



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Maestría en Ciencias Bioquímicas

Reclutamiento del núcleo accumbens en la conducta de elección
guiada por una memoria aversiva gustativa

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA:

Alan Gerardo Minguer Uribe

TUTOR:

Dr. Francisco Sotres Bayón
Instituto de Fisiología Celular

UNAM

Ciudad de México, Marzo

2021



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Índice

Índice.....	2
Agradecimientos.....	3
Resumen.....	4
Introducción	5
El procesamiento gustativo.....	6
Corteza insular	10
Corteza prefrontal	13
Corteza orbitofrontal	15
Núcleo accumbens	17
Relación entre la información gustativa y visceral	22
Condicionamiento aversivo a los sabores	23
c-Fos.....	25
Planteamiento del problema.....	27
Pregunta de investigación	28
Hipótesis.....	29
Objetivo.....	29
Métodos	30
Sujetos experimentales	30
Conducta.....	30
CAS sin opción.....	31
CAS con opción.....	32
Histología	33
Inmunohistoquímica.....	33
Análisis de los datos conductuales.....	35
Resultados	36
Discusión	44
Conclusiones.....	54
Bibliografía.....	55

Agradecimientos

A mi tutor, el Dr. Francisco Sotres Bayón , por su apoyo y guía a lo largo de todos los aspectos de mi proyecto. Gracias por darme la oportunidad de trabajar en su laboratorio cuando nadie más me la dio.

Al técnico académico del laboratorio, la Dra. Leticia Ramírez Lugo, por el apoyo técnico brindado durante el desarrollo del trabajo experimental que contiene esta tesis.

A mis amigos por ayudarme a divertirme y desestresarme los pocos momentos que no eran de trabajo.

A mis padres por brindarme todo su apoyo para que continúe estudiando algo que me apasione de verdad

A Ana, por ser la persona que más me ayudó y aguantó para que pudiera realizar este trabajo. Sin su apoyo me habría rendido hace mucho con la ciencia. Gracias por todo.

A CONACYT por otorgar el apoyo económico para llevar a cabo este proyecto como parte del Posgrado en Ciencias Bioquímicas.

Resumen

La capacidad de los organismos de elegir su alimentación es esencial para su supervivencia. Los organismos ejecutan esta elección evocando las memorias de los efectos fisiopatológicos y metabólicos que provocó lo ingerido. Estudios de nuestro laboratorio demostraron que la corteza orbitofrontal (COF) es imprescindible para guiar esta conducta de elección. Sin embargo, se desconoce si otras estructuras participan en este proceso. Un candidato es el núcleo accumbens (NAcc) debido a que es considerado un nexo entre los sistemas límbico, que integra la memoria emocional, y el sistema motor, encargado de ejecutar una acción. Con el fin de evaluar la actividad del NAcc en este tipo de conducta, se utilizó el condicionamiento aversivo al sabor (CAS) como modelo principal. Usando la sacarina como el estímulo apetitivo convertido a aversivo, se entrenó a dos grupos de animales. A un primer grupo se le presentó solo la sacarina, mientras que al segundo se le presenta acompañada de agua como segunda opción. Con el fin de evaluar la respuesta neuronal de ambos grupos durante esta conducta, se realizaron ensayos inmunohistoquímicos contra c-Fos, un biomarcador indirecto de su actividad. Bajo estas condiciones, se encontró un aumento de la actividad en el NAcc en el modelo con opción comparado con el modelo sin opción. Sin embargo, esta diferencia solo se presentó en coordenadas estereotáxicas específicas, tanto en la parte anterior como en la posterior de la estructura. Estos resultados muestran que el aumento de actividad en NAcc durante una conducta de elección no es uniforme, sino que es específico a ciertas regiones en el eje anteroposterior.

Introducción

Una de las formas más importantes con las que los organismos reconocen las características de los alimentos, es el sentido del gusto. Los humanos y muchos otros omnívoros perciben los sabores dulces, amargos, ácidos y salados. Los diferentes tipos de combinaciones de estos sabores “primarios” es lo que les permite diferenciar entre alimentos (Beauchamp & Jiang, 2015; Breslin, 2013).

Esta capacidad es de vital importancia para la supervivencia de los animales. Sin embargo, debido a la enorme cantidad de sustancias que existen en la naturaleza, esto se convierte en una tarea particularmente complicada. Si un animal elige incorrectamente su alimentación, sufrirá los efectos fisiopatológicos y metabólicos provocados por las toxinas de lo consumido. En caso de sobrevivir, podrá reconocer estos sabores en presentaciones posteriores, recordando los efectos aversivos y así evitar su consumo. Es entonces que este animal desarrolla un CAS (Breslin, 2013). Para precisar, el CAS es un tipo de aprendizaje adaptativo donde un estímulo gustativo novedoso es asociado con un estímulo aversivo interno, por ejemplo, dolor intestinal.

Diversos modelos del CAS han sido utilizados para definir las vías asociadas en el procesamiento de las memorias aversivas gustativas. En nuestro laboratorio se ha utilizado una variante del CAS donde a los animales se les presenta una segunda opción para ingerir (agua), con el fin de estudiar la conducta de elección guiada por memorias gustativas aversivas. Se encontró que la COF es necesaria para llevar a cabo esta conducta de elección, pero no para evocar las memorias gustativas

aversivas (Ramírez-Lugo et al., 2016). Existe muy poca información sobre qué otras estructuras se activan y participan en la conducta de elección basada en las memorias gustativas que desarrollan los organismos. En este trabajo se propone que el NAcc aumenta su actividad neuronal cuando se realiza una elección. Para comprender la posible participación del NAcc en esta conducta, se explicará a detalle el procesamiento gustativo y las estructuras que controlan este proceso.

El procesamiento gustativo

El sabor de las sustancias ingeridas funciona como guía para que los organismos puedan identificar y consumir nutrientes, evitando las toxinas y otras sustancias que puedan causar daño al organismo. Usualmente el sabor representa las características químicas de lo que se está consumiendo. Por ejemplo, el sabor dulce indica la existencia de carbohidratos, mientras que los sabores desagradables (amargos) identifican toxinas y alimentos en procesos de putrefacción (Chaudhari & Roper, 2010). Sin embargo, estas preferencias naturales por ciertos sabores pueden cambiar dependiendo de los efectos metabólicos de los alimentos, deficiencias nutricionales, predisposición genética, entre otras (Chambers, 2018; Dotson et al., 2012; Drewnowski, 1997). Los organismos logran diferenciar entre estos sabores debido a las interacciones químicas de los alimentos con las células gustativas de la boca, activando las distintas vías neurales que señalizan esta sensación (Lemon & Katz, 2007)

Estos receptores gustativos son células epiteliales modificadas capaces de reconocer distintos sabores, ya sea mediante receptores acoplados a proteína G o receptores de tipo canal (Fábián et al., 2015). Además, cuentan con una terminal que proyecta hacia el interior de los tejidos bucales, lo que permite la comunicación intercelular. Estas células se encuentran agrupadas en “racimos” en forma de cebolla conocidas como papilas gustativas. Recubren gran parte de la cavidad oral, incluyendo la lengua y el paladar (Lemon & Katz, 2007).

Existen tres tipos: las papilas circunvaladas o calciformes, ubicadas en la base de la lengua y que cuentan con el 50% de los receptores gustativos; las papilas foliares, localizadas en el área lateral lengua y que incluyen el 25% de los receptores gustativos; y las papilas fungiformes distribuidas en los dos tercios frontales de la superficie de la lengua y que cuentan con el 25% restante de los receptores gustativos (Figura 1) (Purves et al., 2001; Rubio-Navarro et al., 2011). También hay papilas gustativas en otras estructuras de la cavidad oral, como el paladar blando y el conducto naso-incisivo (Simon & Roper, 2014).

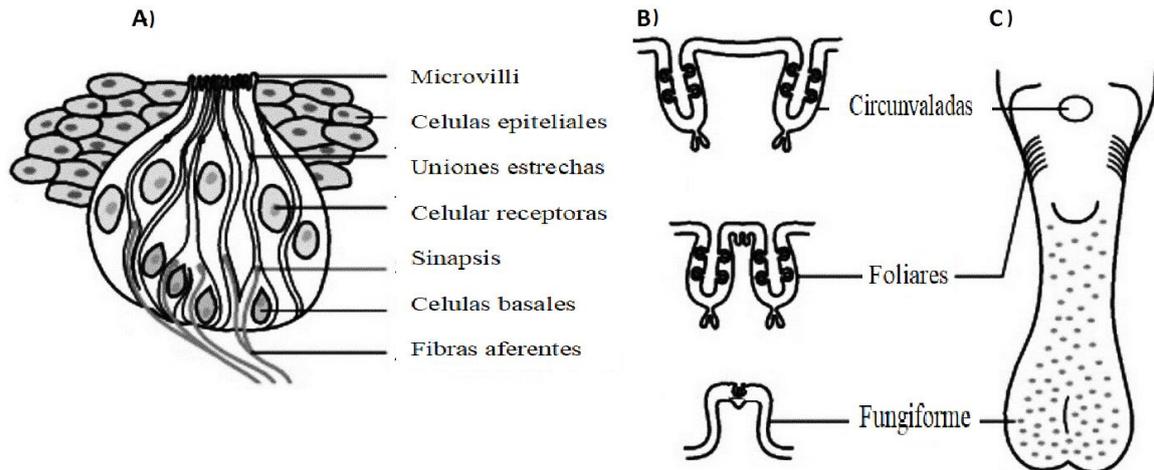


Figura 1. A) Las papilas gustativas consisten en diferentes tipos de células pequeñas involucradas en un proceso de reciclaje morfo funcional. B) Los receptores están contenidas dentro de tres clases principales de papilas. Las papilas circunvaladas en la rata son estructuras únicas en las ratas. C) Superficie de la lengua que muestra la distribución de las diferentes papilas en la rata (Modificado de (Rubio-Navarro et al., 2011)).

Las células que conforman las papilas gustativas tienen la capacidad de cambiar su potencial eléctrico, liberando neurotransmisores hacia la sinapsis que conforma con los axones de los pares craneales facial (VII), glossofaríngeo (X) y vago (IX) (Gibbons & Sadiq, 2019; Lemon & Katz, 2007), los cuales reciben la información compuesta por las propiedades químicas de los alimentos (además la información somatosensorial a través del nervio trigémino (V)) y transmitiendo esta información al núcleo del tracto solitario del tallo cerebral (NTS) (Gutierrez & Simon, 2011). El NTS es considerado como el primer relevo del sistema gustativo y visceral, siendo de vital importancia para la asociación entre los sabores y los efectos metabólicos de los alimentos (Cutsforth-Gregory & Benarroch, 2017). Es de esta forma que las señales químicas de los alimentos se convierten en impulsos nerviosos que viajan hasta llegar al tallo cerebral.

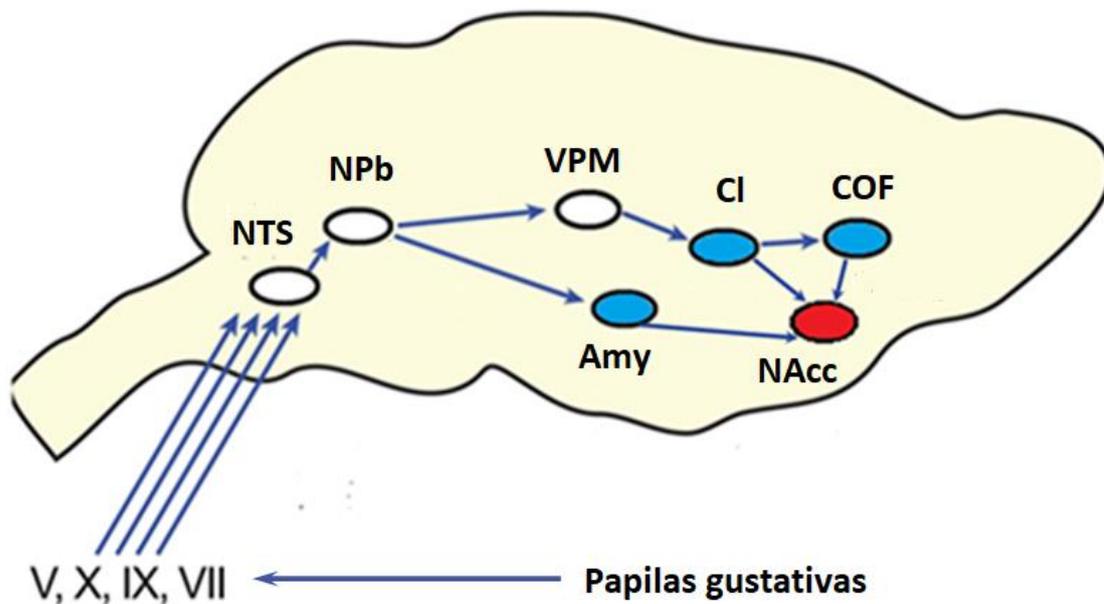


Figura 2.- Representación esquemática de la organización del sistema gustativo en roedores. La información gustativa es comunicada hacia el NTS a través de los pares craneales VII, IX y X. La información visceral también llega al NTS a través del par craneal V. A partir del NTS, el primer relevo de este sistema, la información es transmitida al NPb que a su vez es compartida hacia la Amy y a la CI a través del VPM. La CI transmite a su vez esta información hacia la COF. Por su parte el NAcc (rojo) recibe información de la CI, COF y Amy, integrando la información gustativa (estímulos externos) y visceral (estado interno) generada por los alimentos. Amy: amígdala, CI: corteza insular, COF: corteza orbitofrontal, NAcc: núcleo accumbens, NPb: núcleo parabraquial, NTS: núcleo del tracto solitario, V, X, IX, VI: nervios craneales, VPM: núcleo ventroposteromedial del tálamo (Modificado de Carleton et al., 2010).

En roedores, las fibras provenientes del NTS proyectan de forma ipsilateral a la parte rostral del núcleo parabraquial (NPb), compartiendo la información gustativa de los alimentos y la información visceral del organismo. Cabe resaltar que existe evidencia que tanto el NTS, como el NPb, reciben además información proveniente de los sistemas olfativos y somatosensoriales, integrando así las características generales de los alimentos (sabor, olor y textura) (Escanilla et al., 2015; Vincis & Fontanini, 2019) .

Desde el NPb, la información es comunicada a la amígdala (Amy). Además, estas neuronas también proyectan a lo largo de la vía talamocortical a la porción parvicelular del núcleo ventroposteromedial del tálamo (VPM). Las fibras provenientes del VPM comunican esta información hacia la corteza gustativa primaria (CI), las cuales proyectan a la corteza orbitofrontal (COF) (Figura 2) (Carleton et al., 2010; Galindo et al., 2012; Holtz et al., 2015). A continuación, se explicará más a detalle la participación de la CI y la COF en el procesamiento los estímulos gustativa y metabólica asociada, con el fin de elucidar cómo esta información puede modificar una conducta de elección.

Corteza insular

En roedores se considera a la CI como la corteza gustativa primaria. Se encuentra ubicada en la porción lateral de los hemisferios cerebrales, específicamente en la zona dorsal de la fisura rinal, extendiéndose hacia la corteza piriforme y hacia las cortezas somatosensoriales (Gogolla, 2017; Kobayashi, 2011; Maffei et al., 2012). La CI se ha dividido en una región anterior, que es principalmente una región agranular, y una posterior, con regiones disgranulares y granular mejor desarrolladas (Saper, 2004). Se ha observado que las respuesta a los estímulos viscerales se producen en la ínsula granular, mientras que las respuesta a los estímulos gustativos se produce en el área disgranular, la cual se considera como la verdadera corteza gustativa primaria (Paxinos, 2014) (Figura 3). Además, cuenta con proyecciones directas hacia la corteza prefrontal, incluyendo la corteza infralímbica, la corteza prelímbica y la COF (Reep & Winans, 1982). La COF se

considera, al menos en parte, como una corteza gustativa secundaria ya que se ha encontrado que esta estructura codifica ciertas asociaciones entre estímulos gustativos y olfativos (Rolls, 2004). Por otro lado, existe evidencia sobre la existencia de conexiones aferentes y eferentes entre la CI y la corteza prefrontal motora (CPr), que participa en el procesamiento gustativo (Gabbott, 2003; Hillman & Bilkey, 2010). Se dice entonces que la CI tiene un papel central en el sistema gustativo de los roedores.

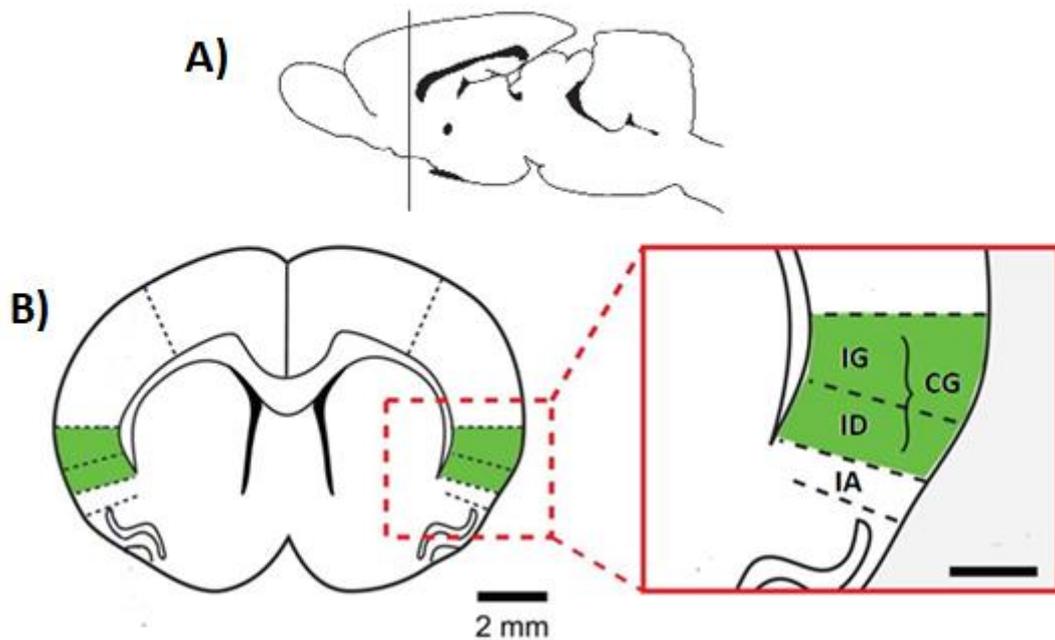


Figura 3.-Representación gráfica del área de la corteza insular (verde) que recibe información del sistema gustativo (1.5 mm anterior a Bregma en un corte A) sagital y B) coronal) (Paxinos y Watson, 2006). CG: corteza gustativa, IA: corteza insular agranular, ID: corteza insular disgranular, IG: corteza insular granular (Modificado de Carleton et al., 2010).

