

## Información Importante

La Universidad de La Sabana informa que el(los) autor(es) ha(n) autorizado a usuarios internos y externos de la institución a consultar el contenido de este documento a través del Catálogo en línea de la Biblioteca y el Repositorio Institucional en la página Web de la Biblioteca, así como en las redes de información del país y del exterior con las cuales tenga convenio la Universidad de La Sabana.

Se permite la consulta a los usuarios interesados en el contenido de este documento para todos los usos que tengan finalidad académica, nunca para usos comerciales, siempre y cuando mediante la correspondiente cita bibliográfica se le de crédito al documento y a su autor.

De conformidad con lo establecido en el artículo 30 de la Ley 23 de 1982 y el artículo 11 de la Decisión Andina 351 de 1993, La Universidad de La Sabana informa que los derechos sobre los documentos son propiedad de los autores y tienen sobre su obra, entre otros, los derechos morales a que hacen referencia los mencionados artículos.

**BIBLIOTECA OCTAVIO ARIZMENDI POSADA**  
UNIVERSIDAD DE LA SABANA  
Chía - Cundinamarca

Participación de la Corteza Infralímbica en la Tarea de Discriminación Simple de Olores en  
Ratas

P. Sánchez-Sarmiento

Laboratorio de Bases Biológicas del Comportamiento, Facultad de Psicología, Universidad  
de la Sabana, Chía, Colombia.

Laboratorio do Farmacología Universidade Federal do Paraná.

Noviembre de 2013

## **Tabla de contenido**

RESUMEN, 4

Participación de la Corteza Infralímbica en la tarea de Discriminación Simple de Olores en Ratas, 5

Justificación, 7

Marco teórico, 9

    Descripción general de la Corteza Infralímbica, 9

    Anatomía y fisiología de la Corteza Infralímbica, 10

    Neuroquímica de la corteza infralímbica., 13

    Procesos cognoscitivos relacionados con la corteza IL, 15

*Aprendizaje, reaprendizaje y memoria, 16*

*Procesos atencionales, 17*

*Flexibilidad cognoscitiva, 18*

*Impulsividad, 19*

    Posible circuito neural de la tarea DSO, 20

Metodología, 23

    Sujetos, 23

    Diseño experimental o procedimiento, 24

    Separación y handling, 26

    Cirugía esterotáxica, 27

    Discriminación simple de olores (DSO), 20

    Habituaación al reforzador, 26

    Adquisición o aprendizaje, 28

    Reaprendizaje a las 24 horas, 28

    Prueba de percepción olfatoria, 29

    Histología, 29

    Análisis Estadísticos, 30

    Consideraciones éticas y disposiciones legales vigentes, 30

Resultados, 31

    Procedimiento histológico, 31

    Estado de los sujetos, 33

Resultados conductuales, 33
Latencia, 34
Errores, 35
Omisiones, 37
Resultado prueba de percepción olfatoria, 38
Discusión, 39
Referencias, 44

## RESUMEN

Este estudio evaluó la participación de la corteza infralímbica (IL) en los procesos del aprendizaje y reaprendizaje de ratas Wistar en la tarea de discriminación simple de olores. Para el logro de dicho objetivo, se realizaron lesiones bilaterales pre-entrenamiento con N-metil-D-Aspartato (NMDA) en la IL y se analizó el desempeño de los sujetos en la tarea de discriminación simple de olores (DSO) teniendo en cuenta la latencia (tiempo que tarda el animal en encontrar el reforzador en el aroma asociado), los errores (número de veces en que el animal busca el reforzador en el aroma que no ha sido asociado al refuerzo) y las omisiones (número de veces en que el animal se acerca al aroma correcto y no accede al reforzador). Los resultados muestran que en los tres primeros ensayos de la fase de adquisición, las ratas con lesión presentaron una latencia mayor que el grupo control vehículo ensayo 1: ( $P= 0.000$ ); ensayo 2: ( $P= 0.022$ ); ensayo 3: ( $P= 0.022$ ), igualmente, presentaron un mayor número de errores y omisiones en el primer ensayo ( $P=0,000$ ). En el primer ensayo de la fase de reentrenamiento, los sujetos con lesión mostraron una menor latencia para establecer la nueva asociación entre el aroma y el reforzador en comparación con el grupo control vehículo ( $P= 0.000$ ). Dichos resultados, permiten sugerir que la corteza IL posiblemente desempeñó más una función en la elección de la estrategia adecuada para el desarrollo de la tarea, aspecto que se vio dificultado en los tres primeros ensayos del entrenamiento de la DSO en el grupo lesión, sin embargo este efecto no se identificó en la fase de re-entrenamiento, probablemente debido a que la corteza prelímbica (PL) no se encontraba lesionada en ninguno de los dos grupos, por lo tanto la PL factiblemente se encargó del mantenimiento de la estrategia para realizar la tarea, lo que facilitó una adquisición más rápida del nuevo cambio del estímulo de la DSO en el grupo lesión. En conclusión, la lesión bilateral pre-entrenamiento en la corteza IL no generó déficits en el aprendizaje, ni en el reaprendizaje de la DSO pero si se sugiere una alteración a nivel ejecutivo (en la elección de estrategias) durante los primeros ensayos de la adquisición de la tarea.

