria para la toma de decisiones basadas en la memoria de aversión al sabor. Para ello utilizamos el CAS con opción.

En la gráfica 5A se observa el porcentaje de consumo de agua y de sacarina con respecto a la línea base del grupo infundido con salina (SAL; n = 6). En el día uno, el análisis realizado con la prueba ANOVA de medidas repetidas no mostró diferencias entre el consumo de agua y de sacarina durante la adquisición del CAS con opción ($p > 0.05$). Durante la Prueba 1 observamos que hay una disminución significativa en el consumo de sacarina con respecto al consumo de agua (ANOVA de medidas repetidas, $F_{(1,8)} = 31.778$, $p = .0001$). En el día dos, se realizó la microinfusión de salina en la CPFm, diez minutos antes de la prueba dos. Como puede observarse, hay diferencias significativas entre el consumo de agua y de sacarina durante la prueba dos (ANOVA de medidas repetidas, post hoc de Tukey, $p = .000125$). También se observaron diferencias significativas en la prueba tres (ANOVA de medidas repetidas, post hoc de Tukey, $p = .0001$). En el día tres, no se observaron diferencias significativas entre el consumo de agua y de sacarina durante la prueba cuatro y la prueba cinco ($p > 0.05$)

En la gráfica 5B se observa el porcentaje de consumo de agua y de sacarina con respecto a la línea base del grupo infundido con muscimol y baclofen (M&B; n = 6). Durante el día uno, el análisis realizado con la prueba ANOVA de medidas repetidas no mostró diferencias entre el consumo de agua y de sacarina durante la adquisición del CAS con opción ($p > 0.05$). Durante la Prueba 1 observamos que hay una disminución significativa en el consumo de sacarina con respecto al consumo de agua (ANOVA de medidas repetidas, post hoc de Tukey, $F_{(1,10)} = 19.036$, $p = .000123$). En el día dos, se realizó la microinfusión de muscimol y baclofen en la CPFm, diez minutos antes de la prueba dos. Como puede observarse, no hay diferencias significativas entre el consumo de agua y de sacarina durante la prueba dos (ANOVA de medidas repetidas, $p = .0964080$). No se observaron diferencias

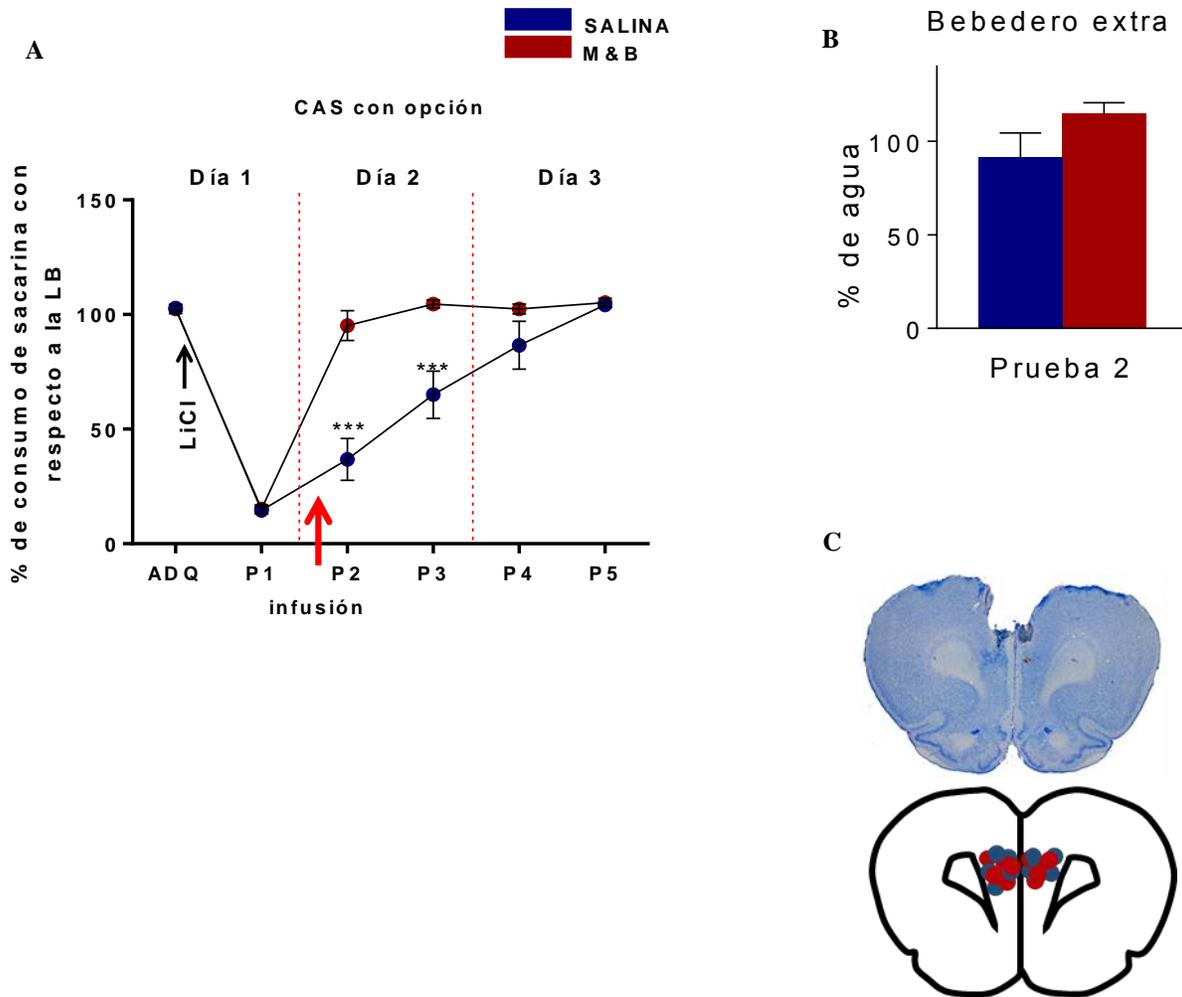
significativas en la prueba tres ($p > 0.05$). En el día tres, no se observaron diferencias significativas entre el consumo de agua y de sacarina durante la prueba cuatro y la prueba cinco ($p > 0.05$).