La CI se considera esencial para la percepción y diferenciación de estímulos gustativos, así como la adquisición y retención de memorias relacionadas con el sabor y los efectos metabólicos asociados. (Yiannakas & Rosenblum, 2017). Los registros de la actividad neuronal mediante señales ópticas intrínsecas apoyan esta afirmación (Gutierrez y Simon 2011) ya que se encontraron patrones de actividad diferente no solo cuando a las ratas se les presentaban sustancias con diferentes sabores, como la sacarina (dulce) y la quinina (amargo), sino también entre el mismo sabor cuando cambia su valor hedónico, como la sacarina condicionada aversivamente.

Por otra parte, se conoce que la CI es necesaria para la adquisición de las memorias gustativas: las lesiones farmacológicas e inactivaciones transitorias en la CI evita la adquisición de estas memorias (Dunn & Everitt, 1988; Kiefer & Orr, 1992; Yamamoto et al., 1995). Además, la CI también participa en la evocación y retención de estas memorias gustativas. La inactivación de la CI, momentos previos a la evocación de una memoria gustativa, provoca que los organismos no puedan recordar el efecto asociado con un sabor específico (Stehberg & Simon, 2011). Se muestra entonces la importancia de la CI en diversos aspectos del procesamiento gustativo, incluyendo la adquisición, retención y evocación de memorias gustativas y sus efectos asociados.

Corteza prefrontal

Como ya se mencionó, la CI cuenta con proyecciones hacia la corteza prefrontal (Reep & Winans, 1982), la cual es conocida como la corteza de asociación del lóbulo frontal. Es una de las últimas estructuras cerebrales desarrolladas en el curso de la evolución. Además, cuenta con conexiones con otras partes del cerebro, especialmente con estructuras del sistema límbico, asociado a la generación y expresión de respuestas emocionales innatas y aprendidas (Fuster, 2001; Michel-Chávez et al., 2015). En roedores, la corteza prefrontal se puede dividir en tres regiones principales: ventromedial, dorsomedial y COF (Siddiqui et al., 2008). La división dorsomedial incluye la corteza motora secundaria y el cíngulo, mientras que la zona ventromedial se divide en la corteza prelímbica (PL) e infralímbica (IL) (Figura 4) (Kamigaki, 2019). Para fines de este trabajo, es importante mencionar la participación de la corteza prefrontal en la conducta de elección, incluyendo el aprendizaje y la ejecución de ciertas acciones para obtener o evitar un resultado (De Bruin et al., 2000; Hong et al., 2019; Orsini et al., 2018).

La COF es de particular importancia en las conductas de elección basadas en memorias asociativas (Golebiowska & Rygula, 2017; Rivalan et al., 2011). De acuerdo a Schoenbaum et al. (2011), esto se debe a que la COF es necesaria para la representación del valor relativo de un estímulo, es decir, que es dependiente de otros estímulos presentes y no al valor absoluto del estímulo. Mediante experimentos de nuestro laboratorio identificamos que COF es necesaria para realizar una conducta de elección guiada por memorias gustativas aversivas. Es

decir, parece que la COF es necesaria cuando se compara el valor relativo de varios estímulos durante la elección (Ramírez-Lugo et al., 2016), lo cual concuerda con los estudios ya mencionados. A continuación, se hablará más a detalle de la COF y su participación en las conductas de elección.

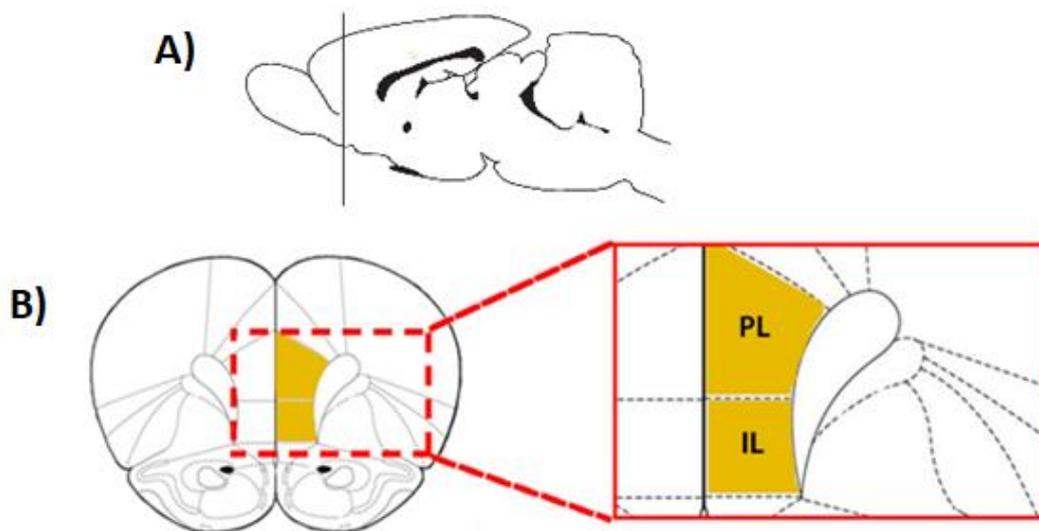


Figura 4.- Representación gráfica del área de la corteza prefrontal ventromedial (narajnja) (3.2 mm anterior a Bregma en un corte A) sagital y B) coronal) (Paxinos y Watson, 2006). PL: Corteza prelímbica, IL: Corteza infralímbica

Corteza orbitofrontal

La COF (Figura 5) se sitúa en el banco dorsal del extremo rostral del surco rinal (fisura renal externa) y se divide en las áreas medial, ventral, ventrolateral, lateral orbital, e ínsula agranular (Izquierdo, 2017). Una de sus características más importantes es que cuenta con conexiones aferentes provenientes de gran parte de los sistemas sensoriales, incluyendo el gustativo, visceral, visual y olfativo (Zald et al., 2006). En cuanto a su participación en el sistema gustativo, como ya se mencionó, se considera a la COF como la corteza gustativa secundaria debido a sus proyecciones aferentes por parte de la CI (Carleton et al., 2010). Además, registros electrofisiológicos en macacos mostraron que ciertas neuronas en la COF respondían de manera uni- o multimodal hacia el sabor, la viscosidad y la temperatura de ciertos alimentos (Kadohisa et al., 2004). En relación con el sistema visceral, a través de registros electrofisiológicos, se ha mostrado que la COF responde, específicamente a estímulos dolorosos (Follett & Dirks, 1995).

Por otra parte, se ha mostrado evidencia de que la COF es necesaria para guiar conductas de elección en diversos modelos (Dunn & Everitt, 1988; Groman et al., 2019; Hong et al., 2019; Pais-Vieira et al., 2007). Por ejemplo, estudios en diferentes mamíferos mostraron que lesiones en esta estructura impide que un organismo cambie su conducta cuando se le presenta un estímulo que predice un resultado diferentes al previamente aprendido, por ejemplo, un sonido que anteriormente predecía la entrega de una recompensa, ahora predice un choque eléctrico (Fellows & Farah, 2003; Izquierdo et al., 2004; Geoffrey Schoenbaum et al.,

2003). Como ya se mencionó, experimentos realizados en nuestro laboratorio mostraron que la COF es necesaria para realizar correctamente la elección guiada por memorias gustativas aversivas pero, a diferencia de la CI, no es necesaria para la evocación de la memoria gustativa *per se* (Ramírez-Lugo et al., 2016). En resumen, al recibir información tanto del sistema gustativo como del visceral por parte de la CI, la COF participa en la conducta de elección guiada por este tipo de información.

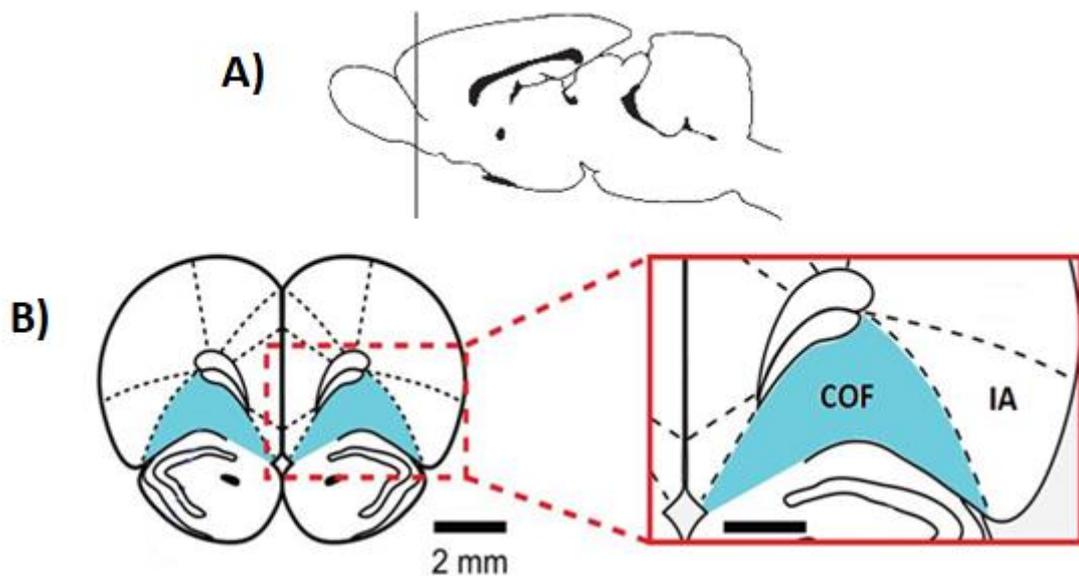


Figura 5.- Representación gráfica del área de la corteza orbitofrontal (azul) que recibe información del sistema gustativo (4.2 mm anterior a Bregma en un corte A) sagital y B) coronal) (Paxinos y Watson, 2006). COF: corteza orbitofrontal, IA: corteza insular agranular (Modificado de Carleton et al., 2010)

Sin embargo, aunque conocemos que el papel de la COF en esta conducta se debe a que codifica el valor relativo de los estímulos, debería existir una estructura que module el acercamiento y/o alejamiento hacia estos estímulos. Esta función normalmente es llevada a cabo por el circuito formado por los ganglios basales (Ikemoto et al., 2015; Mink, 2018), del cual el núcleo accumbens (NAcc) es una estructura fundamental. A continuación, se explicará más a detalle las características estructurales y funcionales del NAcc.

Núcleo accumbens

En mamíferos, el NAcc es una región en la parte rostral del cerebro, formando parte del estriado ventral (Ramírez-Lugo et al., 2007). Anatómicamente, el NAcc se ha dividido en dos subterritorios: el core y el shell. El core es una zona celular central del NAcc, densamente compactada que encierra a la comisura anterior. Por otro lado, el shell cuenta con un arreglo celular menos denso que el core y se sitúa en la área ventral y medial, ocupando dos tercios del NAcc (Figura 6) (Kuyck et al., 2007; Záborszky et al., 1985). Algunos estudios consideran que la división entre core y shell solo es distinguible en los tres cuartos más posteriores del NAcc, denominando a la zona más anterior del NAcc como polo rostral (Fabbricatore et al., 2009; Zahm & Brog, 1992; Zahm & Heimer, 1993; Zimmermann et al., 1999), sin embargo no es comúnmente considerada como un subterritorio en los estudios que implican al NAcc (Salgado & Kaplitt, 2015). Por otra parte, estudios morfológicos en ratas han determinado que las células que se encuentran en el shell cuentan con

una cantidad menor de dendritas y espinas dendríticas que las que se encuentran en el core. Además, la forma de estas dendritas tiende a ser diferente en el shell, contando con arreglos dendríticos más alargados (O'Donnell & Grace, 1993).

En cuanto a la naturaleza bioquímica de sus proyecciones aferentes, se conoce que tanto el core como el shell reciben una gran cantidad de proyecciones glutaminérgicas, además de dopaminérgicas y serotoninérgicas, siendo estas últimas más numerosas en el shell que en el core (Brown & Molliver, 2000; Deutch & Cameron, 1992; Ikeda et al., 2012; Kalivas & Barnes, 2019). En cuanto al core, la calbindina, la encefalina y los receptores GABA_A se encuentran en una mayor concentración (Salgado & Kaplitt, 2015; Shirayama & Chaki, 2006).

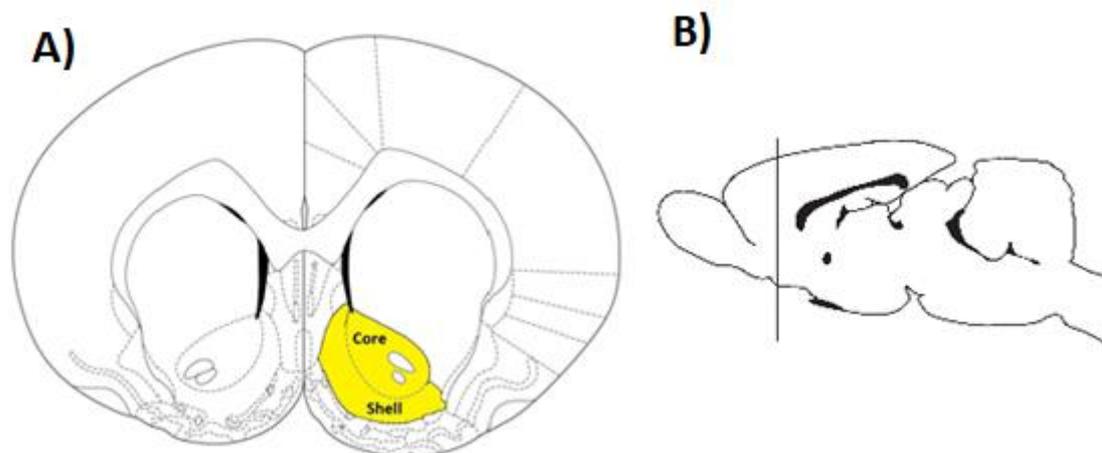


Figura 6.- Representación gráfica del núcleo accumbens (amarillo) (2.2 mm anterior a Bregma en un corte A) sagital y B) coronal) (Modificado de Paxinos y Watson, 2006).

Dentro del NAcc, la mayoría de las células presentes (aproximadamente 95%) son neuronas medianas espinosas (NMS), que se dividen categóricamente en función de la expresión de los receptores de dopamina tipo 1 (D1-MSN) o tipo 2 (D2-MSN), siendo el resto interneuronas GABAérgicas y colinérgica (Madayag et al., 2019). Debido a su conectividad, se considera al NAcc como la interfaz funcional entre el sistema límbico y el sistema motor: tiene comunicaciones recíprocas con la área tegmental ventral (ATV), el pálido ventral (PV), la corteza prefrontal, la amígdala, el hipocampo y la formación reticular (Brog et al., 1993; Dafny & Rosenfeld, 2017). De forma más específica para los intereses de este trabajo, el NAcc recibe fibras aferentes provenientes de estructuras reguladoras del sistema gustativo: el NTS, la CI y la COF (de Oliveira et al., 2011); mientras que también recibe proyecciones de la amígdala basolateral (ABL), implicada en representación del valor hedónico de una conducta, ya sea aversiva o recompensante (Jackson & Moghaddam, 2001). En cuanto a sus conexiones eferentes, el NAcc envía proyecciones hacia el ATV y sustancia Nigra (vía directa), además de al PV (vía indirecta) (Figura 7) (Kupchik et al., 2015). Se cree que las vías directa e indirecta controlan diversos aspectos de la conducta de elección. Las neuronas de la vía directa aumentan su actividad cuando ocurre una situación mejor de lo esperada, promoviendo el acercamiento inmediato hacia el estímulo, además de reforzar las sinapsis corticoestriatales para promover la selección de este estímulo en el futuro (Bromberg-Martin et al., 2010). Por otro lado, la vía indirecta inhibe la conducta de acercamiento hacia estímulos aversivos o no recompensantes y a su vez promoviendo la elección de evitar este estímulo en el futuro (Hikida et al., 2013; Nakanishi et al., 2014). Debido a esto se cree que el NAcc es capaz de regular las conductas de elección en diversos

modelos conductuales, ya que recibe información sensorial y del estado interno del organismo, y a su vez utiliza esta información para generar una acción o para inhibirla, dependiendo del contexto (Hikida et al., 2013; Hikosaka et al., 2019).

Como ya se explicó, debido a estas conexiones, se considera al NAcc como una interfaz funcional entre el sistema límbico y el sistema motor, a través de las vías directa e indirecta (Salgado & Kaplitt, 2015), así jugando un papel importante dentro de los mecanismos necesarios para escoger y ejecutar un plan de acción para lograr un objetivo. De forma específica, se sabe que el NAcc participa en circunstancias ambiguas o cambiantes, donde es necesaria la flexibilidad de la conducta, es decir, cuando los organismos deben identificar y realizar un nuevo conjunto de acciones que dependen de la situación en la que se encuentran (Ambroggi et al., 2011; Floresco et al., 2008; Ghazizadeh et al., 2012; Nicola, 2010; Sicre et al., 2020). Con respecto a su relación con las memorias gustativas aversivas, mediante análisis inmunohistoquímicos se descubrió un aumento de la actividad del NAcc durante la formación de estas memorias, el cual es dependiente de la concentración de dopamina (Ramírez-Lugo et al., 2007). Además, cuando los organismos evocan estas memorias, también se genera un aumento en la actividad del NAcc (Soto et al., 2017; Yasoshima et al., 2006). Sin embargo, ésta parece ser independiente de los niveles de dopamina (Marotta et al., 2014).

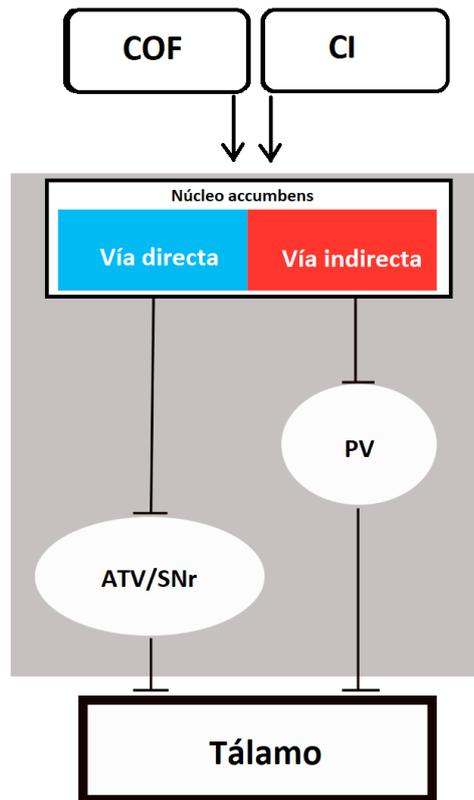


Figura 7.- Modelo de la vía directa (azul) e indirecta (rojo) del Núcleo accumbens. ATV: Área Tegmental Ventral, PV: Pálido Ventral, SNr: Sustancia negra, COF: Corteza orbitofrontal, CI: Corteza insular (Modificado de (Kupchik & Kalivas, 2017).