Palabras claves: corteza infralímbica, discriminación simple de olores, impulsividad, flexibilidad cognitiva.

## **Participación de la Corteza Infralímbica en la tarea de Discriminación Simple de Olores en Ratas**

La presente tesis de grado se desarrollo dentro del semillero de investigación de “Bases Biológicas del Comportamiento” de la facultad de psicología de la Universidad de la Sabana. El objetivo general de este trabajo de investigación fue el de proporcionar una mejor comprensión del funcionamiento de la corteza infralímbica (IL), con relación al aprendizaje y el reaprendizaje de ratas Wistar usando un modelo de Discriminación simple de olores (DSO), adicionalmente se evaluaron otros procesos cognoscitivos como la flexibilidad cognoscitiva (FC), la impulsividad y la atención selectiva, dado que las características de la tarea permitieron su análisis.

Se ha centrado el estudio en la IL, teniendo en cuenta que sus características anatómicas y funcionales sugieren que podría formar parte de un sustrato neurofisiológico cortical modulador de diversas funciones cognoscitivas (Ball & Slane, 2012).

En las ratas la CPFM se subdivide en tres regiones principalmente, la corteza cingulada anterior (CA) encargada de evaluar y establecer asociaciones entre estímulos y reforzadores, la prelímbica (PL) y la IL las cuales participan en la escogencia de reglas generales y estrategias atencionales (Haddon & Killcross, 2011; Vertes, 2006). En conjunto, estas zonas corticales han sido asociadas con funciones como el control ocular, los procesos atencionales, la actividad visceromotora, la toma de decisiones, las conductas direccionadas a un objetivo, la memoria de trabajo, la impulsividad, la flexibilidad cognoscitiva, entre otras (W. Hoover & Vertes, 2007).

Actualmente, diferentes estudios han concluido que el mal funcionamiento del núcleo accumbens y la CPFM están relacionados con las alteraciones en el control consciente de las conductas y los pensamientos, tal y como se observa en las adicciones a sustancias psicoactivas y juegos patológicos, la esquizofrenia y algunos trastornos de la personalidad (Fontanez-Nuin, Santini, Quirk, & Porter, 2011; Winstanley, Eagle, & Robbins, 2006). Sin embargo, aún no es clara la participación de la corteza IL en las

funciones cognoscitivas y en especial en el aprendizaje y reaprendizaje (Contreras, Catena, Candido, Perales, & Maldonado, 2008).

La DSO es un modelo de aprendizaje asociativo que no implica procedimientos que puedan ser aversivos para el animal; este tipo de tarea permite a los sujetos, adquirir información sobre las relaciones causales entre estímulos olfativos asociados a refuerzo y así poder predecir la aparición de una consecuencia, reconociendo la presencia de un determinado estímulo (Domjan & Grau, 2007). La tarea se denomina discriminación simple, ya que como resultado el sujeto emite una conducta valorando y realizando una asociación entre un único estímulo, en este caso un aroma impregnado en un recipiente con la presencia de un reforzador (Quiroz-Padilla, Guillazo-Blanch, Vale-Martinez, Torras-Garcia, & Marti-Nicolovius, 2007).