Gráfica 5. CPFm y CAS con opción. (A) En la gráfica se observa el consumo de agua (gris) y el consumo de sacarina (verde) durante el CAS con opción del grupo infundido con salina (SAL: n=6); Se observaron diferencias significativas entre los grupos: ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$. (B) Se muestra el consumo de agua (gris) y el consumo de sacarina (verde) en el grupo infundido con muscimol y baclofen (M&B: n=5). Solo se observaron diferencias significativas durante la prueba 1 *** $p < 0.001$

En la gráfica 6A observamos la comparación del consumo de sacarina entre el grupo SAL (n = 6) y el grupo M&B (n = 6) durante el CAS con opción. En el día uno, el análisis realizado con la prueba ANOVA de medidas repetidas no mostró diferencias significativas en el consumo de sacarina durante la adquisición y durante la prueba uno ($p > 0.05$). En el día dos, en el momento de la desactivación, se observa una diferencia significativa en el consumo de sacarina entre ambos grupos (ANOVA de medidas repetidas $F_{(1,9)} = 23.071$; $p = 0.000126$). También se observaron diferencias significativas en la prueba tres ($p = 0.000132$). En el día tres, no se observaron diferencias significativas en el consumo de sacarina durante la prueba cuatro y la prueba cinco ($P > 0.05$) entre ambos grupos. En la gráfica 6B se muestra el porcentaje de consumo de agua del bebedero extra del grupo SAL y el grupo

M&B. El análisis de la t de Student demuestras no pareadas mostró que no hay diferencias significativas en el consumo de agua de ambos grupos ($t_{(10)} = 0.1279$, $p = 1.66$). En la gráfica 6C se observa un corte coronal del cerebro de la rata donde se observa la ubicación de la punta de los microinyectores.



Gráfica 6 La desactivación de la CPFm daña la selección de un sabor asociado con una experiencia aversiva. A) La gráfica representa el consumo de sacarina con respecto al consumo basal de agua (SAL: $n = 6$; M&B: $n = 6$). La flecha negra indica el momento de la inyección de LiCl y la flecha roja indica el momento de la microinfusión. Ambos grupos fueron estadísticamente significativos durante la prueba 2: $***p < 0.001$. **B)** La gráfica muestra el porcentaje de consumo de agua del bebedero extra durante la prueba 2. **C)** Imagen de un corte coronal que muestra la localización de las puntas de los inyectores en la CPFm (+ 2.9 mm a partir de Bregma).