Para recapitular, el NAcc es una de las estructuras posiblemente más involucrada en una conducta de elección guiada por memorias gustativas aversivas debido a la existencia de conexiones aferentes del sistema gustativo (CI y COF) y la ABL, y de esta manera, implicada en conductas aversivas y apetitivas. Esta región, además, funciona como una estructura clave en las vías directa e indirecta que desencadenan una conducta motivacional, regulando las conductas de acercamiento y alejamiento dependiendo de los estímulos presentes.

Relación entre la información gustativa y visceral

De cierta forma el sistema gustativo (en especial la CI y la COF), es el intermediario entre los mundos externo e interno. Se encuentra en la interfaz de estos dos entornos muy diferentes y, por lo tanto, se encarga de tomar la decisión final sobre qué, desde un entorno químico externo incontrolado y a menudo hostil, debe incorporarse en el entorno bioquímico altamente controlado del interior del organismo (Scott, 2011).

En la naturaleza el sentido del gusto cumple principalmente dos funciones: permite a los organismos evaluar la naturaleza de lo ingerido, es decir el valor nutritivo o tóxico de los alimentos, a la vez que les ayuda a elegir que alimentos volver a ingerir y a prepararse para metabolizarlos (Breslin, 2013). Este sentido es de particular importancia para los animales omnívoros debido a la gran variedad de alimentos que pueden ingerir y su variación en contenido de nutrientes, además considerando que aumenta la probabilidad de ingerir toxinas de forma accidental (Breslin, 2013). El sentido del gusto es especialmente adecuado para aprender sobre las consecuencias viscerales, como la saciedad y las náuseas, comparado con el aprendizaje hacia estímulos meramente externos (Scott, 2011).

Recapitulando, es de suma importancia para la supervivencia de los organismos la asociación entre los alimentos y los efectos en el organismo, que pueden ser apetitivos, neutros o aversivos. Un modelo muy útil para estudiar este fenómeno y que previamente ha sido utilizado en el laboratorio, es el condicionamiento aversivo al sabor.

Condicionamiento aversivo a los sabores

La “conversión” en la preferencia por un sabor (comúnmente conocido como estímulo condicionado o EC) que se ha asociado con un malestar visceral (comúnmente conocido como estímulo no condicionado o EN) se le conoce como condicionamiento aversivo al sabor (CAS). Constituye una asociación aprendida entre las propiedades sensoriales del gusto y las propiedades sensoriales del malestar y puede ocurrir cuando la aparición ocurre en minutos e incluso horas después del EC (Chambers, 2018).

La mayoría de los animales, en especial los que cuentan con una dieta variada cambiante, pueden experimentar un proceso de CAS. En la naturaleza es más probable experimentar CAS compuesto (una combinación de uno o más de propiedades o sensoriales) debido a la gran variedad de estas propiedades en los alimentos como pueden ser la textura, la temperatura, el sabor, entre otras. Para analizar este fenómeno en el laboratorio, se utiliza un EC formado por un elemento singular (sabores) minimizando cualquier otra característica o, en caso de no poderse eliminar tal, compartirla con el control, por ejemplo: el uso de distintos sabores pero que ambos se presenten en estado líquido (Lin et al., 2017). En este caso se utilizó la sacarina como el EC, el cual ha probado ser efectivo previamente en el laboratorio (Ramírez-Lugo et al., 2016).

En cuanto a los EN utilizados, García y Ervin (1968) reportaron que los estímulos gustativos que se asociaban con un estímulo aversivo interno, por ejemplo dolor estomacal, son más efectivos para desarrollar el CAS que otros estímulos aversivos

de naturaleza externa, por ejemplo la presencia de un shock eléctrico. Esto lo explicaban postulando que “la selección natural probablemente favorecía mecanismos que asociaban las señales gustativas y olfativas con un estado interno de malestar dado que los receptores químicos analizaban el material que estaba por incorporarse al estado interno del animal”. De esta forma el EN más comúnmente utilizado en el campo y empleado también en este trabajo, es el cloruro de litio (LiCl), ya que su inyección o consumo induce náusea y malestar intestinal, transmitiendo esta información al cerebro a través del nervio vago (X) y los nervios aferentes esplánicos (Welzl et al., 2001).

En el caso de este trabajo, se utilizaron dos variantes del CAS: en ambos grupos se asoció el sabor de la sacarina con un evento aversivo, sin embargo en el segundo grupo se les presentó la opción de ingerir agua en lugar de la sacarina. Esto se realizó con el fin determinar qué estructuras pueden estar participando en la conducta de elección guiada por una memoria gustativa aversiva (grupo con sacarina y agua), pero sin activarse de forma exclusiva durante la evocación de esta memoria (grupo con solo sacarina) (más detalles en la metodología).

c-Fos

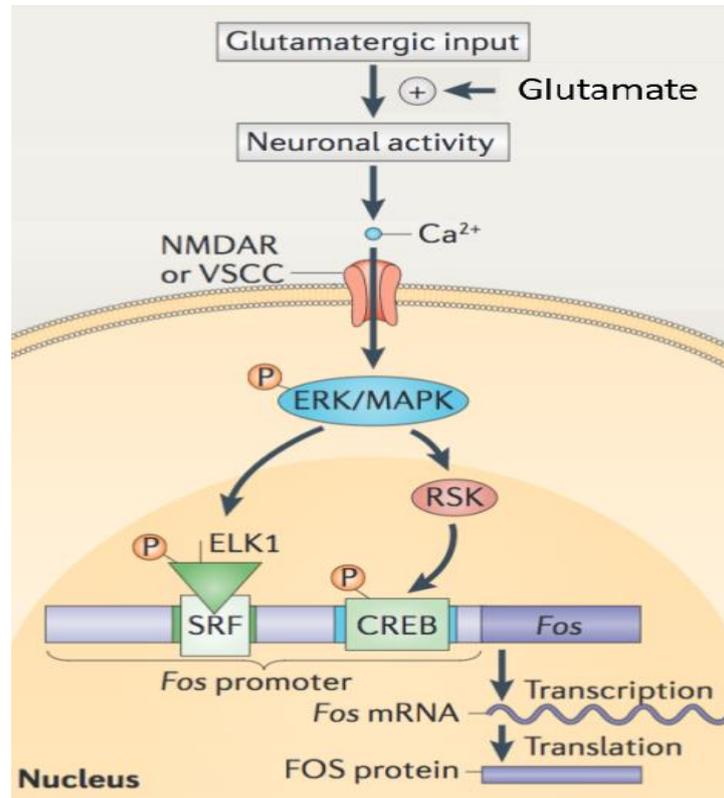


Figura 8. Vía de la transcripción del gen c-Fos por receptores glutamatergicos (NMDAR) o entrada de calcio por canales dependientes de voltaje (VSCC) (Cruz et al., 2013).

Para identificar el reclutamiento (activación) del NAcc en este tipo de conducta, en este trabajo se usó la detección inmunohistoquímica de la proteína c-Fos. Ésta proteína es codificada a partir del gen de expresión rápida *fos*, de 62 kDa, el cual posee una cremallera de leucina en el dominio de unión a proteínas que promueve la dimerización otros factores de transcripción que contienen cremallera de leucina, como los miembros de la familia Jun, para formar un complejo dimérico de unión a DNA (Vinson et al., 2002).

La expresión del gen *fos* es dependiente de la vía MAPK (proteína quinasa activada por mitógeno) que se activa mediante el aumento del calcio intracelular en respuesta a la activación de receptores glutamatérgicos (Appleyard, 2009) (Figura 8). El aumento en la cantidad de calcio es resultado de una larga y continua actividad neuronal, como la que se da cuando un organismo realiza una conducta (Chung, 2015). El comienzo de la transcripción del gen *fos* es de entre 5 a 20 min posteriores a un estímulo. La acumulación de ARNm alcanza un máximo entre 30 y 45 min después del inicio de diversos estímulos, disminuyendo con una vida media corta de 12 min. La síntesis de la proteína sigue a la acumulación de su mRNA y se puede detectar mediante inmunohistoquímica desde los 20 min posteriores a un estímulo, alcanzado una máxima acumulación a los 90 minutos después de la estimulación (Perrin-Terrin et al., 2016). El empleo de c-Fos tiene ventajas ante otros tipos de marcadores: se presenta en cantidades muy bajas en estado basal, su respuesta es transitoria, su detección no es complicada y puede combinarse con otros marcadores, entre otras (Kovács, 2008). Debido a estas características, la inmunohistoquímica contra c-Fos resulta ser una herramienta muy útil para estudiar la actividad neuronal de ciertas estructuras, en este caso el NAcc, en nuestro modelo de conducta.

Planteamiento del problema

Se conoce que, anatómicamente, la parte ventral de estriado que contiene al NAcc representa un enlace entre el sistema límbico y el sistema motor. Funcionalmente se ha sugerido que el NAcc utiliza información emocional (proveniente del sistema límbico) para ejecutar acciones conductuales (a través del sistema motor). El condicionamiento aversivo gustativo en roedores es un buen modelo animal para estudiar los mecanismos cerebrales que subyacen al procesamiento de información emocional aprendida y la ejecución de conductas guiadas por esa memoria. Estudios previos han mostrado, de manera independiente, que el NAcc es una estructura cerebral que es necesaria, por una parte, para la evocación de memorias gustativas, y por otro lado, para conductas de elección. Sin embargo, no está claro cómo se recluta dicha estructura cuando las memorias gustativas guían conductas de elección.

Pregunta de investigación

¿Hay un mayor reclutamiento neuronal del NAcc durante la conducta de elección guiada por memorias aversivas que cuando se evoca dicha memoria sin opciones de elección?

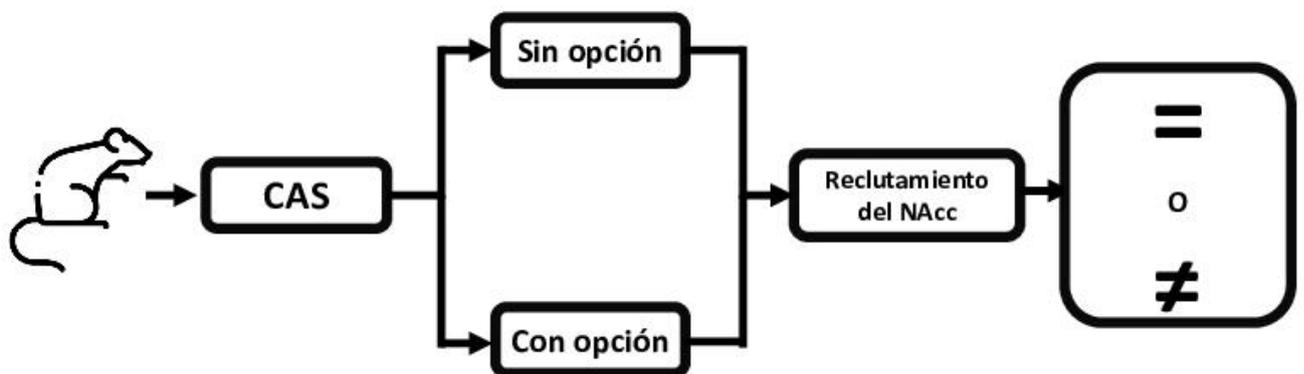


Figura 9. Diagrama sinóptico que representa el análisis comparativo del reclutamiento del NAcc en dos diferentes modelos

CAS: con y sin opción (Ver metodología) CAS; condicionamiento aversivo al sabor.

Hipótesis

El número de neuronas reclutadas del NAcc (evaluado por expresión de c-Fos) será mayor cuando las memorias gustativas guían conductas de elección que cuando dichas memorias se evocan en ausencia de opciones de donde elegir.

Objetivo

Mediante la cuantificación del marcador proteico de actividad temprana neuronal c-Fos, evaluar el reclutamiento del NAcc (a lo largo de su eje anteroposterior) durante:

- 1) La evocación de una memoria gustativa aversiva (utilizando el CAS sin opción).
- 2) Conducta de elección guiada por la evocación de una memoria gustativa (utilizando el CAS con opción).

Métodos

Sujetos experimentales

Los sujetos experimentales fueron 10 ratas de la cepa Wistar, machos, con un peso inicial de 270-300 gramos, pertenecientes a una colonia criada en el Instituto de Fisiología Celular. Los animales se mantuvieron en el *vivarium* en cajas individuales a una temperatura controlada (24°C) bajo ciclos de luz/oscuridad con una duración de 12 horas cada uno. Todos los procedimientos conductuales y manipulaciones fueron realizados durante el ciclo de luz. Los animales se mantuvieron con una dieta de agua y chow *ad libitum* antes de comenzar el experimento. Todos los procedimientos fueron avalados por el IFC a través del manual para el Cuidado y Uso Animal de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Conducta

Se privó de agua a los animales 24 horas antes de empezar el experimento para asegurar que bebieran de alguno de los bebederos presentados durante el condicionamiento. Durante los siguientes 5 días, periodo que llamaremos *línea base* (entrenamiento), se presentó uno (CAS sin opción) o cuatro (CAS con opción) bebederos con un total de 12 ml de agua en el bebedero individual o en los cuatro bebederos en conjunto (3 ml por bebedero) durante 10 min, seguido de un bebedero extra con 6 ml durante los siguientes 10 min que evalúa la motivación de

los animales a beber, independientemente del grupo al que pertenecen (20 min de periodo experimental). Este procedimiento se realizó 2 veces al día con una diferencia de 6 horas. En el día 1 -experimental- se realizó la adquisición del CAS donde se presentó un estímulo gustativo nuevo (sacarina 0.1%) como estímulo condicionado (EC) y 15 min después se administró una inyección intraperitoneal de cloruro de litio (LiCl, 0.4M, 7.5 ml/kg) para inducir malestar gástrico como el estímulo incondicionado (EI). Se realizó el primer (PB1,) y segundo (PB2) consumo de sacarina post-adquisición 6 y 24 hrs después del condicionamiento, respectivamente. Esto se realizó con el fin de evaluar el aprendizaje al cuantificar el consumo de sacarina, el cual debe disminuir durante la PB1 y la PB2 al compararlo con la línea base. Las PB1 y PB2 se realizaron al presentar el EC, pero no el EI.

CAS sin opción

La adquisición del CAS se llevó a cabo presentando primero el bebedero extra (6ml de agua)(10min) y después la botella con sacarina (12 ml)(10 min) para que el último estímulo que beban los animales antes de la inyección de LiCl (15 minutos despues) sea la sacarina y asociaran su sabor con el malestar gástrico (Figura 10).

CAS con opción

Durante la adquisición se presentó primero los cuatro bebederos (dos con sacarina intercalados con dos de agua; 3 ml cada uno)(10min) y en seguida el bebedero extra que, únicamente durante la adquisición, también contenía sacarina (10 min). Después de 15 min se les administró la inyección del LiCl. Durante las pruebas el bebedero extra tenía agua nuevamente.

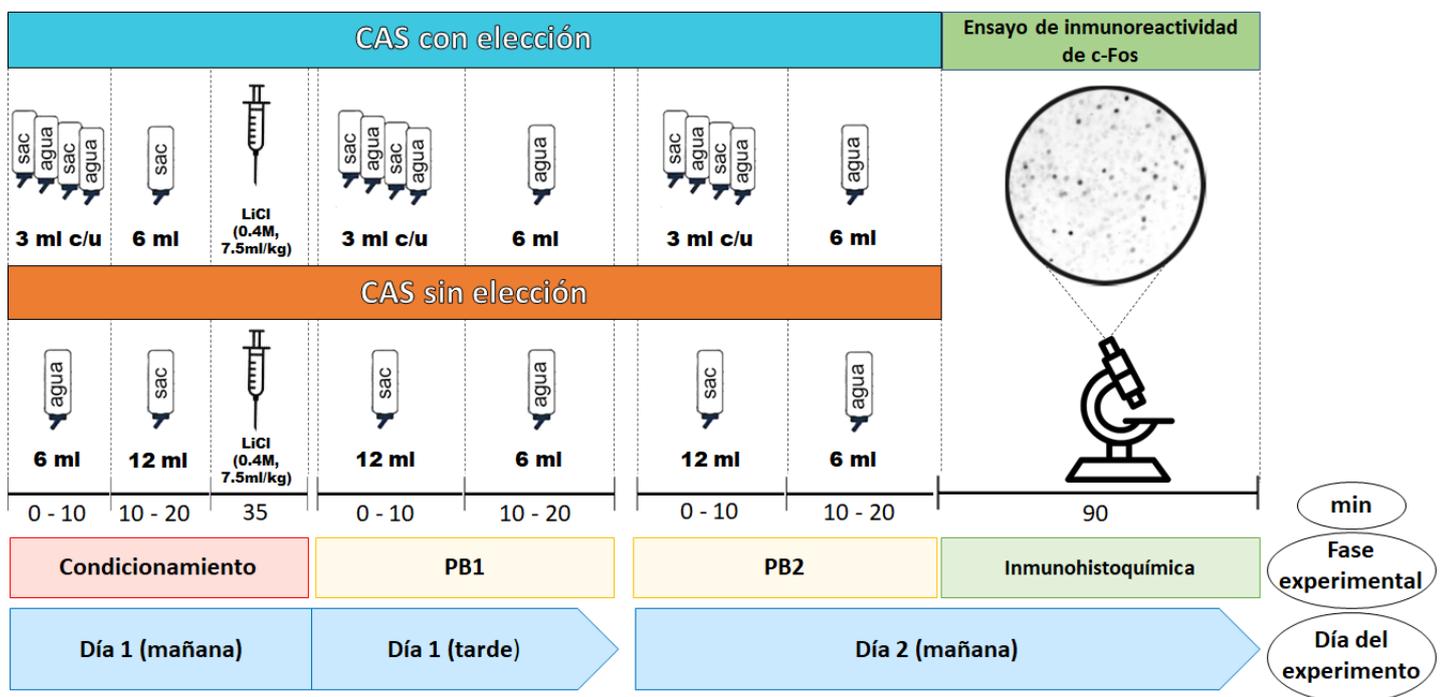


Figura 10. Mapa temporal del modelo experimental utilizado. Durante el condicionamiento, ambos organismos recibieron una inyección de cloruro de litio 15 min (35 min desde el inicio de la fase experimental) después de la última presentación de sacarina, provocando la aversión. Durante la PB1 y PB2 se presentan los bebederos de la misma forma y se cuantifica el consumo de sacarina para evaluar la adquisición de la memoria aversiva (0-10 min), seguido de un bebedero con 6ml de agua (10-20 min) como control de sed. 90 min después del inicio de la PB2 se sacrifica y perfunde a los animales para realizar los ensayos de inmunoreactividad contra c-Fos. PB1; prueba 1, PB2; prueba 2, CAS; condicionamiento aversivo al sabor.