Este modelo conductual permitió identificar procesos de aprendizaje de respuestas instrumentales simples, reaprendizaje y flexibilidad cognoscitiva (FC). Y de forma indirecta la atención selectiva y la impulsividad. El aprendizaje de respuestas simples mediante la asociación de un único estímulo (el aroma) con un reforzador (la sacarosa), el reaprendizaje por la adquisición de una nueva asociación entre un aroma diferente al reforzado en la fase de aprendizaje y el reforzador, que cumpla con características similares al entrenamiento inicial de la tarea y la FC estudiando la capacidad que tienen los roedores para identificar diferentes alternativas de respuesta ante una misma situación.

Las características cambiantes que se introdujeron a la DSO permitieron identificar de manera indirecta posibles comportamientos impulsivos, bajo el criterio de déficit en la capacidad de inhibir una conducta ya adquirida (dirigirse al mismo aroma reforzado en la fase de adquisición durante el reaprendizaje) (Braquehais, Ramos-Quiroga, & Sher, 2010). Finalmente, los procesos de atención selectiva, donde los sujetos debían seleccionar solo el estímulo del aroma reforzado omitiendo los demás aromas que eran de igual agrado (aroma reforzado y no reforzado)

Los principales resultados mostraron que los sujetos con lesión bilateral demoran más tiempo y cometen más errores y omisiones en la fase de adquisición, comparados con los sujetos de los grupos control vehículo; Sin embargo, en la fase de reentrenamiento

parecen ser más eficientes a la hora de ejecutar la tarea y cometen un menor número de errores y omisiones y llegan al reforzador en un menor tiempo en comparación con la latencia de la fase de adquisición. Los sujetos del grupo control vehículo muestran un comportamiento similar tanto en la fase de adquisición como en la fase de reaprendizaje.

A continuación se presenta el desarrollo de este trabajo de investigación iniciando con la justificación, la cual describe el planteamiento, los objetivos y la pregunta de investigación. En segundo lugar, el marco teórico donde se encuentra una descripción neuroanatómica y bioquímica de la corteza IL, los procesos cognoscitivos relacionados con esta zona cortical, y finalmente, se presenta una descripción de la tarea de DSO y su posible circuito neuroanatómico. En tercer lugar, se detallan los procedimientos implementados en la metodología; En cuarto lugar, el análisis de los resultados; En quinto lugar la discusión, la conclusión y las perspectivas hacia futuro del estudio.

### **Justificación**

La realización de estudios lesivos en modelos animales en la corteza prefrontal (CPF) ha permitido evaluar diferentes alteraciones psicológicas como la impulsividad, la ansiedad, los trastornos atencionales, el miedo condicionado, los problemas de aprendizaje, y funciones cognoscitivas como la FC entre otras; convirtiéndose así en antecedentes importantes para la realización de estudios neurocientíficos que facilitan la comprensión entre la relación neuroanatómica y el comportamiento entre especies (Chang & Maren, 2010; Laureiro-Martínez, Brusoni, & Zollo, 2009; Nelson, Cooper, Thur, Marsden, & Cassaday, 2011; Oualian & Gisquet-Verrier, 2010).

En roedores las cortezas PL e IL se han considerado como homólogas a la CPF en el ser humano (Chang & Maren, 2010; Lesley K. Fellows & Farah, 2003) sugirieron que estas cortezas tienen una función de integrar información de tipo emocional y motivacional. Sin embargo, Hoover y Vertes (2007) describieron una posible diferencia funcional, la IL parece tener un mayor funcionamiento autónomo, mientras que la PL estaría más relacionada con el procesamiento cognoscitivo. La mayoría de investigaciones científicas han realizado lesiones en estas dos cortezas de forma simultánea utilizado como técnica quirúrgica las lesiones bilaterales químicas y/o eléctricas, lo que no ha permitido

discriminar de forma clara las posibles diferencias funcionales de cada una de estas zonas corticales (Chang & Maren, 2010; Laureiro-Martínez et al., 2009; Nelson et al., 2011; Oualian & Gisquet-Verrier, 2010).