Nuestros resultados sugieren que la CPFm es necesaria para la evocación de la memoria de aversión al sabor, únicamente cuando la tarea involucra opciones. Se sabe que la información gustativa puede llegar a la CPFm a través de proyecciones directas de la corteza gustativa primaria (Gabbott et al., 2003). Aunado a lo anterior, se ha reportado que las neuronas de la CPFm pueden responder selectivamente a estímulos gustativos aversivos (Jezzini et al., 2013). Lo anterior indica que la CPFm es necesaria para el procesamiento de las propiedades hedónicas de los estímulos gustativos, las cuales son indispensables para guiar la toma de decisiones. Nosotros observamos que al desactivar la CPFm los animales son incapaces de evitar el sabor asociado con una experiencia aversiva y optar por un sabor familiar, que no había sido asociado con ningún evento aversivo.

En la gráfica 7A observamos la comparación del consumo de sacarina durante el momento de la desactivación (prueba dos) de la COFI y la CPFm, comparando cuando los animales tienen opción (CAS con opción) y cuando no la tienen (CAS sin opción). Se observa un incremento significativo en el consumo de la sacarina cuando los animales son entrenados en el CAS con opción (ANOVA factorial $F(1,25) = 20.180$; post hoc Tukey: $p = 0.00014$).

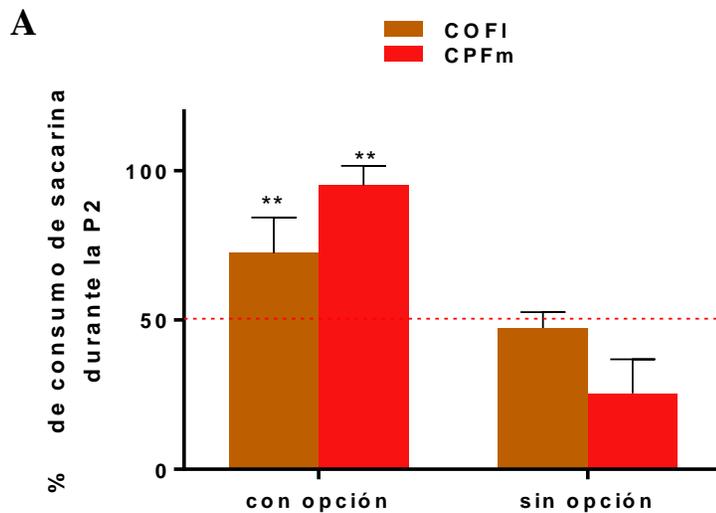


Figura 7 Comparación entre COFI y CPFm durante la desactivación del CAS con y sin opción. A) la gráfica representa el consumo de sacarina con respecto al consumo basal de agua durante la desactivación de la COFI y de la CPFm. Se observan diferencias significativas entre el CAS con opción y el CAS sin opción $**p < 0.01$. Por arriba del 50% del consumo (indicado con la línea roja) se considera que los animales no presentan aversión al sabor y por debajo del 50% los animales si presentan aversión a la sacarina.

En conjunto, nuestros resultados sugieren que la COFI y la CPFm no participan en la evocación de la memoria de aversión al sabor, pero si son necesarias para la toma de decisiones guiada por dicha memoria.

8. DISCUSIÓN

Una función primordial de las emociones es proporcionar una señal al organismo para indicar que un estímulo puede ser relevante para su supervivencia. Por lo tanto no es sorprendente que las reacciones emocionales modulen una variedad de funciones cognitivas, como la toma de decisiones.

En este estudio desarrollamos el modelo conductual de CAS con opción. Esta tarea nos permite evaluar una conducta motivada cuyo objetivo es evitar un estímulo gustativo aversivo. Por lo tanto, con este modelo pudimos identificar las diferentes regiones de la corteza frontal que están involucradas en la selección de una acción guiada por una memoria gustativa aversiva. Comparando los resultados del CAS que involucra una opción con el que no involucra opciones (CAS sin opción) evaluamos si son necesarias las cortezas prefrontales (medial y orbital lateral) para

guiar decisiones gustativas y a su vez pudimos diferenciar el papel de estas cortezas en la evocación de la memoria de aversión al sabor. Entender los mecanismos prefrontales que permiten el despliegue de conductas motivadas basadas en una memoria emocional, podría ayudar a mejor tratamientos de desórdenes en humanos caracterizados por deficiencias en la regulación de toma de decisiones que se encuentran bajo influencia emocional.