Histología

Los animales fueron sacrificados utilizando pentobarbital sódico intraperitoneal (PiSA Agropecuaria, 0.063g/ml, 200 mg/kg) seguido de perfusión transcardial, en la cual se utilizó solución salina (0.9%) seguida de 250 ml de paraformaldehído frío al 4%. Se extrajeron los cerebros y se mantuvieron en paraformaldehído durante un día. Posteriormente fueron sumergidos en una solución de sacarosa (30%) en PBS 0.1M para crioprotección hasta que los cerebros fueron rebanados en criostato. Se obtuvieron secciones de 40 µm que fueron usadas en la inmunohistoquímica a c-Fos.

Inmunohistoquímica

Las secciones fueron escogidas con base en el atlas estereotáxico *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates* (Paxinos & Watson, 2006) y se definen por su distancia a Bregma. Todas las secciones fueron pretratadas bajo un proceso de recuperación de antígeno basado en la inmersión de buffer de citratos 0.01 M (pH 6.0) en un vaporizador durante una hora, seguido de inmersión en H₂O₂ 3% (bloqueo de peroxidasas) y lavados de TBST 0.1M. Se utilizó entonces un buffer de bloque formado por una solución de TBST 0.1M, 2.5% BSA (*Santa Cruz Biotechnology*), 1% NGS (*Vector Laboratories*) y 1% Tween a temperatura ambiente durante una hora. Se incubaron con el suero anti-c-Fos en anticuerpo policlonal *rabbit* (*Merk Millipore*) a temperatura ambiente durante 48 horas a una dilución de 1:2500. Se

incubaron entonces en una solución del anticuerpo acoplado a biotina *goat anti-rabbit IgG* (*Jackson Immunoresearch*) durante una hora a una concentración de 1:2500 y colocadas en una mezcla del complejo avidina-biotina-peroxidasa de rábano picante (Equipo ABC Elite; *Vector Laboratories*) durante una hora. Los núcleos negros / azules inmunomarcados para c-Fos se visualizaron después de 10 min de exposición usando el kit de reacción de diaminobencidina a la peroxidasa (SK-4100, DAB, *Vector Laboratories*). La reacción se detiene utilizando PBS a temperaturas bajas, seguido de tres lavados de 5 minutos de 0.1 M PBS sin Tween. Las secciones se montaron en portaobjetos recubiertos de gelatina y cubreobjetos. Las neuronas c-Fos-inmunomarcadas se contaron automáticamente usando el software *ImageJ* (RRID: SCR_003070) en imágenes con una ampliación 10x tomadas con un microscopio de campo claro (*Nikon*, H550S) equipado con una cámara digital. Las neuronas se consideraron como positivas para la inmunoreactividad de tipo c-Fos si el núcleo es distinto del fondo y es del tamaño apropiado (área de 25 a 250 μm^2) y forma (al menos 60% de circularidad). El recuento de neurona positivas a c-Fos se promediaron para cada hemisferio en dos o tres secciones diferentes para cada estructura. La densidad de neuronas positivas a c-Fos (neuronas por milímetro cuadrado) se calculó dividiendo el número de neuronas positivas por el área total de cada región.

Análisis de los datos conductuales

Los animales considerados para el análisis estadístico son aquéllos que presentaron un aprendizaje robusto a lo largo de los experimentos. Los datos fueron analizados en el programa estadístico "*Statistica*". Para los datos de consumo de sacarina, se utilizó la prueba de ANOVA de medidas repetidas, mientras que los datos obtenidos mediante los ensayos de inmunohistoquímica se analizaron mediante la prueba t-Student de dos colas para muestras independientes y ANOVA de dos vías, dependiendo del caso. Se realizó una prueba de Tukey post hoc de ser necesaria. Consideramos como significativo $p \leq 0.05$. Los consumos de líquido de cada animal durante la Adquisición, Prueba 1 y Prueba 2, fueron normalizados a porcentaje respecto al promedio de consumo de agua durante su línea base de la mañana o de la tarde.

Resultados

El NAcc presenta actividad neuronal diferencial entre un modelo de CAS con y sin opción en la parte posterior

Se cree que el NAcc es un sitio de integración del valor positivos y negativo de los estímulos, además de que participa en la selección de una acción basada en dichos estímulos. Para probar su respuesta en la conducta de elección basada en una memoria gustativa aversiva, se utilizó el modelo de CAS hacia la sacarina, con una opción alterna (agua) para observar la actividad del NAcc en ambos casos.

En la Figura 11 se muestra el consumo a lo largo de la adquisición, la prueba 1 y 2 en los modelos con y sin opción. Se observó que durante las pruebas ocurrió una disminución del consumo de sacarina de ambos grupos, lo que demuestra que se realizó de forma correcta el condicionamiento. Las ratas que tuvieron un consumo mayor al 30%, con respecto a su línea base, durante la PB1, fueron eliminados del resto del proyecto, ya que se consideran que no se obtuvo un condicionamiento suficientemente robusto para el resto de las pruebas.

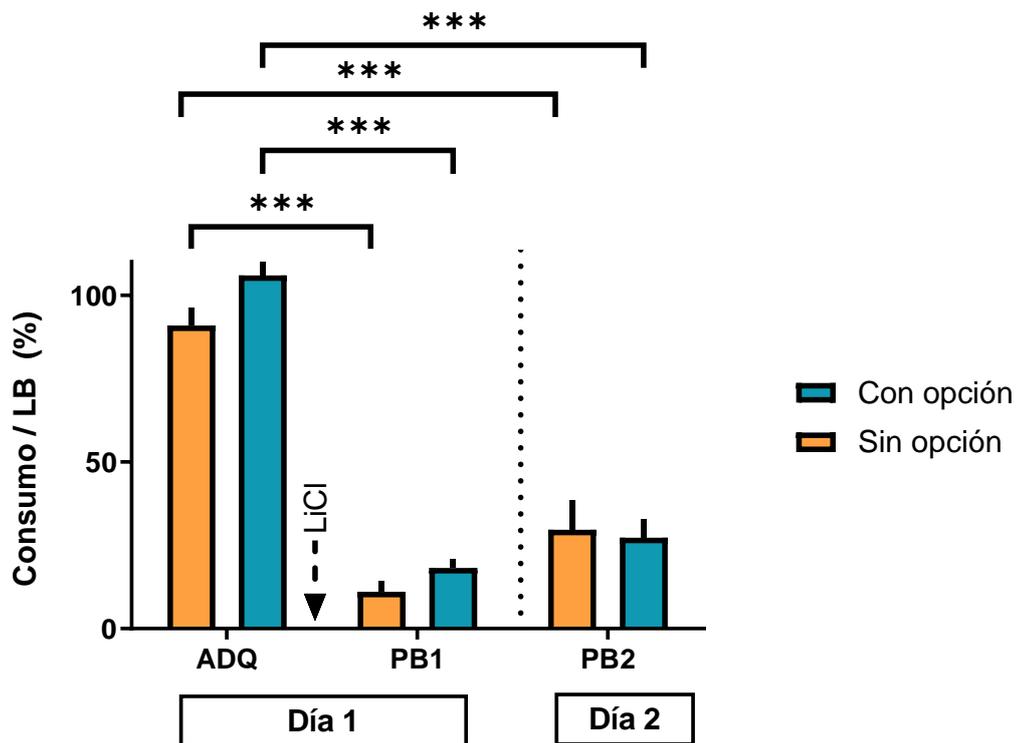


Figura 11. Porcentaje del consumo de sacarina con respecto a su línea base (LB) en el modelo de CAS con y sin opción durante las diferentes fases conductuales: adquisición (ADQ) y la prueba 1 y 2 (PB1 y 2). Se señala con una flecha cuando se realizó la inyección de cloruro de litio para generar la aversión condicionada. Después de la PB2 se realizó la perfusión de los animales siguiendo el protocolo mencionado en la metodología. Existe una diferencia significativa entre las fases conductuales (ANOVA: $F(2,36) = 191.64, p = 0.0000$; comparación post hoc del grupo Sin opción: entre ADQ y PB1: $p = 0.0000132$, entre ADQ y PB2: $p = 0.0000132$; comparación post hoc del grupo Con opción: entre ADQ y PB1: $p = 0.0000132$, entre ADQ y PB2: $p = 0.0000132$; comparación post hoc del grupo Sin opción: entre PB1 y PB2: $p = 0.068$; comparación post hoc del grupo Con opción: entre PB1 y PB2: $p = 0.7265$). No existe diferencia entre los grupos Sin ($n=10$) y Con opción ($n=11$) (ANOVA ($F(1, 18) = 1.5462, p = 0.22964$)).

En la Figura 12 se muestran los resultados del análisis de c-Fos de los tejidos obtenidos de los organismos que desarrollaron de forma correcta la conducta en ambos modelos. El resultado muestra que existe un aumento en el reclutamiento del NAcc en la conducta de elección guiada por una memoria gustativa aversiva

(Grupo Con opción) comparado con el reclutamiento obtenido cuando solo se evoca la memoria aversiva (Grupo Sin opción)

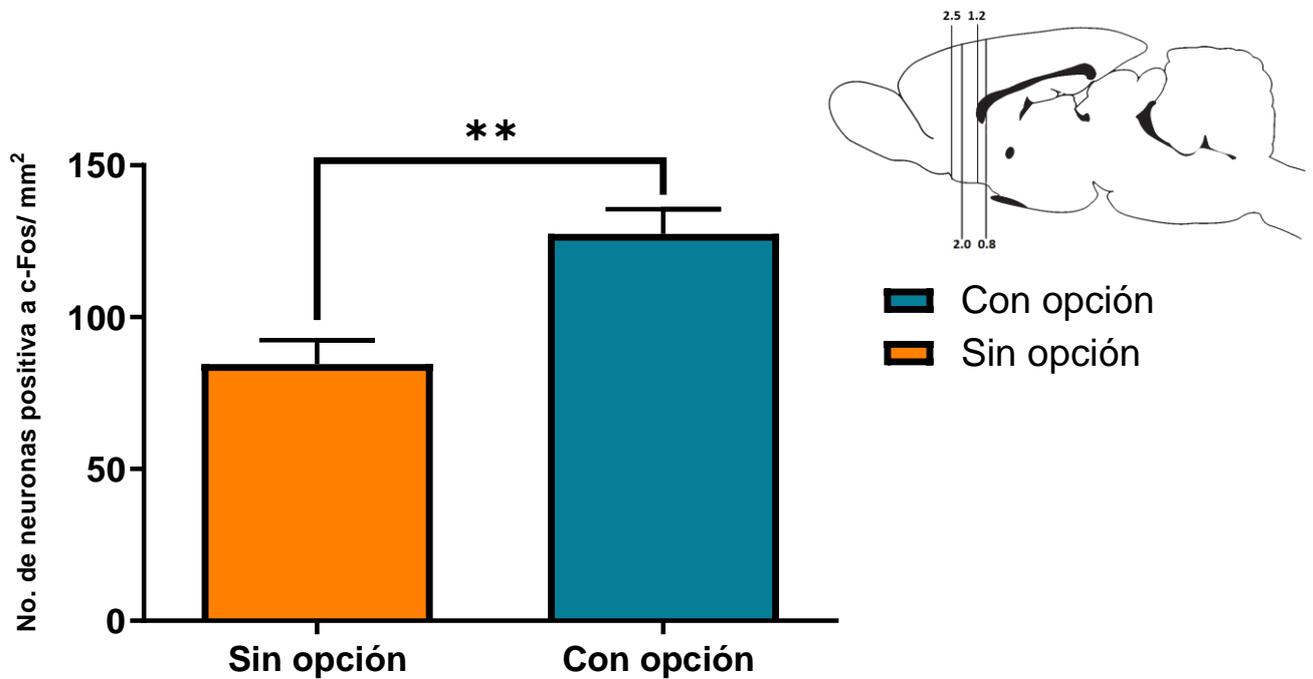


Figura 12. Comparación gráfica de la densidad de c-Fos entre los tejidos obtenidos en los modelos de CAS con opción ($M=127.4931$, $SD = 26.70857$, $n=11$) y sin opción ($M =84.60242$, $SD =24.9559$, $n=10$) en el NAcc. Existe una diferencia significativa entre los grupos ($t(19)= 3.7911$, $p=.001235$). Los datos para cada grupo se obtuvieron de los tejidos clasificados con base a su distancia con respecto a Bregma de 2.5, 2.0, 1.2 y 0.8 (representadas mediante el corte sagital arriba) (Paxinos y Watson, 2006)

Con el fin de determinar si todo el NAcc cuenta con un patrón de reclutamiento homogéneo o si en cambio, se puede atribuir estos resultados a una población neuronal determinada a lo largo del eje anteroposterior, como lo reportado por Castro (2015), se decidió realizar análisis de zonas específicas de la estructura.

El análisis de las porciones anterior y posterior del NAcc mostró resultados similares al de la estructura completa. Se encontró un aumento en los niveles de reclutamiento en el modelo de CAS con opción, en ambas divisiones, comparándolos con el modelo sin opción (Figura 13).

Debido a lo anterior, se decidió continuar el análisis de coordenadas estereotáxicas representativas de las porciones anterior y posterior del NAcc (Figura 14). Esto evidenció a las coordenadas 2.0 y 0.8 con respecto a Bregma como la localización de las poblaciones neuronales que cuentan con un aumento en su reclutamiento durante una conducta de elección guiada por una memoria gustativa aversiva. Las coordenadas 2.5 y 1.2 con respecto a Bregma no presentaron estas diferencias.

Las diferencias en la actividad entre ambos modelos se pueden observar en la Figura 15, donde se muestran fotos representativas de los resultados obtenidos en estas coordenadas. En la Figura 16 se muestra un corte sagital en la coordenada lateral 0.4 con respecto a Bregma donde se puede observar las coordenadas en el eje anteroposterior que se utilizaron en este análisis para comparar la actividad del NAcc en ambos modelos.

De esta forma se descubrió que el aumento de la actividad del NAcc durante una conducta de elección guiada por una memoria gustativa aversiva se da en regiones específicas del eje anteroposterior y no a lo largo de toda su estructura.

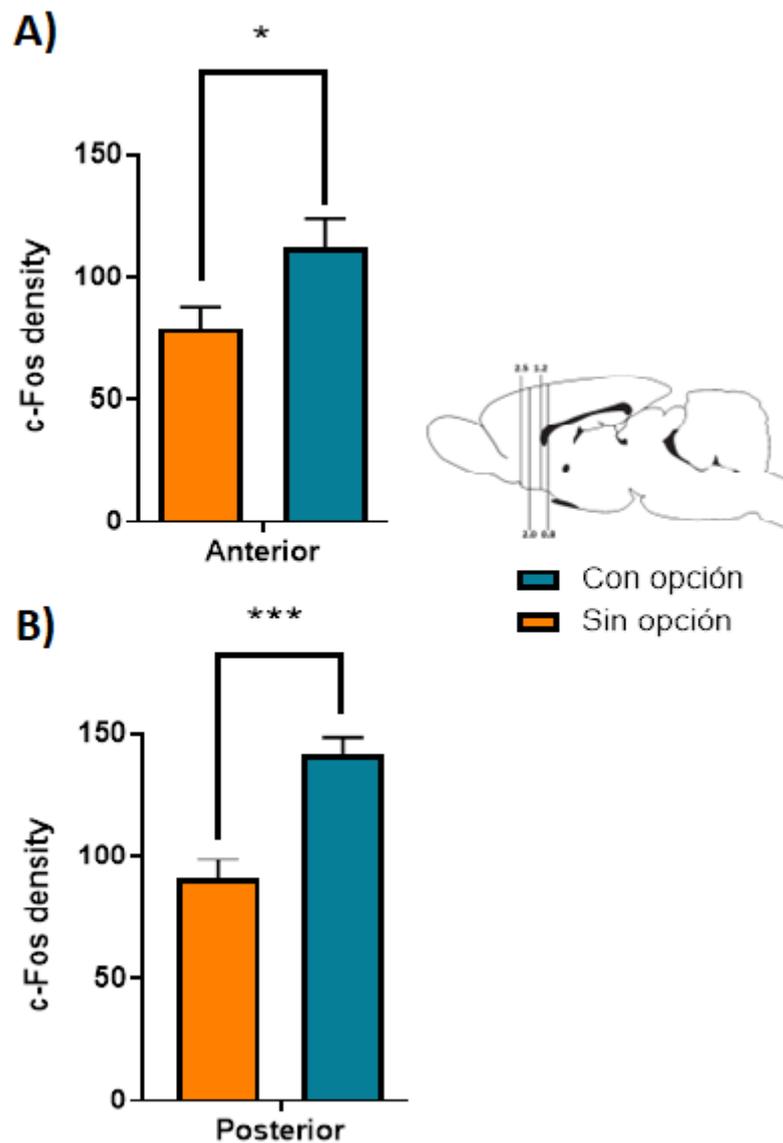


Figura 13. Comparación gráfica de la densidad de c-Fos entre los tejidos obtenidos en los modelos de CAS con opción y sin opción en el NAcc en sus divisiones anterior y posterior. A) Existe una diferencia significativa entre los grupos con ($M= 112.12329$, $SD = 37.84571$, $n=10$) y sin opción ($M= 78.74107$, $SD = 28.52748$, $n=10$) en la porción anterior del NAcc ($t(18)= 2.22741$, $p= 0.038919$). B) Existe una diferencia significativa entre los grupos con ($M= 141.8518$, $SD= 22.04396$, $n=11$) y sin opción ($M= 90.85215$, $SD = 24.27705$, $n=10$) en la porción posterior del NAcc ($t(19)= 5.04666$, $p= 0.000072$). Los datos para cada grupo se obtuvieron de los tejidos clasificados con base a su distancia con respecto a Bregma de 2.5, 2.0, 1.2 y 0.8 (representadas mediante el corte sagital arriba) (Paxinos y Watson, 2006)