Algunos antecedentes sobre la participación de la CPFM en los procesos cognoscitivos, argumentan que las subregiones de esta corteza, participan de forma diferente en la FC según el tipo de información que procesa cada una de ellas, y se propone que serían las cortezas IL y PL las más importantes para el desarrollo de esta función ejecutiva, cuando las condiciones del entorno exigen el uso de información de tipo espacial, visual u olfativa (Burgos-Robles, Bravo-Rivera, & Quirk, 2013; Kesner, 2000). Otro estudio sugiere que la inactivación del IL y el PL genera déficits en el reaprendizaje de la tarea de discriminación de olores (realizada en un laberinto rectangular con elevación), se encontró una relación directamente proporcional dependiendo de la complejidad de la tarea, es decir del número de estímulos olfativos a discriminar, a mayor número de estímulos, se observa mayor déficit en el reaprendizaje (Ragozzino & Kesner, 1998; Ragozzino, Kim, Hassert, Minniti, & Kiang, 2003).

Contreras, Catena, Candido, Perales, y Maldonado (2008), relacionaron a la corteza IL y la PL con procesos de valoración y motivación a la hora de realizar una tarea de demora de la gratificación (*delay of gratification task*), en donde el animal es entrenado en una caja de Skinner para presionar entre una palanca (A), donde encuentra refuerzo en baja cantidad pero inmediato, y una palanca (B) donde encuentra refuerzo en mayor cantidad pero con más demora. Los sujetos con lesiones en estas cortezas eligen con mayor frecuencia presionar la palanca A, lo cual sugiere un comportamiento de tipo impulsivo, al no valorar la calidad de las recompensas y elegir la opción que le da el refuerzo menor e inmediato (Contreras et al., 2008).

Pocos estudios centrados en la evaluación específica de la corteza IL, han relacionado principalmente a esta corteza con la extinción de respuestas de miedo, usando como técnica la estimulación química con muscimol (agonista de los receptores GABA). Los resultados indican que la activación gabaérgica, facilita la consolidación y mantenimiento de la extinción de las respuestas de miedo, es decir que la IL está implicada

en el almacenamiento a largo plazo de extinción del miedo (Akirav, Raizel, & Maroun, 2006; Chang & Maren, 2010)

Con este contexto experimental nosotros proponemos la realización del proyecto “Participación de la corteza infralímbica en la tarea de discriminación simple de olores”, del cual surge la siguiente pregunta de investigación ¿Cuáles son los efectos de la lesión excitotóxica bilateral pre-entrenamiento de la corteza IL en los procesos cognoscitivos del aprendizaje y reaprendizaje de la tarea de discriminación simple de olores en ratas Wistar? Bajo este planteamiento formulamos los siguientes objetivos específicos:

Evaluar los efectos de la lesión bilateral excitotóxica pre-entrenamiento en la corteza IL en los procesos del aprendizaje y el re-aprendizaje de la DSO.

Analizar los efectos de la lesión bilateral excitotóxica pre-entrenamiento en la corteza IL en la prueba de percepción olfatoria.

Los aportes de esta la investigación posiblemente podrán brindar nuevas o complementarias explicaciones sobre los síndromes prefrontales, en especial, cuando la lesión puede llegar a presentarse de forma focalizada en el IL; Lo que permitirá garantizar a futuro un mejor diagnóstico diferencial y la búsqueda de tratamiento en esta clase de daño cerebral.

## **Marco teórico**

### **Descripción general de la Corteza Infralímbica**

La CPFM en roedores, se subdivide en tres zonas principales, de dorsal a ventral, se encuentra la corteza CA, encargada de evaluar y establecer asociaciones entre estímulos y reforzadores, la PL, que cumple la función de establecer y mantener una estrategia para la solución de una tarea, y finalmente la IL, la cual ha sido relacionada con la selección inicial de una estrategia para dar solución a una problemática (Haddon & Killcross, 2011; Vertes, 2006). Sin embargo, en la actualidad no está clara la función de cada una de estas subdivisiones y su relación con los procesos cognoscitivos (W. Hoover & Vertes, 2007; Vertes, 2006).

La corteza IL ha sido relacionada con la extinción de asociaciones aversivas medidas a través del condicionamiento Pavloviano y pruebas de aversión a sabores; en estudios de manipulación farmacológica de esta región, se ha presentado déficit en la extinción de memorias relacionadas con consecuencias aversivas (Murphy, Dalley y Robbins, 2005; Maroun, Kavushansky, Holmes, Wellman, & Motanis, 2012).