Toma de decisiones emocionales: CAS con opción

Un paradigma usado para investigar el aprendizaje y memoria de tipo gustativo emocional es el CAS (Garcia *et al.*, 1955; Lasiter *et al.*, 1985) En el CAS, los sujetos aprenden a evitar un sabor si su ingesta es seguida por malestar. Este modelo conductual generalmente implica la elección forzada del sabor novedoso asociado con una consecuencia negativa. En ocasiones, ciertas modificaciones han involucrado una situación de prueba de opción múltiple, colocando tres bebederos con sacarina y tres con agua sólo durante la prueba de aversión (Rosenblum *et al.*, 1997; Berman *et al.*, 2003). A diferencia de los protocolos convencionales, el modelo desarrollado en este trabajo consistió en que los animales aprendieran a elegir los bebederos contenedores de un estímulo gustativo seguro y rechazar aquellos que representaban un daño potencial. Para lograr dicho fin, las elecciones (cuatro bebederos) se presentaron desde el inicio de la tarea, es decir, línea base de consumo de agua, adquisición y pruebas. La ventaja de este modelo conductual, es que podemos comparar la sola evocación de la memoria gustativa aversiva (CAS sin opción) y la selección de un sabor basada en la evocación de la memoria de aversión al sabor (CAS con opción). Por lo tanto, esta comparación, nos permitió identificar las cortezas prefrontales necesarias para la evocación de la memoria gustativa y a su vez, para la toma de decisiones basadas en la memoria gustativa aversiva. Otros modelos conductuales han permitido identificar estructuras necesarias para la regulación de respuestas motivadas por memorias emocionales. Sin embargo resultan limitados para el estudio de la toma de decisiones motivadas por memorias emocionales. Lo anterior se debe a que la mayor parte de las tareas los sujetos no tienen la libertad de optar y su conducta no opera en el ambiente para evitar u obtener algo. Por lo tanto, el paradigma del CAS con opción funge como un modelo adecuado que nos permitió estudiar la forma en que una memoria emocional

puede servir como un motivador para alejarse de un estímulo gustativo aversivo y optar por uno familiar seguro.

La COFI es necesaria para la toma de decisiones basada en una memoria gustativa aversiva

En esta investigación probamos la hipótesis de que la COFI era una estructura prefrontal necesaria para la evitación de un sabor aversivo y la elección de un sabor seguro, con base en una experiencia previa. Para probar esto, desarrollamos el modelo del CAS con opción y lo comparamos con el CAS sin opción. Lo que nosotros observamos fue que la COFI no es necesaria para la evocación de la memoria de aversión al sabor cuando el animal es forzado a beber de un solo bebedero. Sin embargo, observamos que la COFI es necesaria para elegir de manera activa entre diferentes estímulos gustativos, uno seguro y uno aversivo. Estudios anteriores han reportado que diferentes regiones del lóbulo temporal son necesarias para el procesamiento de ambos tipos de memoria gustativa (De la Cruz *et al.*, 2008) En cuanto a la COFI, estudios de lesión han reportado que no es necesaria para la adquisición del CAS (Lasiter *et al.*, 1985). Una interpretación sería que la CI es la región donde se realiza la evaluación del sabor, asignando un valor positivo para un sabor seguro y un valor negativo para un sabor aversivo. En relación con lo anterior, la COFI podría ser el área donde se selecciona la acción con base en la evaluación. Lo anterior sugiere que la COFI podría estar usando la significancia motivacional de los estímulos gustativos almacenado en la CI para dirigir conductas adaptativas.

La CPFm es necesaria para la toma de decisiones basada en una memoria gustativa aversiva

En esta investigación también reportamos que la CPFm tiene una participación diferencial en la evocación de la memoria de aversión al sabor y en la selección de acciones basadas en dicha memoria emocional. Nuestros resultados concuerdan con previos estudios donde muestran al lesionar la CPFm no se altera el aprendizaje en el CAS. Asimismo, ya han sido reportados parte de los mecanismos prefrontales asociados con la formación de la memoria del CAS. Además de identificar la

participación de la CPFm en la evocación de la memoria gustativa, los resultados aquí obtenidos nos proporcionan información novedosa acerca del posible papel de la CPFm en la selección de opciones asociadas con una memoria gustativa aversiva. Con relación al papel que juegan las diferentes regiones de la CPFm en la regulación emocional, se ha reportado que la corteza infralímbica (IL) y la corteza prelímbica (PL) tienen diferentes funciones en la regulación del miedo (Vidal-Gonzalez *et al.*, 2006; Sotres-Bayon & Quirk, 2010). En este sentido, estudios electrofisiológicos y de lesión han implicado a la corteza PL en la expresión de miedo aprendido y a la corteza IL en la extinción del miedo (Quirk & Mueller, 2008). En la presente investigación, no se evaluó el papel diferencial de la corteza IL y PL en las decisiones motivadas por una memoria gustativa aversiva. Con base en la regulación diferencial sobre el aprendizaje de miedo, se podría esperar que la corteza IL y PL también tuvieran una participación diferente en la selección de los sabores. Futuros experimentos son necesarios para hacer una distinción en el papel que desempeña cada una de estas subregiones de la CPFm.