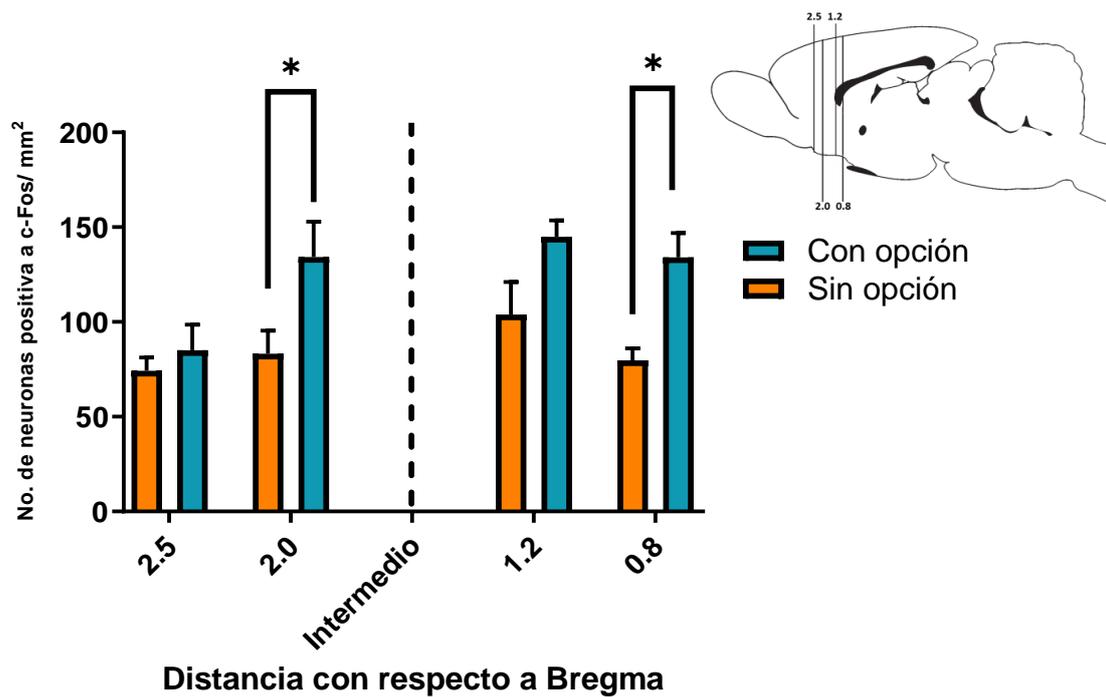


Figura 14. Comparación gráfica de la densidad de c-Fos entre los tejidos obtenidos en los modelos de CAS con opción (n=11) y sin opción (n=10) en coordenadas representativas de la porción anterior y posterior del NAcc (Distancia con respecto a Bregma 2.5, 2.0, 1.2, 0.8). En la zona anterior se presentó una diferencia significativa en la coordenada 2.0 pero no en la 2.5 (ANOVA - interacción entre modelo (con y sin opción) y la coordenada a analizar (2.5 y 2.0): $F(1, 34) = 2.1872$, $p = 0.14837$; comparación post hoc: entre los grupos: 2.5: $p = 0.945847$ y 2.0: $p = 0.045857$). En la zona posterior se presentó una diferencia significativa en la coordenada 0.8 pero no en la 1.2 (ANOVA - interacción entre modelo (con y sin opción) y la coordenada a analizar (1.2 y 0.8): $F(1, 35) = 0.31513$, $p = 0.57813$; comparación post hoc: entre los grupos: 1.2: $p = 0.087899$ y 0.8: $p = 0.011146$). Los datos para cada grupo se obtuvieron de los tejidos clasificados con base a su distancia con respecto a Bregma de 2.5, 2.0, 1.2 y 0.8 (representadas mediante el corte sagital arriba) (Paxinos y Watson, 2006)

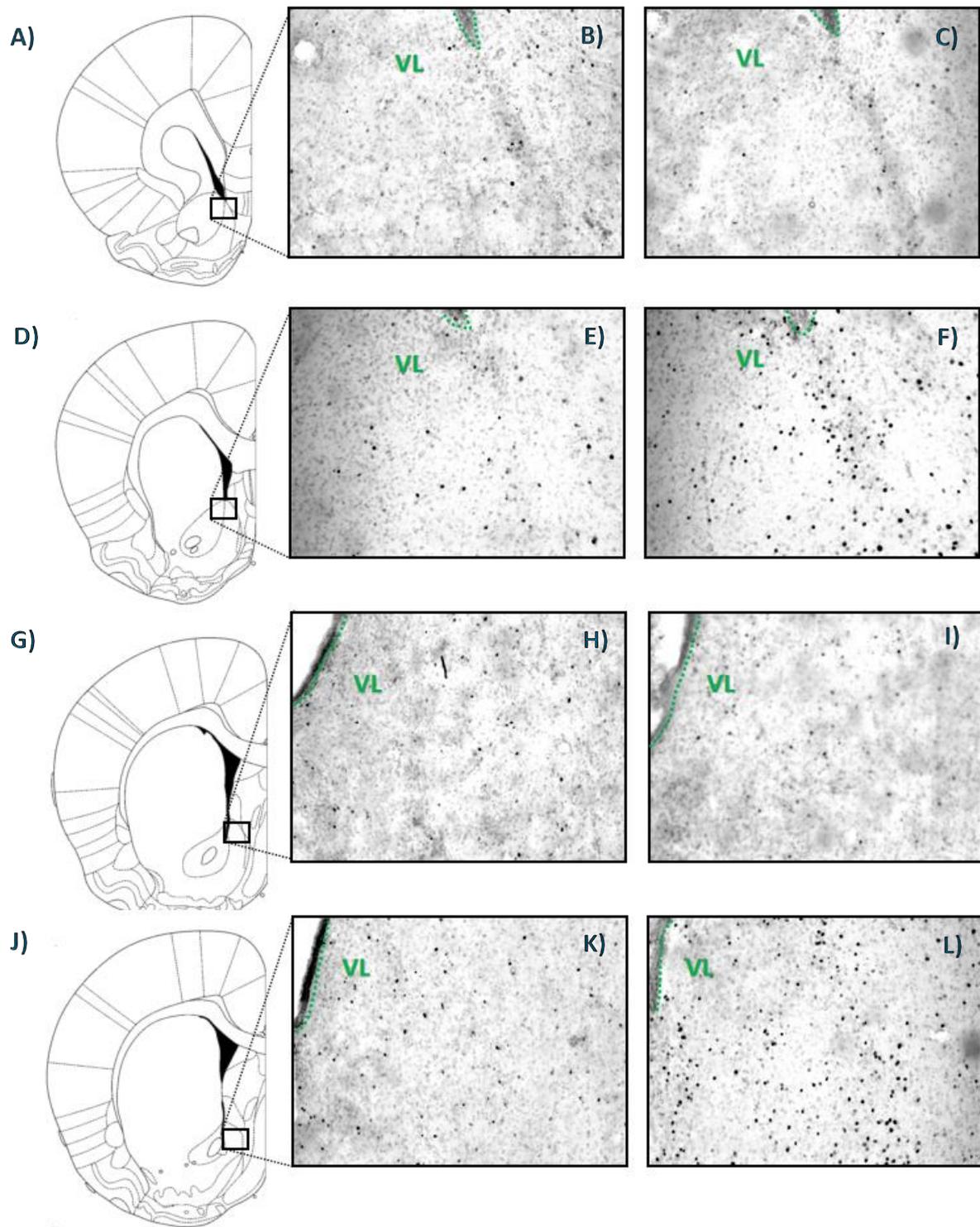


Figura 15. Fotografías representativas de la inmunohistoquímica contra c-Fos, utilizada para el análisis de reclutamiento entre los grupos con CAS sin (B, E, H y K) y con opción (C, F, I y L). A, E, G y J son diagramas de las coordenadas con respecto a Bregma 2.5, 2.0, 1.2 y 0.8 respectivamente.

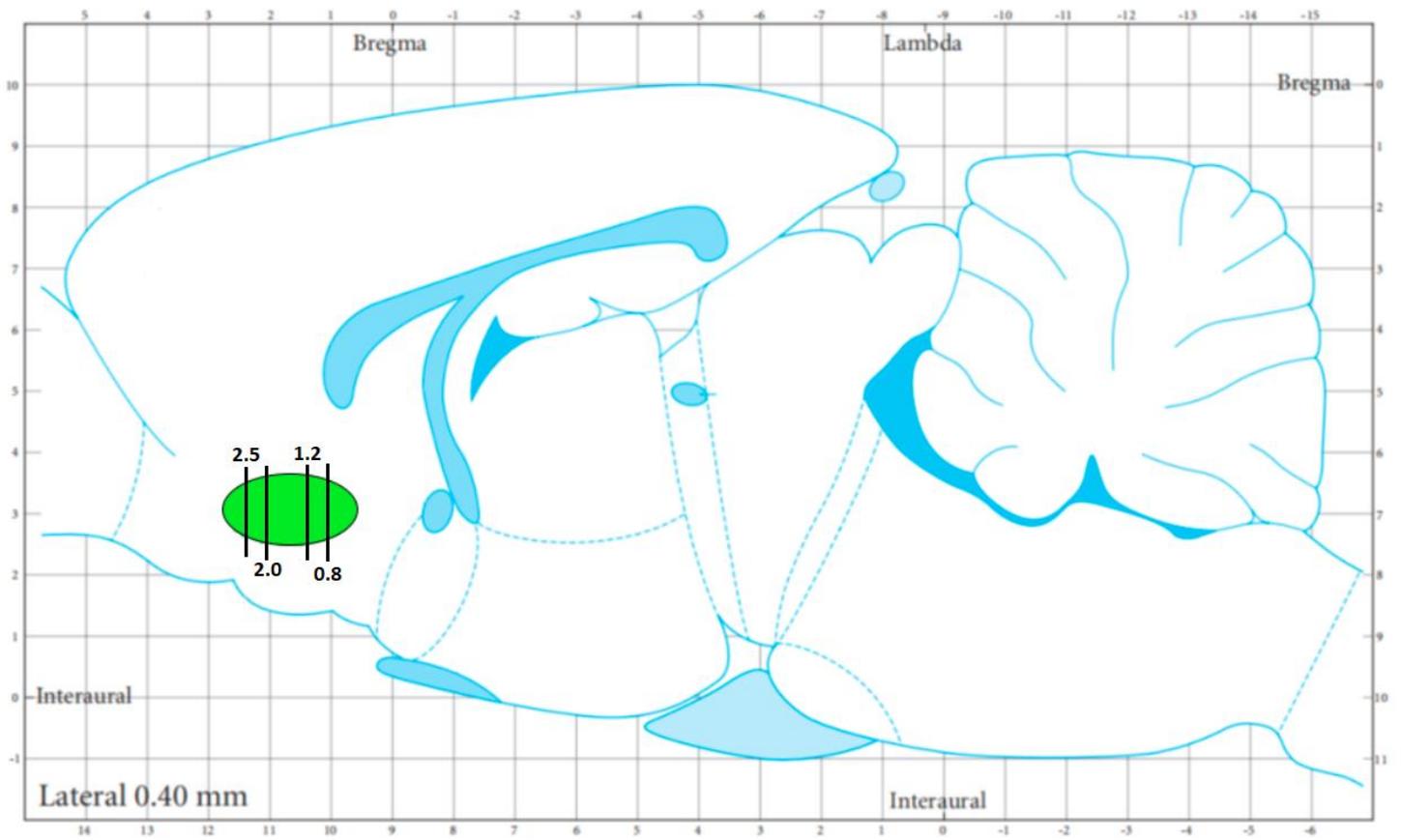


Figura 16. Corte sagital en la coordenada lateral 0.4 con respecto a Bregma donde se muestra al NAcc (verde). Las líneas de color negro representan las coordenadas específicas donde se analizó la actividad neuronal de esta estructura en los modelos sin opción y con opción.

Discusión

La identificación de nutrientes y compuestos tóxicos con base a su sabor es una habilidad necesaria para los humanos y diversos omnívoros para garantizar su supervivencia. Aunque se conoce la participación de diversas estructuras cerebrales durante el procesamiento gustativo, existe poca información sobre qué estructuras participan en la conducta de elección guiada por memorias gustativas.

En específico al CAS, se conoce que la CI es necesaria para la identificación de los estímulos gustativos y, de forma conjunta a la amígdala, participa en la adquisición y evocación de las memorias gustativas (Arieli et al., 2020; Ferreira et al., 2006; Gallo et al., 1992; Gehrlach et al., 2019). Por parte de la corteza prefrontal, sólo la COF ha mostrado ser necesaria para la conducta de elección adaptativa guiada por una memoria gustativa (Ramírez-Lugo et al., 2016). Según diversos estudios, incluidos uno ya publicado en nuestro laboratorio, la COF utiliza el valor aprendido de los estímulos presentes para elegir un plan de acción, es decir, es necesaria para realizar una conducta de elección. Sin embargo la COF no participa en el tipo de conductas que solo dependen de la evocación de una memoria, en otras palabras, la COF no es necesaria para recordar la relación entre el estímulo (por ejemplo, el sabor de la sacarina) y su resultado (por ejemplo, el dolor abdominal) (Balleine et al., 2011; Burke et al., 2008; Nogueira et al., 2017; Ostlund & Balleine, 2007a, 2007b; Ramírez-Lugo et al., 2016).

Sin embargo, para que los organismos ejecuten una acción es necesario que la información sensorial y cognitiva proveniente de la CI y COF sea integrada por el cuerpo estriado, especialmente por el NAcc (Ikemoto et al., 2015; Mannella et al., 2013). Éste cuenta con proyecciones directas e indirectas hacia otras estructuras que conforman los ganglios basales, como el PV, ATV y sustancia negra (SNr), que regulan la actividad motora a través de sus diferentes conexiones con estructuras del circuito tálamo córtico estriatal (Bariselli et al., 2016; Breton et al., 2019; Groenewegen et al., 1993; Hosp et al., 2015; Kha et al., 2001; Mogenson et al., 1979; Root et al., 2015; Y. Smith & Masilamoni, 2017; Takada et al., 1988). Se observa entonces que el NAcc es necesario para establecer la conexión entre la información proveniente de las estructuras corticales con los ganglios basales, que codifican la ejecución de la acción más beneficiosa en relación con esta información.

Diversos estudios apoyan el papel del NAcc como una estructura integrativa en el procesamiento de estímulos y la conducta de elección basada en estos estímulos. Mediante estudios electrofisiológicos se ha mostrado un aumento de la actividad del NAcc a la presentación de estímulos apetitivos y aversivos (Carelli, 2002; Cone et al., 2015; Gmaz et al., 2018; Roitman et al., 2005, 2010; Taha & Fields, 2005; Wheeler et al., 2008). Los estudios de actividad mediante marcadores bioquímicos de la actividad apoyan estos resultados; muestran un aumento del reclutamiento de esta estructura durante conductas apetitivas y aversivas (Dela Cruz et al., 2015; Robinson & Berridge, 2013; Shiflett et al., 2009; Soto et al., 2017). Por otra parte, existe evidencia de la participación del NAcc en diversos modelos de elección (Fatahi & Haghparast, 2018; Stopper & Floresco, 2011; Walton et al., 2009). Debido

a estas características, en este trabajo se decidió analizar el reclutamiento del NAcc durante la conducta de elección que lleva a cabo el organismo basada en una memoria gustativa aversiva.

A pesar de que se conoce que el NAcc aumenta su actividad durante la evocación de una memoria gustativa aversiva (Inui-Yamamoto et al., 2010; Yasoshima et al., 2006), se desconocían los niveles de reclutamiento de esta estructura cuando a los organismos se les presenta una elección basada en este tipo de memoria. La actividad coordinada de las proyecciones corticolímbicas, particularmente hacia el NAcc, provoca conductas específicas, ya que la mayoría de estas proyecciones son de carácter excitador (glutamatérgicas) (Britt et al., 2012; Harris & Peng, 2020; Salgado & Kaplitt, 2015). Por lo tanto, se espera obtener un aumento en el número de neuronas que se activan del NAcc cuando el organismo realiza una conducta de elección. En este trabajo se demostró un aumento de la actividad del NAcc durante la conducta de elección basada en una memoria gustativa aversiva: cuando al organismo se le presenta dos opciones gustativas, una de ellas pareada con una memoria aversiva (la sacarina asociada al dolor abdominal) y otra no asociada al estímulo aversivo pero que capaz de saciar su motivación de rehidratarse (el agua), se genera un aumento en el reclutamiento de neuronas del NAcc, comparado a cuando se les presenta sólo la sacarina. Esto es consistente con la idea de que el NAcc juega un papel importante en la modulación de conductas que requieren flexibilidad cognitiva, como las elecciones (Corbit & Balleine, 2011; Darvas & Palmiter, 2011; Floresco et al., 2018; Radke et al., 2019), y no solo de las respuestas asociadas a estímulos, como en el modelo de CAS sin opción.

Una vez terminado el análisis de la actividad del NAcc en su totalidad, comprobando el aumento del reclutamiento del NAcc durante la conducta de elección en nuestro modelo, se decidió realizar el análisis del NAcc tomando en cuenta su parte anterior y posterior por separado, ya que existe evidencia de que estas estructuras controlan diferentes aspectos de la conducta. Castro y Berridge (2014) reportan la existencia de diferentes patrones de conducta al activar la parte anterior (reacciones apetitivas) y posterior (reacciones aversivas) con agonistas de receptores opioides (μ , δ y κ). Además este mismo grupo de investigación (Castro et al., 2015) propone un modelo de activación del NAcc donde su zona anterior controla la vía directa (proyecciones GABAérgicas al ATV) mientras que la parte posterior controla la vía indirecta (proyecciones GABAérgicas al PV), dando origen a respuestas conductuales diferentes.

En este trabajo se demostró que ciertas secciones, las coordenadas con respecto a Bregma 2.0 y 0.8, del NAcc anterior y posterior se reclutan exclusivamente en nuestro modelo de CAS con opción al compararse con el modelo de CAS sin opción, mostrando su reclutamiento durante la conducta de elección. Esto indica una mayor participación del NAcc en tareas de elección cuando se evoca una memoria gustativa aversiva, guiando a la rata hacia otra sustancia que ha demostrado no generar efectos adversos, en este caso el agua, y que satisface su motivación (rehidratarse). Aunque la actividad neuronal en las regiones anterior (coordenada 2.0) y posterior (coordenada 0.8) aumentan de forma similar cuando los individuos deben realizar una elección en nuestro modelo de CAS, no se sabe en qué aspecto de la conducta de elección participan estas regiones, ya que, como ya se mencionó,

la región anterior y posterior del NAcc pueden generar diferentes patrones de conducta (Castro & Berridge, 2014).