Igualmente, el IL parecer ser un mediador importante en situaciones donde hay competencia entre las conductas direccionadas a un objetivo y las respuestas de comportamiento habitual; se ha sugerido que cuando existe una competencia entre las acciones dirigidas a objetivos y a los hábitos, son estos últimos los que ejercen un control sobre las conductas (Haddon & Killcross, 2011; Maroun, Kavushansky, Holmes, Wellman, & Motanis, 2012).

Investigaciones con animales, muestran que tras la lesión de la CPFM, la memoria sensorial (evaluando claves del contexto) es afectada, y se relaciona con la presentación de los comportamientos impulsivos y perseverativos (Chudasama et al., 2004; Winstanley et al., 2006). Sin embargo, a pesar de las funciones que se ha atribuido a la corteza IL con relación al procesamiento cognoscitivo y emocional, poco se sabe sobre el funcionamiento de la red neuronal de esta área (van Aerde, Heistek, & Mansvelder, 2008), y su interacción durante la ejecución de las funciones cognoscitivas (Laureiro-Martínez, Brusoni, & Zollo, 2009).

Las lesiones en la CPFM, en el ser humano, han sido relacionadas con un déficit en la toma de decisiones, en la capacidad para hacer juicios de manera coherente con la realidad y adicionalmente presentan un comportamiento social inadecuado acompañado de impulsividad (Ciaramelli & Spaniol, 2009; Clark et al., 2008)

### **Anatomía y fisiología de la Corteza Infralímbica**

La CPFM, se encuentra conectada bidireccionalmente con la amígdala, el hipocampo, el hipotálamo y el tálamo, mediando en las funciones de tipo límbico y con todas las cortezas de asociación, lo cual le permite ejercer una función de control de gran parte de la actividad conductual, emocional y cognoscitiva (Fontanez-Nuin et al., 2011; Kosaki & Watanabe, 2012).

Cada división de la CPFM recibe un conjunto único de proyecciones aferentes y eferentes; los núcleos de la CA, reciben información predominantemente senso-motora y estaría relacionada con conductas de tipo motor y sensitivo, mientras que las aferencias en de las cortezas más ventrales (PL e IL) son de predominio cognoscitivo y límbico, es decir integran información de tipo emocional y motivacional (Brown, Manuck, Flory, & Hariri, 2006). Se han encontrado indicios de que la corteza PL tiene una participación directa en las funciones límbico-cognoscitivas, homóloga a la corteza prefrontal dorsolateral de los primates, mientras que la corteza IL representaría un centro de control visceromotor homólogo a la corteza orbitomedial de los primates (Vertes, 2006).

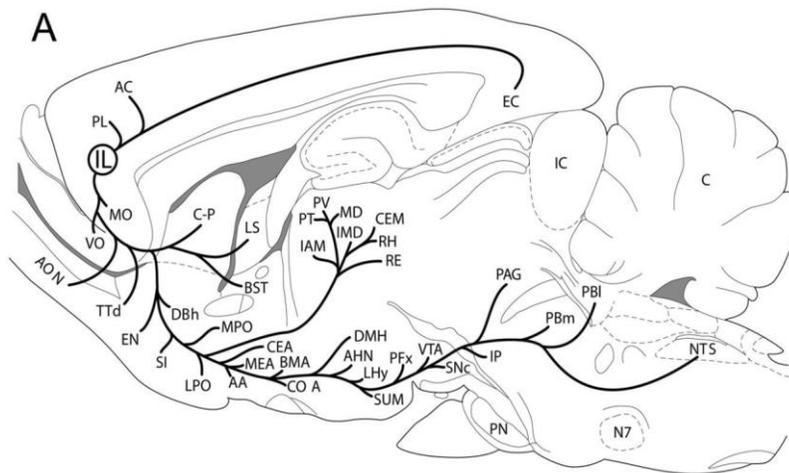
En la rata se ha determinado que la función principal que desempeña el IL correspondería a los procesos de actividad visceromotora, la toma de decisiones y la modulación de las respuestas de miedo (Chang & Maren, 2010; Herold, 2010; W. Hoover & Vertes, 2007). Un estudio sobre la estimulación de esta corteza en rata produjo cambios en la presión sanguínea, la respiración, la motilidad gastrointestinal e igualmente dificultó el aprendizaje de respuestas de miedo en tareas de aprendizaje Pavloviano (Vazquez-Borsetti, Celada, Cortes, & Artigas, 2011). Igualmente, el IL junto con el PL estarían involucrados en la ejecución de tareas donde se requiere de la atención, la selección de la respuestas evaluando múltiples estímulos y la memoria implícita (Kuipers, Mensinga, Boers, Klop, & Holstege, 2006).