Limitaciones de estudio y futuras investigaciones

Con la implementación de un modelo conductual del CAS con opción, nosotros pudimos contestar la pregunta de cómo es que una memoria emocional puede motivar una conducta de aproximación y de evitación. No obstante aún quedan preguntas por resolver. En este trabajo únicamente abordamos el valor aversivo que adquiere un sabor y su impacto sobre la toma de decisiones. Una complementación a este trabajo sería evaluar si las cortezas prefrontales son necesarias para la toma de decisiones basadas en una memoria gustativa segura.

La memoria gustativa segura se forma cuando la ingesta de un sabor novedoso no es seguida por un malestar gástrico, por lo tanto, este sabor es reconocido como un estímulo familiar seguro (Green & Parker, 1975). Este proceso es conocido como atenuación de la neofobia (Domjan, 1976; Buresova & Bures, 1980) y puede ser observado como un incremento en la ingesta del sabor que no fue asociado con un evento aversivo. Para estudiar la participación de las cortezas prefrontales en decisiones motivadas por una memoria gustativa segura, habría que desarrollar

diversas modificaciones al protocolo de atenuación de la neofobia, en la cual el animal pueda optar entre diferentes sabores. En conjunto, dichos estudios proporcionarían un panorama más amplio acerca de la forma en que las memorias gustativas emocionales, tanto aversivas como apetitivas, pueden motivar las decisiones que tomamos y el sustrato neuronal que lo subyace.

Aunado a lo anterior, es importante señalar que el modelo de CAS con opción no nos permite conocer si las cortezas prefrontales son necesarias únicamente cuando se involucra un aprendizaje asociativo o si participan diferencialmente en el procesamiento de estímulos naturalmente aversivos o apetitivos. Para ello, el modelo debería basarse en la presentación de sabores que no requieren de un entrenamiento previo para adquirir un valor hedónico positivo o negativo. Estas modificaciones al modelo permitirían comprobar si las cortezas frontales son necesarias para seleccionar un sabor basado en una experiencia emocional previa o si la selección de un sabor puede estar modulada por estímulos gustativos que de manera innata son apetitivos o aversivos.

9. CONCLUSIONES

- La comparación del CAS con opción y el CAS sin opción, nos permitió identificar los sustratos neuronales necesarios para la evocación de la memoria gustativa aversiva y para la selección de un sabor, motivada por dicha memoria emocional negativa.
- La COFI y CPFm no son necesarias para la evocación de la memoria de aversión al sabor.
- La COFI y la CPFm son necesarias para seleccionar un estímulo gustativo seguro y evitar un sabor potencialmente dañino. Esta selección se basa en una experiencia emocional previa.

10. REFERENCIAS

- Anderson, D.J. & Adolphs, R. (2014) A framework for studying emotions across species. *Cell*, 157, 187-200.
- Barberini, C.L., Morrison, S.E., Saez, A., Lau, B. & Salzman, C.D. (2012) Complexity and competition in appetitive and aversive neural circuits. *Frontiers in neuroscience*, 6, 170.
- Baylis, L.L., Rolls, E.T. & Baylis, G.C. (1995) Afferent connections of the caudolateral orbitofrontal cortex taste area of the primate. *Neuroscience*, 64, 801-812.
- Berman, D.E., Hazvi, S., Stehberg, J., Bahar, A. & Dudai, Y. (2003) Conflicting processes in the extinction of conditioned taste aversion: behavioral and molecular aspects of latency, apparent stagnation, and spontaneous recovery. *Learning & memory*, 10, 16-25.
- Bermudez-Rattoni, F. & McGaugh, J.L. (1991) Insular cortex and amygdala lesions differentially affect acquisition on inhibitory avoidance and conditioned taste aversion. *Brain research*, 549, 165-170.
- Bissonette, G.B., Martins, G.J., Franz, T.M., Harper, E.S., Schoenbaum, G. & Powell, E.M. (2008) Double dissociation of the effects of medial and orbital prefrontal cortical lesions on attentional and affective shifts in mice. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 28, 11124-11130.
- Buresova, O. & Bures, J. (1980) Post-ingestion interference with brain function prevents attenuation of neophobia in rats. *Behavioural brain research*, 1, 299-312.
- Burgos-Robles, A., Vidal-Gonzalez, I., Santini, E. & Quirk, G.J. (2007) Consolidation of fear extinction requires NMDA receptor-dependent bursting in the ventromedial prefrontal cortex. *Neuron*, 53, 871-880.
- Corcoran, K.A. & Quirk, G.J. (2007) Activity in prelimbic cortex is necessary for the expression of learned, but not innate, fears. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 27, 840-844.
- Chudasama, Y. & Robbins, T.W. (2003) Dissociable contributions of the orbitofrontal and infralimbic cortex to pavlovian autoshaping and discrimination reversal learning: further evidence for the functional heterogeneity of the rodent frontal cortex. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 23, 8771-8780.
- Dalgleish, T. (2004) The emotional brain. *Nature reviews. Neuroscience*, 5, 583-589.