Para aclarar esta cuestión, en otro proyecto realizado en nuestro laboratorio, dando continuidad a los resultados aquí presentados sobre el reclutamiento del NAcc en la conducta de elección y para determinar si el NAcc es necesario para llevar a cabo esta conducta, se realizó la inactivación de la parte anterior y posterior del NAcc. De manera específica, se inactivó en las coordenadas con respecto a Bregma 2.0 y 0.8 que, como ya se mencionó, habían demostrado actividad diferencial en el modelo de conducta (Figura 14). Esta inactivación se realizó con muscimol/baclofeno (agonistas GABAérgicos) momentos antes de realizar la prueba 2 en nuestro modelo (Figura 17).

Bajo estas condiciones se encontró que la inactivación del NAcc anterior con muscimol/baclofeno en el modelo de CAS con opción, dificulta el comportamiento de elección guiado por una memoria de sabor aversivo sin afectar su evocación y la inactivación del NAcc posterior facilita este comportamiento. El resultado obtenido con el análisis de la actividad del NAcc en este estudio y los resultados obtenidos con la inactivación de estas estructuras podría parecer contradictorio ya que, aunque los patrones de actividad en la zona anterior y posterior son similares, la inactivación de estas poblaciones celulares tiene efectos distintos en la conducta de elección.

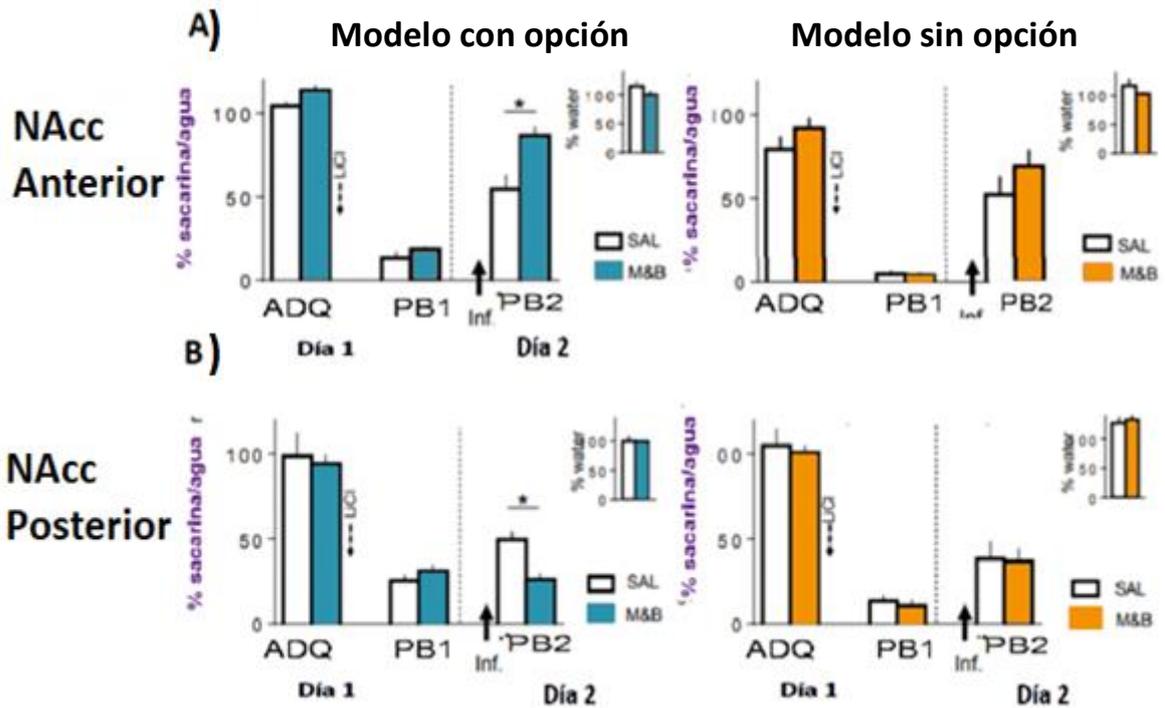


Figura 17. Resultados obtenidos con la inactivación de NAcc con anterioridad en el laboratorio. A) La inactivación del NAcc anterior dificulta el comportamiento de elección guiado por una memoria de sabor aversivo sin afectar su evocación. B) La inactivación del NAcc posterior facilita el comportamiento de elección guiado por una memoria de sabor aversivo sin afectar su evocación. La flecha negra con línea continua señala los momentos donde se realizó la inactivación (inmediatamente antes de la prueba 2 (por publicar)).

Sin embargo, una posible explicación de este fenómeno podría hallarse en la existencia de diferentes conexiones aferentes a la parte anterior y posterior del NAcc, por parte de ciertas cortezas prefrontales como la COF y la IL respectivamente (Figura 18) (Asher & Lodge, 2012; Narayanan & Laubach, 2017; Geoffrey Schoenbaum et al., 2006).

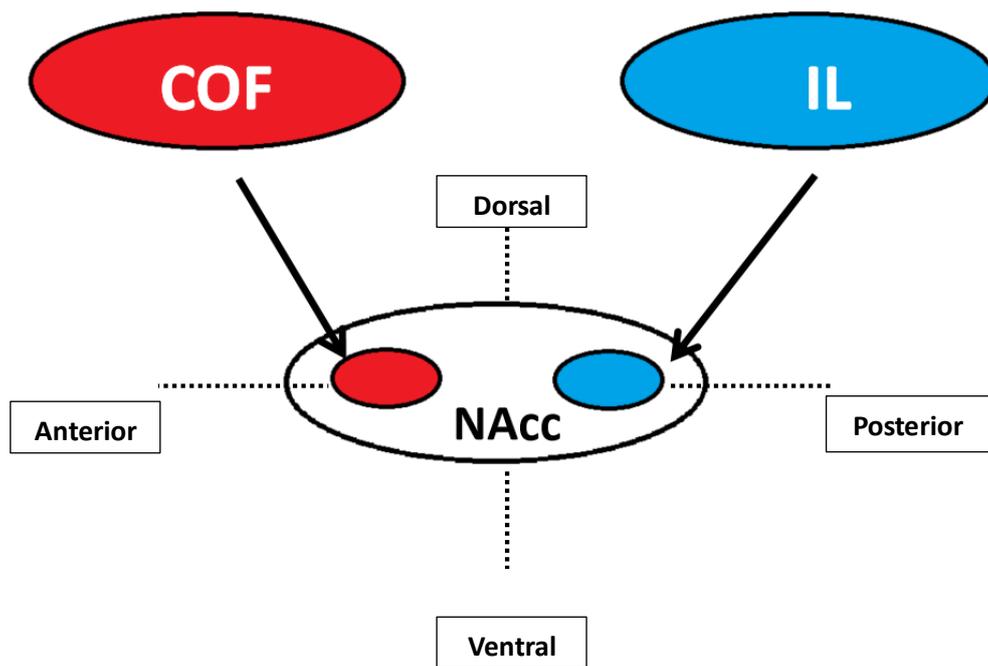


Figura 18- Representación gráfica de la existencia de proyecciones aferentes de COF y la IL hacia las zonas anterior y posterior del NAcc respectivamente.

Además de considerarse como la corteza gustativa secundaria (recibe conexiones de la CI), existe evidencia de que la COF medial y ventral pueden constituir una unidad funcional o red de aprendizaje de recompensa y toma de decisiones (Jollant et al., 2010; Nogueira et al., 2017; Ramírez-Lugo et al., 2016). Además se ha comprobado, usando los mismos modelos que en este trabajo, que la COF guía el comportamiento de elección basado en una memoria aversiva a los sabores (Ramírez-Lugo et al., 2016). Como ya se mencionó, existe evidencia de que la COF proyecta principalmente a la zona anterior del NAcc y que estas conexiones tienen control directo a los niveles de reclutamiento de esta zona (Castro & Berridge, 2017). Los resultados obtenidos de la inactivación del NAcc anterior son muy similares a los obtenidos previamente en nuestro laboratorio por Ramírez-Lugo (2016), donde

la inactivación de esta estructura genera un aumento en el consumo de sacarina pareada aversivamente en el modelo de CAS con opción pero no sin opción. Esta evidencia muestra una relación directa entre el aumento de actividad neuronal de la COF y el NAcc anterior durante la conducta de elección guiada por una memoria gustativa aversiva, además de mostrar, mediante su inactivación farmacológica, que ambas estructuras son necesarias para realizar correctamente esta conducta de elección. Para confirmar que la actividad y participación del NAcc anterior en esta conducta de elección es dependiente de las proyecciones aferentes provenientes de la COF sería necesario el uso de técnicas ontogénicas para inactivar estas proyecciones de manera específica

La IL se considera una región de la corteza prefrontal ventromedial característica por contar con una gran cantidad de conexiones con estructuras subcorticales que regulan comportamientos cognitivos complejos, incluyendo el NAcc. Aunque diversos estudios consideran a la IL como una estructura que controla principalmente la adquisición y expresión de la extinción del miedo (Bloodgood et al., 2018; Do-Monte et al., 2015; Sotres-Bayon & Quirk, 2010; Thompson et al., 2010), existen estudios que muestran que puede regular otros aspectos de la conducta de elección, como la de la búsqueda de una recompensa cuando esta se presenta acompañada de un estímulo aversivo o cuando la entrega de la recompensa es dependiente de que el organismo cambie su conducta (dependiendo del modelo utilizado) (Capuzzo & Floresco, 2020; Ishikawa et al., 2020; van Holstein & Floresco, 2020). Por otra parte, la inactivación optogénica de la IL ha mostrado disminuir la elección de estímulos neutros y aversivos basada en un aprendizaje (Barker et al.,

2018; K. S. Smith et al., 2012), mostrando que en ciertos casos la inactivación de la IL parece “mejorar” una elección basada en una memoria. Esto es de particular importancia ya que existe un mayor número de conexiones aferentes por parte de la IL a la zona posterior del NAcc, comparándolas con las existentes en la parte anterior (Heilbronner et al., 2016). Como ya se mencionó, estas conexiones pueden explicar la aparente contradicción entre el aumento de actividad del NAcc posterior, que se observó durante la conducta de elección mediante los ensayos de inmunohistoquímica contra c-Fos, y su inactivación farmacológica con muscimol/baclofeno, que genera un aparente “mejoramiento” en la conducta de elección, esto es, una disminución del consumo de sacarina pareada negativamente.

Sin embargo, existen limitaciones inherentes de las técnicas utilizadas en este estudio. Aunque la inmunohistoquímica contra c-Fos es un buen reflejo de la actividad general de la estructura, no nos permite caracterizar bioquímicamente esta población, es decir, no nos permite conocer el tipo celular o el tipo de receptores con los que cuenta esta población neuronal, ni tampoco precisar la temporalidad del proceso. Esto es especialmente problemático en el NAcc, ya que existen dos tipos de neuronas medianas espinosas (~95%): con receptores dopaminérgicos tipo 1 y tipo 2 (Kim et al., 2015). Conocer qué tipo celular se está reclutando durante la conducta de elección ayudaría a determinar que vías se activan corriente abajo durante la conducta de elección. Por ejemplo, estructuras como el ATV y SNr, cuya actividad es regulada por el NAcc, pueden modular diferentes aspectos de la conducta mediante sus proyecciones hacia el estriado

dorsal (lateral y medial), amígdala, tálamo motor, e incluso proyecciones que van de regreso al NAcc (Aoki et al., s. f.; Balleine et al., 2009; Gremel & Lovinger, 2017; Hart et al., 2014; Mannella et al., 2016; Wouterlood et al., 2018). Podemos decir entonces que, aunque logramos determinar el aumento de actividad del NAcc en ciertas poblaciones neuronales a lo largo del eje anteroposterior y que éstas tienen un claro papel en la conducta de elección basada en una memoria gustativa aversiva, son necesarios estudios posteriores que determinen exactamente las proyecciones aferentes y eferentes de estas poblaciones y qué forma regulan la conducta en nuestro modelo. Esto ayudaría a entender cuál es la participación exacta del NAcc en la conducta de elección. En este estudio se proponen a la COF y la IL como posibles estructuras aferentes que expliquen los resultados obtenidos mediante inactivación, sin embargo, son necesarios más estudios para poder afirmarlo.

Conclusiones

- El NAcc se recluta durante la conducta de elección basada en una memoria gustativa aversiva y durante la evocación de esta memoria.
- El reclutamiento del NAcc aumenta durante la conducta de elección que se realiza cuando las ratas deben elegir entre dos sustancias con diferente sabor, una de ellas asociada con un estímulo aversivo.
- El reclutamiento del NAcc aumenta durante la conducta de elección tanto en la parte anterior como en la posterior, específicamente en las coordenadas con respecto a Bregma 2.0 y 0.8

Bibliografía.

- Ambroggi, F., Ghazizadeh, A., Nicola, S. M., & Fields, H. L. (2011). Roles of Nucleus Accumbens Core and Shell in Incentive-Cue Responding and Behavioral Inhibition. *The Journal of Neuroscience*, *31*(18), 6820-6830. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.6491-10.2011>
- Aoki, S., Smith, J. B., Li, H., Yan, X., Igarashi, M., Coulon, P., Wickens, J. R., Ruigrok, T. J., & Jin, X. (s. f.). An open cortico-basal ganglia loop allows limbic control over motor output via the nigrothalamic pathway. *eLife*, *8*. <https://doi.org/10.7554/eLife.49995>
- Appleyard, S. M. (2009). Lighting Up Neuronal Pathways: The Development of a Novel Transgenic Rat that Identifies Fos-Activated Neurons Using a Red Fluorescent Protein. *Endocrinology*, *150*(12), 5199-5201. <https://doi.org/10.1210/en.2009-1234>
- Arieli, E., Gerbi, R., Shein-Idelson, M., & Moran, A. (2020). Temporally-precise basolateral amygdala activation is required for the formation of taste memories in gustatory cortex. *BioRxiv*, 2020.03.29.013995. <https://doi.org/10.1101/2020.03.29.013995>
- Asher, A., & Lodge, D. J. (2012). Distinct prefrontal cortical regions negatively regulate evoked activity in nucleus accumbens subregions. *The international journal of neuropsychopharmacology / official scientific journal of the Collegium Internationale Neuropsychopharmacologicum (CINP)*, *15*(9), 1287-1294. <https://doi.org/10.1017/S146114571100143X>
- Balleine, B. W., Leung, B. K., & Ostlund, S. B. (2011). The orbitofrontal cortex, predicted value, and choice. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1239*, 43-50. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2011.06270.x>
- Balleine, B. W., Liljeholm, M., & Ostlund, S. B. (2009). The integrative function of the basal ganglia in instrumental conditioning. *Behavioural Brain Research*, *199*(1), 43-52.

<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2008.10.034>

- Bariselli, S., Glangetas, C., Tzanoulinou, S., & Bellone, C. (2016). Ventral tegmental area subcircuits process rewarding and aversive experiences. *Journal of Neurochemistry*, *139*(6), 1071-1080. <https://doi.org/10.1111/jnc.13779>
- Barker, J. M., Glen, W. B., Linsenbardt, D. N., Lapish, C. C., & Chandler, L. J. (2018). Habitual Behavior Is Mediated by a Shift in Response-Outcome Encoding by Infralimbic Cortex. *eNeuro*, *4*(6). <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0337-17.2017>
- Beauchamp, G. K., & Jiang, P. (2015). Comparative biology of taste: Insights into mechanism and function. *Flavour*, *4*(1), 9. <https://doi.org/10.1186/2044-7248-4-9>
- Bloodgood, D. W., Sugam, J. A., Holmes, A., & Kash, T. L. (2018). Fear extinction requires infralimbic cortex projections to the basolateral amygdala. *Translational Psychiatry*, *8*(1), 1-11. <https://doi.org/10.1038/s41398-018-0106-x>
- Breslin, P. A. S. (2013). An evolutionary perspective on food and human taste. *Current Biology: CB*, *23*(9), R409-418. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.04.010>
- Breton, J. M., Charbit, A. R., Snyder, B. J., Fong, P. T. K., Dias, E. V., Himmels, P., Lock, H., & Margolis, E. B. (2019). Relative Contributions and Mapping of Ventral Tegmental Area Dopamine and GABA Neurons by Projection Target in the Rat. *The Journal of comparative neurology*, *527*(5), 916-941. <https://doi.org/10.1002/cne.24572>
- Britt, J. P., Benaliouad, F., McDevitt, R. A., Stuber, G. D., Wise, R. A., & Bonci, A. (2012). Synaptic and Behavioral Profile of Multiple Glutamatergic Inputs to the Nucleus Accumbens. *Neuron*, *76*(4), 790-803. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.09.040>
- Brog, J. S., Salyapongse, A., Deutch, A. Y., & Zahm, D. S. (1993). The patterns of afferent innervation of the core and shell in the «accumbens» part of the rat ventral striatum: Immunohistochemical detection of retrogradely transported fluoro-gold. *The Journal of Comparative Neurology*, *338*(2), 255-278. <https://doi.org/10.1002/cne.903380209>

- Bromberg-Martin, E. S., Matsumoto, M., & Hikosaka, O. (2010). Dopamine in Motivational Control: Rewarding, Aversive, and Alerting. *Neuron*, *68*(5), 815-834.
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.11.022>
- Brown, P., & Molliver, M. E. (2000). Dual serotonin (5-HT) projections to the nucleus accumbens core and shell: Relation of the 5-HT transporter to amphetamine-induced neurotoxicity. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *20*(5), 1952-1963.
- Burke, K. A., Franz, T. M., Miller, D. N., & Schoenbaum, G. (2008). The role of the orbitofrontal cortex in the pursuit of happiness and more specific rewards. *Nature*, *454*(7202), 340-344.
<https://doi.org/10.1038/nature06993>
- Capuzzo, G., & Floresco, S. B. (2020). Prelimbic and Infralimbic Prefrontal Regulation of Active and Inhibitory Avoidance and Reward-Seeking. *Journal of Neuroscience*, *40*(24), 4773-4787.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0414-20.2020>
- Carelli, R. M. (2002). The nucleus accumbens and reward: Neurophysiological investigations in behaving animals. *Behavioral and Cognitive Neuroscience Reviews*, *1*(4), 281-296.
<https://doi.org/10.1177/1534582302238338>
- Carleton, A., Accolla, R., & Simon, S. A. (2010). CODING IN THE MAMMALIAN GUSTATORY SYSTEM. *Trends in neurosciences*, *33*(7), 326-334. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2010.04.002>
- Castro, D. C., & Berridge, K. C. (2014). Opioid hedonic hotspot in nucleus accumbens shell: Mu, delta, and kappa maps for enhancement of sweetness «liking» and «wanting». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *34*(12), 4239-4250. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4458-13.2014>
- Castro, D. C., & Berridge, K. C. (2017). Opioid and orexin hedonic hotspots in rat orbitofrontal cortex and insula. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *114*(43), E9125-E9134. <https://doi.org/10.1073/pnas.1705753114>

- Castro, D. C., Cole, S. L., & Berridge, K. C. (2015). Lateral hypothalamus, nucleus accumbens, and ventral pallidum roles in eating and hunger: Interactions between homeostatic and reward circuitry. *Frontiers in Systems Neuroscience, 9*. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2015.00090>
- Chambers, K. C. (2018). Conditioned taste aversions. *World Journal of Otorhinolaryngology - Head and Neck Surgery, 4*(1), 92-100. <https://doi.org/10.1016/j.wjorl.2018.02.003>
- Chaudhari, N., & Roper, S. D. (2010). The cell biology of taste. *The Journal of Cell Biology, 190*(3), 285-296. <https://doi.org/10.1083/jcb.201003144>
- Chung, L. (2015). A Brief Introduction to the Transduction of Neural Activity into Fos Signal. *Development & Reproduction, 19*(2), 61-67. <https://doi.org/10.12717/DR.2015.19.2.061>
- Cone, J. J., Roitman, J. D., & Roitman, M. F. (2015). Ghrelin regulates phasic dopamine and nucleus accumbens signaling evoked by food-predictive stimuli. *Journal of Neurochemistry, 133*(6), 844-856. <https://doi.org/10.1111/jnc.13080>
- Corbit, L. H., & Balleine, B. W. (2011). The General and Outcome-Specific Forms of Pavlovian-Instrumental Transfer Are Differentially Mediated by the Nucleus Accumbens Core and Shell. *The Journal of Neuroscience, 31*(33), 11786-11794. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2711-11.2011>
- Cruz, F. C., Koya, E., Guez-Barber, D. H., Bossert, J. M., Lupica, C. R., Shaham, Y., & Hope, B. T. (2013). New technologies for examining the role of neuronal ensembles in drug addiction and fear. *Nature Reviews. Neuroscience, 14*(11), 743-754. <https://doi.org/10.1038/nrn3597>
- Cutsforth-Gregory, J. K., & Benarroch, E. E. (2017). Nucleus of the solitary tract, medullary reflexes, and clinical implications. *Neurology, 88*(12), 1187-1196. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000003751>
- Dafny, N., & Rosenfeld, G. C. (2017). Chapter 33—Neurobiology of Drugs of Abuse. En P. M. Conn (Ed.), *Conn's Translational Neuroscience* (pp. 715-722). Academic Press.