- Damasio, A.R. (1994) Descartes' error and the future of human life. *Scientific American*, 271, 144.
- Damasio, H., Grabowski, T., Frank, R., Galaburda, A.M. & Damasio, A.R. (1994) The return of Phineas Gage: clues about the brain from the skull of a famous patient. *Science*, 264, 1102-1105.
- De la Cruz, V., Rodriguez-Ortiz, C.J., Balderas, I. & Bermudez-Rattoni, F. (2008) Medial temporal lobe structures participate differentially in consolidation of safe and aversive taste memories. *The European journal of neuroscience*, 28, 1377-1381.
- Ding, L. & Perkel, D.J. (2014) Two tales of how expectation of reward modulates behavior. *Current opinion in neurobiology*, 29C, 142-147.
- Dolan, R.J. (2002) Emotion, cognition, and behavior. *Science*, 298, 1191-1194.
- Domjan, M. (1976) Determinants of the enhancement of flavored-water intake by prior exposure. *Journal of experimental psychology. Animal behavior processes*, 2, 17-27.
- Floresco, S.B. & Jentsch, J.D. (2011) Pharmacological enhancement of memory and executive functioning in laboratory animals. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 36, 227-250.
- Gabbott, P.L., Warner, T.A., Jays, P.R. & Bacon, S.J. (2003) Areal and synaptic interconnectivity of prelimbic (area 32), infralimbic (area 25) and insular cortices in the rat. *Brain research*, 993, 59-71.
- Garcia, J., Kimeldorf, D.J. & Koelling, R.A. (1955) Conditioned aversion to saccharin resulting from exposure to gamma radiation. *Science*, 122, 157-158.
- Garcia, J., Lasiter, P.S., Bermudez-Rattoni, F. & Deems, D.A. (1985) A general theory of aversion learning. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 443, 8-21.
- Green, K.F. & Parker, L.A. (1975) Gustatory memory: incubation and interference. *Behavioral biology*, 13, 359-367.
- Groenewegen, H.J. (1988) Organization of the afferent connections of the mediodorsal thalamic nucleus in the rat, related to the mediodorsal-prefrontal topography. *Neuroscience*, 24, 379-431.
- Groenewegen, H.J. & Uylings, H.B. (2000) The prefrontal cortex and the integration of sensory, limbic and autonomic information. *Progress in brain research*, 126, 3-28.

- Hernadi, I., Karadi, Z., Vigh, J., Petyko, Z., Egyed, R., Berta, B. & Lenard, L. (2000) Alterations of conditioned taste aversion after microiontophoretically applied neurotoxins in the medial prefrontal cortex of the rat. *Brain research bulletin*, 53, 751-758.
- Hurley, K.M., Herbert, H., Moga, M.M. & Saper, C.B. (1991) Efferent projections of the infralimbic cortex of the rat. *The Journal of comparative neurology*, 308, 249-276.
- Huys, Q.J., Cools, R., Golzer, M., Friedel, E., Heinz, A., Dolan, R.J. & Dayan, P. (2011) Disentangling the roles of approach, activation and valence in instrumental and pavlovian responding. *PLoS computational biology*, 7, e1002028.
- Jezzini, A., Mazzucato, L., La Camera, G. & Fontanini, A. (2013) Processing of hedonic and chemosensory features of taste in medial prefrontal and insular networks. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 33, 18966-18978.
- Jungling, K., Seidenbecher, T., Sosulina, L., Lesting, J., Sangha, S., Clark, S.D., Okamura, N., Duangdao, D.M., Xu, Y.L., Reinscheid, R.K. & Pape, H.C. (2008) Neuropeptide S-mediated control of fear expression and extinction: role of intercalated GABAergic neurons in the amygdala. *Neuron*, 59, 298-310.
- Kadohisa, M., Rolls, E.T. & Verhagen, J.V. (2005) Neuronal representations of stimuli in the mouth: the primate insular taste cortex, orbitofrontal cortex and amygdala. *Chemical senses*, 30, 401-419.
- Knapska, E. & Maren, S. (2009) Reciprocal patterns of c-Fos expression in the medial prefrontal cortex and amygdala after extinction and renewal of conditioned fear. *Learning & memory*, 16, 486-493.
- Krettek, J.E. & Price, J.L. (1974) A direct input from the amygdala to the thalamus and the cerebral cortex. *Brain research*, 67, 169-174.
- Lang, P.J. & Davis, M. (2006) Emotion, motivation, and the brain: reflex foundations in animal and human research. *Progress in brain research*, 156, 3-29.
- Lasiter, P.S., Deems, D.A. & Garcia, J. (1985) Involvement of the anterior insular gustatory neocortex in taste-potentiated odor aversion learning. *Physiology & behavior*, 34, 71-77.
- Laurent, V. & Westbrook, R.F. (2009) Inactivation of the infralimbic but not the prelimbic cortex impairs consolidation and retrieval of fear extinction. *Learning & memory*, 16, 520-529.
- LeDoux, J. (2012) Rethinking the emotional brain. *Neuron*, 73, 653-676.

- LeDoux, J.E. (1993) Emotional memory systems in the brain. *Behavioural brain research*, 58, 69-79.
- Likhtik, E., Popa, D., Apergis-Schoute, J., Fidacaro, G.A. & Pare, D. (2008) Amygdala intercalated neurons are required for expression of fear extinction. *Nature*, 454, 642-645.
- MacDonald, C.J., Meck, W.H., Simon, S.A. & Nicolelis, M.A. (2009) Taste-guided decisions differentially engage neuronal ensembles across gustatory cortices. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 29, 11271-11282.
- McAlonan, K. & Brown, V.J. (2003) Orbital prefrontal cortex mediates reversal learning and not attentional set shifting in the rat. *Behavioural brain research*, 146, 97-103.
- McDonald, A.J. (1987) Organization of amygdaloid projections to the mediodorsal thalamus and prefrontal cortex: a fluorescence retrograde transport study in the rat. *The Journal of comparative neurology*, 262, 46-58.
- McGaugh, J.L., Introini-Collison, I.B., Nagahara, A.H., Cahill, L., Brioni, J.D. & Castellano, C. (1990) Involvement of the amygdaloid complex in neuromodulatory influences on memory storage. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 14, 425-431.
- Milad, M.R. & Quirk, G.J. (2012) Fear extinction as a model for translational neuroscience: ten years of progress. *Annual review of psychology*, 63, 129-151.
- Namboodiri, V.M., Mihalas, S., Marton, T.M. & Hussain Shuler, M.G. (2014) A general theory of intertemporal decision-making and the perception of time. *Frontiers in behavioral neuroscience*, 8, 61.
- Pare, D. & Smith, Y. (1993) The intercalated cell masses project to the central and medial nuclei of the amygdala in cats. *Neuroscience*, 57, 1077-1090.
- Petyko, Z., Toth, A., Szabo, I., Galosi, R. & Lenard, L. (2009) Neuronal activity in rat medial prefrontal cortex during sucrose solution intake. *Neuroreport*, 20, 1235-1239.
- Phelps, E.A., Lempert, K.M. & Sokol-Hessner, P. (2014) Emotion and decision making: multiple modulatory neural circuits. *Annual review of neuroscience*, 37, 263-287.
- Quirk, G.J. & Mueller, D. (2008) Neural mechanisms of extinction learning and retrieval. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 33, 56-72.