<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802381-5.00052-X>

- Darvas, M., & Palmiter, R. D. (2011). Contributions of Striatal Dopamine Signaling to the Modulation of Cognitive Flexibility. *Biological psychiatry*, *69*(7), 704-707.
<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2010.09.033>
- De Bruin, J. P. C., Feenstra, M. G. P., Broersen, L. M., Van Leeuwen, M., Arens, C., De Vries, S., & Joosten, R. N. J. M. A. (2000). Role of the prefrontal cortex of the rat in learning and decision making: Effects of transient inactivation. En *Progress in Brain Research* (Vol. 126, pp. 103-113). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(00\)26010-X](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(00)26010-X)
- de Oliveira, A. R., Reimer, A. E., de Macedo, C. E. A., de Carvalho, M. C., Silva, M. A. de S., & Brandão, M. L. (2011). Conditioned fear is modulated by D2 receptor pathway connecting the ventral tegmental area and basolateral amygdala. *Neurobiology of Learning and Memory*, *95*(1), 37-45. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2010.10.005>
- Dela Cruz, J. a. D., Coke, T., Karagiorgis, T., Sampson, C., Icaza-Cukali, D., Kest, K., Ranaldi, R., & Bodnar, R. J. (2015). C-Fos induction in mesotelencephalic dopamine pathway projection targets and dorsal striatum following oral intake of sugars and fats in rats. *Brain Research Bulletin*, *111*, 9-19. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2014.11.002>
- Deutch, A. Y., & Cameron, D. S. (1992). Pharmacological characterization of dopamine systems in the nucleus accumbens core and shell. *Neuroscience*, *46*(1), 49-56.
[https://doi.org/10.1016/0306-4522\(92\)90007-O](https://doi.org/10.1016/0306-4522(92)90007-O)
- Do-Monte, F. H., Manzano-Nieves, G., Quiñones-Laracuenta, K., Ramos-Medina, L., & Quirk, G. J. (2015). Revisiting the Role of Infralimbic Cortex in Fear Extinction with Optogenetics. *The Journal of Neuroscience*, *35*(8), 3607-3615. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3137-14.2015>
- Dotson, C. D., Babich, J., & Steinle, N. I. (2012). Genetic Predisposition and Taste Preference: Impact on Food Intake and Risk of Chronic Disease. *Current Nutrition Reports*, *1*(3), 175-

183. <https://doi.org/10.1007/s13668-012-0021-3>
- Drewnowski, A. (1997). Taste preferences and food intake. *Annual Review of Nutrition*, 17, 237-253. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.17.1.237>
- Dunn, L. T., & Everitt, B. J. (1988). Double dissociations of the effects of amygdala and insular cortex lesions on conditioned taste aversion, passive avoidance, and neophobia in the rat using the excitotoxin ibotenic acid. *Behavioral Neuroscience*, 102(1), 3-23. <https://doi.org/10.1037//0735-7044.102.1.3>
- Escanilla, O. D., Victor, J. D., & Di Lorenzo, P. M. (2015). Odor-Taste Convergence in the Nucleus of the Solitary Tract of the Awake Freely Licking Rat. *The Journal of Neuroscience*, 35(16), 6284-6297. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3526-14.2015>
- Fabbricatore, A. T., Ghitza, U. E., Prokopenko, V. F., & West, M. O. (2009). Electrophysiological Evidence of Mediolateral Functional Dichotomy in the Rat Accumbens during Cocaine Self-Administration. *The European journal of neuroscience*, 30(12), 2387-2400. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2009.07033.x>
- Fábián, T. K., Beck, A., Fejérdy, P., Hermann, P., & Fábián, G. (2015). Molecular Mechanisms of Taste Recognition: Considerations about the Role of Saliva. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(3), 5945-5974. <https://doi.org/10.3390/ijms16035945>
- Fatahi, Z., & Haghparast, A. (2018). Activation of the cannabinoid system in the nucleus accumbens affects effort-based decision making. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 165, 29-35. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2017.12.008>
- Fellows, L. K., & Farah, M. J. (2003). Ventromedial frontal cortex mediates affective shifting in humans: Evidence from a reversal learning paradigm. *Brain: A Journal of Neurology*, 126(Pt 8), 1830-1837. <https://doi.org/10.1093/brain/awg180>
- Ferreira, G., Ferry, B., Meurisse, M., & Lévy, F. (2006). Forebrain structures specifically activated by conditioned taste aversion. *Behavioral Neuroscience*, 120(4), 952-962.

<https://doi.org/10.1037/0735-7044.120.4.952>

- Floresco, S. B., McLaughlin, R. J., & Haluk, D. M. (2008). Opposing roles for the nucleus accumbens core and shell in cue-induced reinstatement of food-seeking behavior. *Neuroscience*, *154*(3), 877-884. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2008.04.004>
- Floresco, Stan B., Montes, D. R., Tse, M. M. T., & van Holstein, M. (2018). Differential Contributions of Nucleus Accumbens Subregions to Cue-Guided Risk/Reward Decision Making and Implementation of Conditional Rules. *The Journal of Neuroscience*, *38*(8), 1901-1914. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3191-17.2018>
- Follett, K. A., & Dirks, B. (1995). Responses of neurons in ventrolateral orbital cortex to noxious visceral stimulation in the rat. *Brain Research*, *669*(2), 157-162. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(94\)01200-2](https://doi.org/10.1016/0006-8993(94)01200-2)
- Fuster, J. M. (2001). The prefrontal cortex--an update: Time is of the essence. *Neuron*, *30*(2), 319-333. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(01\)00285-9](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(01)00285-9)
- Gabbott, P. L. A. (2003). Radial organisation of neurons and dendrites in human cortical areas 25, 32, and 32'. *Brain Research*, *992*(2), 298-304. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2003.08.054>
- Galindo, M. M., Schneider, N. Y., Stähler, F., Töle, J., & Meyerhof, W. (2012). Taste preferences. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, *108*, 383-426. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-398397-8.00015-0>
- Gallo, M., Roldan, G., & Bures, J. (1992). Differential involvement of gustatory insular cortex and amygdala in the acquisition and retrieval of conditioned taste aversion in rats. *Behavioural Brain Research*, *52*(1), 91-97. [https://doi.org/10.1016/s0166-4328\(05\)80328-6](https://doi.org/10.1016/s0166-4328(05)80328-6)
- García, J., & Ervin, F. R. (1968). Gustatory-visceral and telereceptor-cutaneous conditioning-Adaptation in internal and external milieus. *Communications in Behavioral Biology*, *1*, 389-415.

- Gehrlach, D. A., Dolensek, N., Klein, A. S., Roy Chowdhury, R., Matthys, A., Junghänel, M., Gaitanos, T. N., Podgornik, A., Black, T. D., Reddy Vaka, N., Conzelmann, K.-K., & Gogolla, N. (2019). Aversive state processing in the posterior insular cortex. *Nature Neuroscience*, 22(9), 1424-1437. <https://doi.org/10.1038/s41593-019-0469-1>
- Ghazizadeh, A., Ambroggi, F., Odean, N., & Fields, H. L. (2012). Prefrontal Cortex Mediates Extinction of Responding by Two Distinct Neural Mechanisms in Accumbens Shell. *Journal of Neuroscience*, 32(2), 726-737. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3891-11.2012>
- Gibbons, J. R., & Sadiq, N. M. (2019). Neuroanatomy, Neural Taste Pathway. En *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545236/>
- Gmaz, J. M., Carmichael, J. E., & Meer, M. A. A. van der. (2018). Persistent coding of outcome-predictive cue features in the rat nucleus accumbens. *BioRxiv*, 300251. <https://doi.org/10.1101/300251>
- Gogolla, N. (2017). The insular cortex. *Current Biology*, 27(12), R580-R586. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.05.010>
- Golebiowska, J., & Rygula, R. (2017). Lesions of the Orbitofrontal but Not Medial Prefrontal Cortex Affect Cognitive Judgment Bias in Rats. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 11. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2017.00051>
- Gremel, C. M., & Lovinger, D. M. (2017). Associative and sensorimotor cortico-basal ganglia circuit roles in effects of abused drugs. *Genes, Brain and Behavior*, 16(1), 71-85. <https://doi.org/10.1111/gbb.12309>
- Groenewegen, H. J., Berendse, H. W., & Haber, S. N. (1993). Organization of the output of the ventral striatopallidal system in the rat: Ventral pallidal efferents. *Neuroscience*, 57(1), 113-142. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(93\)90115-v](https://doi.org/10.1016/0306-4522(93)90115-v)
- Groman, S. M., Keistler, C., Keip, A. J., Hammarlund, E., DiLeone, R. J., Pittenger, C., Lee, D., & Taylor, J. R. (2019). Orbitofrontal Circuits Control Multiple Reinforcement-Learning

- Processes. *Neuron*, 103(4), 734-746.e3. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.05.042>
- Gutierrez, R., & Simon, S. A. (2011). Chemosensory processing in the taste-reward pathway. *Flavour and Fragrance Journal*, 26(4), 231-238. <https://doi.org/10.1002/ffj.2050>
- Harris, H. N., & Peng, Y. B. (2020). Evidence and explanation for the involvement of the nucleus accumbens in pain processing. *Neural Regeneration Research*, 15(4), 597-605. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.266909>
- Hart, G., Leung, B. K., & Balleine, B. W. (2014). Dorsal and ventral streams: The distinct role of striatal subregions in the acquisition and performance of goal-directed actions. *Neurobiology of learning and memory*, 108, 104-118. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2013.11.003>
- Heilbronner, S. R., Rodriguez-Romaguera, J., Quirk, G. J., Groenewegen, H. J., & Haber, S. N. (2016). Circuit-Based Corticostriatal Homologies Between Rat and Primate. *Biological Psychiatry*, 80, 509-521. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2016.05.012>
- Hikida, T., Yawata, S., Yamaguchi, T., Danjo, T., Sasaoka, T., Wang, Y., & Nakanishi, S. (2013). Pathway-specific modulation of nucleus accumbens in reward and aversive behavior via selective transmitter receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(1), 342-347. <https://doi.org/10.1073/pnas.1220358110>
- Hikosaka, O., Kim, H. F., Amita, H., Yasuda, M., Isoda, M., Tachibana, Y., & Yoshida, A. (2019). Direct and indirect pathways for choosing objects and actions. *The European Journal of Neuroscience*, 49(5), 637-645. <https://doi.org/10.1111/ejn.13876>
- Hillman, K. L., & Bilkey, D. K. (2010). Neurons in the Rat Anterior Cingulate Cortex Dynamically Encode Cost–Benefit in a Spatial Decision-Making Task. *Journal of Neuroscience*, 30(22), 7705-7713. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1273-10.2010>
- Holtz, S. L., Fu, A., Loflin, W., Corson, J. A., & Erisir, A. (2015). Morphology and connectivity of parabrachial and cortical inputs to gustatory thalamus in rats. *The Journal of Comparative*

Neurology, 523(1), 139-161. <https://doi.org/10.1002/cne.23673>

- Hong, D.-D., Huang, W.-Q., Ji, A.-A., Yang, S.-S., Xu, H., Sun, K.-Y., Cao, A., Gao, W.-J., Zhou, N., & Yu, P. (2019). Neurons in rat orbitofrontal cortex and medial prefrontal cortex exhibit distinct responses in reward and strategy-update in a risk-based decision-making task. *Metabolic Brain Disease*, 34(2), 417-429. <https://doi.org/10.1007/s11011-018-0360-x>
- Hosp, J. A., Nolan, H. E., & Luft, A. R. (2015). Topography and collateralization of dopaminergic projections to primary motor cortex in rats. *Experimental Brain Research*, 233(5), 1365-1375. <https://doi.org/10.1007/s00221-015-4211-2>
- Ikeda, H., Kamei, J., Koshikawa, N., & Cools, A. R. (2012). Nucleus accumbens and dopamine-mediated turning behavior of the rat: Role of accumbal non-dopaminergic receptors. *Journal of Pharmacological Sciences*, 120(3), 152-164. <https://doi.org/10.1254/jphs.12r02cr>
- Ikemoto, S., Yang, C., & Tan, A. (2015). Basal ganglia circuit loops, dopamine and motivation: A review and enquiry. *Behavioural Brain Research*, 290, 17-31. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.04.018>
- Inui-Yamamoto, C., Yoshioka, Y., Inui, T., Sasaki, K. S., Ooi, Y., Ueda, K., Seiyama, A., & Ohzawa, I. (2010). The brain mapping of the retrieval of conditioned taste aversion memory using manganese-enhanced magnetic resonance imaging in rats. *Neuroscience*, 167(2), 199-204. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2010.02.027>
- Ishikawa, J., Sakurai, Y., Ishikawa, A., & Mitsushima, D. (2020). Contribution of the prefrontal cortex and basolateral amygdala to behavioral decision-making under reward/punishment conflict. *Psychopharmacology*, 237(3), 639-654. <https://doi.org/10.1007/s00213-019-05398-7>
- Izquierdo, A. (2017). Functional Heterogeneity within Rat Orbitofrontal Cortex in Reward Learning and Decision Making. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for*

- Neuroscience*, 37(44), 10529-10540. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1678-17.2017>
- Izquierdo, A., Suda, R. K., & Murray, E. A. (2004). Bilateral orbital prefrontal cortex lesions in rhesus monkeys disrupt choices guided by both reward value and reward contingency. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 24(34), 7540-7548. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1921-04.2004>
- Jackson, M. E., & Moghaddam, B. (2001). Amygdala regulation of nucleus accumbens dopamine output is governed by the prefrontal cortex. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 21(2), 676-681.
- Jollant, F., Lawrence, N. S., Olie, E., O'Daly, O., Malafosse, A., Courtet, P., & Phillips, M. L. (2010). Decreased activation of lateral orbitofrontal cortex during risky choices under uncertainty is associated with disadvantageous decision-making and suicidal behavior. *NeuroImage*, 51(3), 1275-1281. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2010.03.027>
- Kadohisa, M., Rolls, E. T., & Verhagen, J. V. (2004). Orbitofrontal cortex: Neuronal representation of oral temperature and capsaicin in addition to taste and texture. *Neuroscience*, 127(1), 207-221. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2004.04.037>
- Kalivas, P. W., & Barnes, C. D. (2019). *Limbic Motor Circuits and Neuropsychiatry*. CRC Press.
- Kamigaki, T. (2019). Prefrontal circuit organization for executive control. *Neuroscience Research*, 140, 23-36. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2018.08.017>
- Kha, H. T., Finkelstein, D. I., Tomas, D., Drago, J., Pow, D. V., & Horne, M. K. (2001). Projections from the substantia nigra pars reticulata to the motor thalamus of the rat: Single axon reconstructions and immunohistochemical study. *The Journal of Comparative Neurology*, 440(1), 20-30. <https://doi.org/10.1002/cne.1367>
- Kiefer, S. W., & Orr, M. R. (1992). Taste avoidance, but not aversion, learning in rats lacking gustatory cortex. *Behavioral Neuroscience*, 106(1), 140-146. <https://doi.org/10.1037//0735-7044.106.1.140>

- Kim, Y.-C., Alberico, S. L., Emmons, E., & Narayanan, N. S. (2015). New therapeutic strategies targeting D1-type dopamine receptors for neuropsychiatric disease. *Frontiers in biology*, *10*(3), 230-238. <https://doi.org/10.1007/s11515-015-1360-4>
- Kobayashi, M. (2011). Macroscopic connection of rat insular cortex: Anatomical bases underlying its physiological functions. *International review of neurobiology*, *97*, 285-303. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385198-7.00011-4>
- Kovács, K. J. (2008). Measurement of immediate-early gene activation- c-fos and beyond. *Journal of Neuroendocrinology*, *20*(6), 665-672. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2008.01734.x>
- Kupchik, Y. M., Brown, R. M., Heinsbroek, J. A., Lobo, M. K., Schwartz, D. J., & Kalivas, P. W. (2015). Coding the direct/indirect pathways by D1 and D2 receptors is not valid for accumbens projections. *Nature Neuroscience*, *18*(9), 1230-1232. <https://doi.org/10.1038/nn.4068>
- Kupchik, Y. M., & Kalivas, P. W. (2017). The Direct and Indirect Pathways of the Nucleus Accumbens are not What You Think. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, *42*(1), 369-370. <https://doi.org/10.1038/npp.2016.160>
- Kuyck, K. van, Gabriëls, L., Cosyns, P., Arckens, L., Sturm, V., Rasmussen, S., & Nuttin, B. (2007). Behavioural and physiological effects of electrical stimulation in the nucleus accumbens: A review. En D. E. Sakas & B. A. Simpson (Eds.), *Operative Neuromodulation: Volume 2: Neural Networks Surgery* (pp. 375-391). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-211-33081-4_43
- Lemon, C. H., & Katz, D. B. (2007). The neural processing of taste. *BMC Neuroscience*, *8*(3), S5. <https://doi.org/10.1186/1471-2202-8-S3-S5>
- Lin, J.-Y., Arthurs, J., & Reilly, S. (2017). Conditioned taste aversions: From poisons to pain to drugs of abuse. *Psychonomic Bulletin & Review*, *24*(2), 335-351.

<https://doi.org/10.3758/s13423-016-1092-8>

- Madayag, A. C., Gomez, D., Anderson, E. M., Ingebretson, A. E., Thomas, M. J., & Hearing, M. C. (2019). Cell-type and region-specific nucleus accumbens AMPAR plasticity associated with morphine reward, reinstatement, and spontaneous withdrawal. *Brain Structure & Function*, *224*(7), 2311-2324. <https://doi.org/10.1007/s00429-019-01903-y>
- Maffei, A., Haley, M., & Fontanini, A. (2012). Neural processing of gustatory information in insular circuits. *Current Opinion in Neurobiology*, *22*(4), 709-716. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2012.04.001>
- Mannella, F., Gurney, K., & Baldassarre, G. (2013). The nucleus accumbens as a nexus between values and goals in goal-directed behavior: A review and a new hypothesis. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, *7*. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2013.00135>
- Mannella, F., Mirolli, M., & Baldassarre, G. (2016). Goal-Directed Behavior and Instrumental Devaluation: A Neural System-Level Computational Model. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, *10*. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2016.00181>
- Marotta, R., Fenu, S., Scheggi, S., Vinci, S., Rosas, M., Falqui, A., Gambarana, C., De Montis, M. G., & Acquas, E. (2014). Acquisition and expression of conditioned taste aversion differentially affects extracellular signal regulated kinase and glutamate receptor phosphorylation in rat prefrontal cortex and nucleus accumbens. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, *8*. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2014.00153>
- Michel-Chávez, A., Estañol-Vidal, B., Senties-Madrid, H., Chiquete, E., Delgado, G. R., & Castillo-Maya, G. (2015). Reward and aversion systems of the brain as a functional unit. Basic mechanisms and functions. *Salud Mental*, *38*(4), 299-305.
- Mink, J. W. (2018). Basal Ganglia Mechanisms in Action Selection, Plasticity, and Dystonia. *European journal of paediatric neurology : EJPN : official journal of the European Paediatric Neurology Society*, *22*(2), 225-229. <https://doi.org/10.1016/j.ejpn.2018.01.005>

- Mogenson, G. J., Wu, M., & Manchanda, S. K. (1979). Locomotor activity initiated by microinfusions of picrotoxin into the ventral tegmental area. *Brain Research*, *161*(2), 311-319. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(79\)90072-6](https://doi.org/10.1016/0006-8993(79)90072-6)
- Nakanishi, S., Hikida, T., & Yawata, S. (2014). Distinct dopaminergic control of the direct and indirect pathways in reward-based and avoidance learning behaviors. *Neuroscience*, *282*, 49-59. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2014.04.026>
- Narayanan, N. S., & Laubach, M. (2017). Inhibitory Control: Mapping Medial Frontal Cortex. *Current Biology: CB*, *27*(4), R148-R150. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.01.010>
- Nicola, S. M. (2010). The Flexible Approach Hypothesis: Unification of Effort and Cue-Responding Hypotheses for the Role of Nucleus Accumbens Dopamine in the Activation of Reward-Seeking Behavior. *The Journal of Neuroscience*, *30*(49), 16585-16600. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3958-10.2010>
- Nogueira, R., Abolafia, J. M., Drugowitsch, J., Balaguer-Ballester, E., Sanchez-Vives, M. V., & Moreno-Bote, R. (2017). Lateral orbitofrontal cortex anticipates choices and integrates prior with current information. *Nature Communications*, *8*(1), 1-13. <https://doi.org/10.1038/ncomms14823>
- O'Donnell, P., & Grace, A. A. (1993). Physiological and morphological properties of accumbens core and shell neurons recorded in vitro. *Synapse (New York, N.Y.)*, *13*(2), 135-160. <https://doi.org/10.1002/syn.890130206>
- Orsini, C. A., Heshmati, S. C., Garman, T. S., Wall, S. C., Bizon, J. L., & Setlow, B. (2018). Contributions of medial prefrontal cortex to decision making involving risk of punishment. *Neuropharmacology*, *139*, 205-216. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2018.07.018>
- Ostlund, S. B., & Balleine, B. W. (2007a). Orbitofrontal Cortex Mediates Outcome Encoding in Pavlovian But Not Instrumental Conditioning. *Journal of Neuroscience*, *27*(18), 4819-4825. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5443-06.2007>

- Ostlund, S. B., & Balleine, B. W. (2007b). The contribution of orbitofrontal cortex to action selection. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1121*, 174-192.
<https://doi.org/10.1196/annals.1401.033>
- Pais-Vieira, M., Lima, D., & Galhardo, V. (2007). Orbitofrontal cortex lesions disrupt risk assessment in a novel serial decision-making task for rats. *Neuroscience*, *145*(1), 225-231.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.11.058>
- Paxinos, G. (2014). *The Rat Nervous System*. Academic Press.
- Paxinos, G., & Watson, C. (2006). *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates* (6th ed.). Academic Press.
- Perrin-Terrin, A.-S., Jeton, F., Pichon, A., Frugière, A., Richalet, J.-P., Bodineau, L., & Voituren, N. (2016). The c-FOS Protein Immunohistological Detection: A Useful Tool As a Marker of Central Pathways Involved in Specific Physiological Responses In Vivo and Ex Vivo. *Journal of Visualized Experiments: JoVE*, *110*. <https://doi.org/10.3791/53613>
- Purves, D., Augustine, G. J., Fitzpatrick, D., Katz, L. C., LaMantia, A.-S., McNamara, J. O., & Williams, S. M. (2001). The Organization of the Peripheral Taste System. *Neuroscience. 2nd Edition*.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK10827/>
- Radke, A. K., Kocharian, A., Covey, D. P., Lovinger, D. M., Cheer, J. F., Mateo, Y., & Holmes, A. (2019). Contributions of nucleus accumbens dopamine to cognitive flexibility. *The European journal of neuroscience*, *50*(3), 2023-2035. <https://doi.org/10.1111/ejn.14152>
- Ramírez-Lugo, L., Núñez-Jaramillo, L., & Bermúdez-Rattoni, F. (2007). Taste Memory Formation: Role of Nucleus Accumbens. *Chemical Senses*, *32*(1), 93-97.
<https://doi.org/10.1093/chemse/bjl023>
- Ramírez-Lugo, L., Peñas-Rincón, A., Ángeles-Durán, S., & Sotres-Bayon, F. (2016). Choice Behavior Guided by Learned, But Not Innate, Taste Aversion Recruits the Orbitofrontal Cortex. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *36*(41),

10574-10583. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0796-16.2016>

Reep, R. L., & Winans, S. S. (1982). Afferent connections of dorsal and ventral agranular insular cortex in the hamster *Mesocricetus auratus*. *Neuroscience*, *7*(5), 1265-1288.

[https://doi.org/10.1016/0306-4522\(82\)91133-2](https://doi.org/10.1016/0306-4522(82)91133-2)

Rivalan, M., Coutureau, E., Fitoussi, A., & Dellu-Hagedorn, F. (2011). Inter-Individual Decision-Making Differences in the Effects of Cingulate, Orbitofrontal, and Prelimbic Cortex Lesions in a Rat Gambling Task. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, *5*.

<https://doi.org/10.3389/fnbeh.2011.00022>

Robinson, M. J. F., & Berridge, K. C. (2013). Instant transformation of learned repulsion into motivational 'wanting'. *Current biology : CB*, *23*(4), 282-289.

<https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.01.016>

Roitman, M. F., Wheeler, R. A., & Carelli, R. M. (2005). Nucleus Accumbens Neurons Are Innately Tuned for Rewarding and Aversive Taste Stimuli, Encode Their Predictors, and Are Linked to Motor Output. *Neuron*, *45*(4), 587-597. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2004.12.055>

Roitman, M. F., Wheeler, R. A., Tiesinga, P. H. E., Roitman, J. D., & Carelli, R. M. (2010). Hedonic and nucleus accumbens neural responses to a natural reward are regulated by aversive conditioning. *Learning & Memory*, *17*(11), 539-546. <https://doi.org/10.1101/lm.1869710>

Rolls, E. T. (2004). The functions of the orbitofrontal cortex. *Brain and Cognition*, *55*(1), 11-29.

[https://doi.org/10.1016/S0278-2626\(03\)00277-X](https://doi.org/10.1016/S0278-2626(03)00277-X)

Root, D. H., Melendez, R. I., Zaborszky, L., & Napier, T. C. (2015). The ventral pallidum: Subregion-specific functional anatomy and roles in motivated behaviors. *Progress in neurobiology*, *130*, 29-70. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2015.03.005>

Rubio-Navarro, L., Torrero, C., & Salas, M. (2011). Basic brainstem taste responsivity: Effects of perinatal influences. *Revista eNeurobiología*, *2*(1), 2-22.

Salgado, S., & Kaplitt, M. G. (2015). The Nucleus Accumbens: A Comprehensive Review.

- Stereotactic and Functional Neurosurgery*, 93(2), 75-93.
<https://doi.org/10.1159/000368279>
- Saper, C. B. (2004). *The Rat Nervous System* (3ra ed.). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-547638-6.X5000-7>
- Schoenbaum, G., Roesch, M. R., Stalnaker, T. A., & Takahashi, Y. K. (2011). Orbitofrontal Cortex and Outcome Expectancies: Optimizing Behavior and Sensory Perception. En J. A. Gottfried (Ed.), *Neurobiology of Sensation and Reward*. CRC Press/Taylor & Francis.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK92778/>
- Schoenbaum, Geoffrey, Roesch, M. R., & Stalnaker, T. A. (2006). Orbitofrontal cortex, decision-making and drug addiction. *Trends in neurosciences*, 29(2), 116-124.
<https://doi.org/10.1016/j.tins.2005.12.006>
- Schoenbaum, Geoffrey, 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(2), 129-140.
<https://doi.org/10.1101/lm.55203>
- Scott, T. R. (2011). Learning through the taste system. *Frontiers in Systems Neuroscience*, 5.
<https://doi.org/10.3389/fnsys.2011.00087>
- Shiflett, M. W., Mauna, J. C., Chipman, A. M., Peet, E., & Thiels, E. (2009). Appetitive Pavlovian conditioned stimuli increase CREB phosphorylation in the nucleus accumbens. *Neurobiology of learning and memory*, 92(3), 451-454.
<https://doi.org/10.1016/j.nlm.2009.02.010>
- Shirayama, Y., & Chaki, S. (2006). Neurochemistry of the Nucleus Accumbens and its Relevance to Depression and Antidepressant Action in Rodents. *Current Neuropharmacology*, 4(4), 277-291.
- Sicre, M., Meffre, J., Louber, D., & Ambroggi, F. (2020). The Nucleus Accumbens Core Is Necessary

- for Responding to Incentive But Not Instructive Stimuli. *Journal of Neuroscience*, 40(6), 1332-1343. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0194-19.2019>
- Siddiqui, S. V., Chatterjee, U., Kumar, D., Siddiqui, A., & Goyal, N. (2008). Neuropsychology of prefrontal cortex. *Indian Journal of Psychiatry*, 50(3), 202-208. <https://doi.org/10.4103/0019-5545.43634>
- Simon, S. A., & Roper, S. D. (2014). *Mechanisms of Taste Transduction*. CRC Press.
- Smith, K. S., Virkud, A., Deisseroth, K., & Graybiel, A. M. (2012). Reversible online control of habitual behavior by optogenetic perturbation of medial prefrontal cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(46), 18932-18937. <https://doi.org/10.1073/pnas.1216264109>
- Smith, Y., & Masilamoni, J. G. (2017). The Substantia Nigra ☆. En *Reference Module in Neuroscience and Biobehavioral Psychology*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809324-5.00825-7>
- Soto, A., Gasalla, P., Begega, A., & López, M. (2017). C-Fos activity in the insular cortex, nucleus accumbens and basolateral amygdala following the intraperitoneal injection of saccharin and lithium chloride. *Neuroscience Letters*, 647, 32-37. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2017.03.025>
- Sotres-Bayon, F., & Quirk, G. J. (2010). Prefrontal control of fear: More than just extinction. *Current opinion in neurobiology*, 20(2), 231-235. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2010.02.005>
- Stehberg, J., & Simon, F. (2011). Involvement of the insular cortex in retention of conditioned taste aversion is not time dependent. *Neurobiology of Learning and Memory*, 95(1), 14-18. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2010.10.002>
- Stopper, C. M., & Floresco, S. B. (2011). Contributions of the nucleus accumbens and its subregions to different aspects of risk-based decision making. *Cognitive, Affective & Behavioral Neuroscience*, 11(1), 97-112. <https://doi.org/10.3758/s13415-010-0015-9>

- Taha, S. A., & Fields, H. L. (2005). Encoding of Palatability and Appetitive Behaviors by Distinct Neuronal Populations in the Nucleus Accumbens. *The Journal of Neuroscience*, *25*(5), 1193-1202. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3975-04.2005>
- Takada, M., Li, Z. K., & Hattori, T. (1988). Collateral projection from the substantia nigra to the striatum and superior colliculus in the rat. *Neuroscience*, *25*(2), 563-568. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(88\)90258-8](https://doi.org/10.1016/0306-4522(88)90258-8)
- Thompson, B. M., Baratta, M. V., Biedenkapp, J. C., Rudy, J. W., Watkins, L. R., & Maier, S. F. (2010). Activation of the infralimbic cortex in a fear context enhances extinction learning. *Learning & Memory*, *17*(11), 591-599. <https://doi.org/10.1101/lm.1920810>
- van Holstein, M., & Floresco, S. B. (2020). Dissociable roles for the ventral and dorsal medial prefrontal cortex in cue-guided risk/reward decision making. *Neuropsychopharmacology*, *45*(4), 683-693. <https://doi.org/10.1038/s41386-019-0557-7>
- Vincis, R., & Fontanini, A. (2019). Central taste anatomy and physiology. *Handbook of clinical neurology*, *164*, 187-204. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63855-7.00012-5>
- Vinson, C., Myakishev, M., Acharya, A., Mir, A. A., Moll, J. R., & Bonovich, M. (2002). Classification of human B-ZIP proteins based on dimerization properties. *Molecular and Cellular Biology*, *22*(18), 6321-6335. <https://doi.org/10.1128/mcb.22.18.6321-6335.2002>
- Walton, M. E., Groves, J., Jennings, K. A., Croxson, P. L., Sharp, T., Rushworth, M. F. S., & Bannerman, D. M. (2009). Comparing the role of the anterior cingulate cortex and 6-hydroxydopamine nucleus accumbens lesions on operant effort-based decision making. *European Journal of Neuroscience*, *29*(8), 1678-1691. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2009.06726.x>
- Welzl, H., D'Adamo, P., & Lipp, H. P. (2001). Conditioned taste aversion as a learning and memory paradigm. *Behavioural Brain Research*, *125*(1-2), 205-213. [https://doi.org/10.1016/s0166-4328\(01\)00302-3](https://doi.org/10.1016/s0166-4328(01)00302-3)

- Wheeler, R. A., Twining, R. C., Jones, J. L., Slater, J. M., Grigson, P. S., & Carelli, R. M. (2008). Behavioral and electrophysiological indices of negative affect predict cocaine self-administration. *Neuron*, 57(5), 774-785. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2008.01.024>
- Wouterlood, F. G., Engel, A., Daal, M., Houwen, G., Meinderts, A., Siquier, T. J., Beliën, J. A. M., Dongen, Y. C. van, Scheel-Krüger, J., Thierry, A.-M., Groenewegen, H. J., & Deniau, J.-M. (2018). Mesencephalic dopamine neurons interfacing the shell of nucleus accumbens and the dorsolateral striatum in the rat. *Journal of Neuroscience Research*, 96(9), 1518-1542. <https://doi.org/10.1002/jnr.24242>
- Yamamoto, T., Fujimoto, Y., Shimura, T., & Sakai, N. (1995). Conditioned taste aversion in rats with excitotoxic brain lesions. *Neuroscience Research*, 22(1), 31-49. [https://doi.org/10.1016/0168-0102\(95\)00875-t](https://doi.org/10.1016/0168-0102(95)00875-t)
- Yasoshima, Y., Scott, T. R., & Yamamoto, T. (2006). Memory-dependent c-Fos expression in the nucleus accumbens and extended amygdala following the expression of a conditioned taste aversive in the rat. *Neuroscience*, 141(1), 35-45. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.03.019>
- Yiannakas, A., & Rosenblum, K. (2017). The Insula and Taste Learning. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 10. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00335>
- Záborszky, L., Alheid, G. F., Beinfeld, M. C., Eiden, L. E., Heimer, L., & Palkovits, M. (1985). Cholecystokinin innervation of the ventral striatum: A morphological and radioimmunological study. *Neuroscience*, 14(2), 427-453. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(85\)90302-1](https://doi.org/10.1016/0306-4522(85)90302-1)
- Zahm, D. S., & Brog, J. S. (1992). On the significance of subterritories in the «accumbens» part of the rat ventral striatum. *Neuroscience*, 50(4), 751-767. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(92\)90202-d](https://doi.org/10.1016/0306-4522(92)90202-d)
- Zahm, D. S., & Heimer, L. (1993). Specificity in the efferent projections of the nucleus accumbens

in the rat: Comparison of the rostral pole projection patterns with those of the core and shell. *The Journal of Comparative Neurology*, 327(2), 220-232.

<https://doi.org/10.1002/cne.903270205>

Zald, D., Zald, D. H., & Rauch, S. (2006). *The Orbitofrontal Cortex*. OUP Oxford.

Zimmermann, P., Privou, C., & Huston, J. P. (1999). Differential sensitivity of the caudal and rostral nucleus accumbens to the rewarding effects of a H1-histaminergic receptor blocker as measured with place-preference and self-stimulation behavior. *Neuroscience*, 94(1), 93-103. [https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(99\)00309-7](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(99)00309-7)