- Rosenblum, K., Berman, D.E., Hazvi, S., Lamprecht, R. & Dudai, Y. (1997) NMDA receptor and the tyrosine phosphorylation of its 2B subunit in taste learning in the rat insular cortex. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 17, 5129-5135.
- Salazar, R.F., White, W., Lacroix, L., Feldon, J. & White, I.M. (2004) NMDA lesions in the medial prefrontal cortex impair the ability to inhibit responses during reversal of a simple spatial discrimination. *Behavioural brain research*, 152, 413-424.
- Santini, E., Quirk, G.J. & Porter, J.T. (2008) Fear conditioning and extinction differentially modify the intrinsic excitability of infralimbic neurons. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 28, 4028-4036.
- Schall, J.D. (2001) Neural basis of deciding, choosing and acting. *Nature reviews. Neuroscience*, 2, 33-42.
- Schoenbaum, G., Chiba, A.A. & Gallagher, M. (1998) Orbitofrontal cortex and basolateral amygdala encode expected outcomes during learning. *Nature neuroscience*, 1, 155-159.
- Schoenbaum, G. & Roesch, M. (2005) Orbitofrontal cortex, associative learning, and expectancies. *Neuron*, 47, 633-636.
- Schoenbaum, G., Roesch, M.R., Stalnaker, T.A. & Takahashi, Y.K. (2009) A new perspective on the role of the orbitofrontal cortex in adaptive behaviour. *Nature reviews. Neuroscience*, 10, 885-892.
- Schoenbaum, G., Setlow, B., Nugent, S.L., Saddoris, M.P. & Gallagher, M. (2003) Lesions of orbitofrontal cortex and basolateral amygdala complex disrupt acquisition of odor-guided discriminations and reversals. *Learning & memory*, 10, 129-140.
- Shaw, C.L., Watson, G.D., Hallock, H.L., Cline, K.M. & Griffin, A.L. (2013) The role of the medial prefrontal cortex in the acquisition, retention, and reversal of a tactile visuospatial conditional discrimination task. *Behavioural brain research*, 236, 94-101.
- Silvetti, M., Nunez Castellar, E., Roger, C. & Verguts, T. (2014) Reward expectation and prediction error in human medial frontal cortex: an EEG study. *NeuroImage*, 84, 376-382.
- Simon, S.A., de Araujo, I.E., Gutierrez, R. & Nicolelis, M.A. (2006) The neural mechanisms of gustation: a distributed processing code. *Nature reviews. Neuroscience*, 7, 890-901.

- Sotres-Bayon, F., Bush, D.E. & LeDoux, J.E. (2004) Emotional perseveration: an update on prefrontal-amygdala interactions in fear extinction. *Learning & memory*, 11, 525-535.
- Sotres-Bayon, F. & Quirk, G.J. (2010) Prefrontal control of fear: more than just extinction. *Current opinion in neurobiology*, 20, 231-235.
- Sripada, C.S., Gonzalez, R., Phan, K.L. & Liberzon, I. (2011) The neural correlates of intertemporal decision-making: contributions of subjective value, stimulus type, and trait impulsivity. *Human brain mapping*, 32, 1637-1648.
- St Onge, J.R. & Floresco, S.B. (2010) Prefrontal cortical contribution to risk-based decision making. *Cerebral cortex*, 20, 1816-1828.
- St Onge, J.R., Stopper, C.M., Zahm, D.S. & Floresco, S.B. (2012) Separate prefrontal-subcortical circuits mediate different components of risk-based decision making. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 32, 2886-2899.
- Takahashi, Y.K., Roesch, M.R., Stalnaker, T.A., Haney, R.Z., Calu, D.J., Taylor, A.R., Burke, K.A. & Schoenbaum, G. (2009) The orbitofrontal cortex and ventral tegmental area are necessary for learning from unexpected outcomes. *Neuron*, 62, 269-280.
- Thorpe, S.J., Rolls, E.T. & Maddison, S. (1983) The orbitofrontal cortex: neuronal activity in the behaving monkey. *Experimental brain research*, 49, 93-115.
- van der Meer, M.A. & Redish, A.D. (2009) Covert Expectation-of-Reward in Rat Ventral Striatum at Decision Points. *Frontiers in integrative neuroscience*, 3, 1.
- van Eden, C.G., Rinkens, A. & Uylings, H.B. (1998) Retrograde degeneration of thalamic neurons in the mediodorsal nucleus after neonatal and adult aspiration lesions of the medial prefrontal cortex in the rat. Implications for mechanisms of functional recovery. *The European journal of neuroscience*, 10, 1581-1589.
- Vertes, R.P. (2004) Differential projections of the infralimbic and prelimbic cortex in the rat. *Synapse*, 51, 32-58.
- Vidal-Gonzalez, I., Vidal-Gonzalez, B., Rauch, S.L. & Quirk, G.J. (2006) Microstimulation reveals opposing influences of prelimbic and infralimbic cortex on the expression of conditioned fear. *Learning & memory*, 13, 728-733.