Las principales fuentes de proyecciones aferentes comunes a las cortezas PL e IL, provienen del bulbo olfatorio, la sustancia gris periacueductal, el núcleo del tracto solitario, el sistema límbico, el núcleo central y basal de la amígdala, cortezas perirrinal y entorrinal, el claustró, el tálamo, la línea lateral del hipotálamo y escasas proyecciones desde el hipocampo y el área tectamental ventral (Brown et al., 2006; Kuipers et al., 2006)

La corteza PL es la principal fuente de proyecciones aferentes a la IL, esta también recibe amplias proyecciones desde el hipocampo (CA1/subículo) (Fitzgerald, 2011). Las proyecciones del hipocampo al IL podrían servir para la asociación de los acontecimientos pasados (incluida su valoración afectiva) y emitir respuestas rápidas ante situaciones similares a las ya vividas (Brown et al., 2006).

La corteza IL envía proyecciones axonales a los núcleos subcorticales que generan un estado de alerta (sistema activador ascendente), las proyecciones más importantes son las que conducen al hipotálamo, ya que en estas se generan respuestas de vigilia, atención y emocionales, e igualmente se relaciona con el estrés y la liberación de hormonas (Morgane, Galler, & Mokler, 2005).

Los principales lugares de proyecciones eferentes de IL son (ver figura 1): el septum lateral, núcleo del lecho de la estría terminal, los núcleos preópticos medial y lateral, la corteza PL y núcleos endopiriforme del cerebro anterior basal (córtex piriforme dorsal), núcleo acumbens (Shell), los núcleos medial, basomedial y central de la amígdala, la porción anterior de los núcleos olfatorios, el núcleo dorsomedial, el lateral, el perifornical, el posterior y el supramamilar del hipotálamo, y los núcleos parabraquial y solitario del tronco cerebral (W. Hoover & Vertes, 2007; W. B. Hoover & Vertes, 2012).



**Figura 1.** Principales proyecciones aferentes y eferentes de la corteza infralímbica, AC: corteza cingulada anterior, EC: corteza entorrinal, PL: corteza prelímbica, IL: corteza infralímbica: MO: corteza orbital medial, VO: corteza orbital ventral, AON: núcleo olfatorio anterior, CP: caudado-putamen-estriado, LS: núcleo septal lateral, BST: bed nucleus of stria terminalis, TTD: tenia tecta dorsal, EN: núcleo endopiriforme, DBh: núcleo horizontal de la banda diagonal, SI: sustancia innominada, MPO: área pre-óptica medial, LPO: área pre-óptica lateral, IAM: núcleo del tálamo interanteromedial, PT: núcleo del tálamo paratenial, PV: núcleo paraventricular del tálamo, MD: núcleo mediodorsal del tálamo, IMD: núcleo intermediodorsal del tálamo, CEM: núcleo central medial del tálamo,

RH: núcleo romboidal del tálamo, RE: núcleo reuniens del tálamo, CEA: núcleo central de la amígdala, MEA: núcleo medial de la amígdala, AA: área anterior de la amígdala, BMA: núcleo latero-medial de la amígdala, COA: núcleo cortical de la amígdala, DMH: núcleo dorsomedial del hipotálamo, AHN: núcleo hipotalámico anterior, LH: área hipotalámica lateral, SUM: núcleo supramamilar, PFX: región periforme del hipotálamo, VTA: área tegmental ventral, SNC: sustancia nigra pars compacta, IP: núcleo interpeduncular, PBM: núcleo parabraquial medial, PBL: núcleo parabraquial lateral, NTS: núcleo del tracto solitario. Adaptado de “Interactions among the medial prefrontal cortex, hippocampus and midline thalamus in emotional and cognitive processing in the rat” por Vertes, R. P, 2006. *Neuroscience*, 142(1), 1-20.

### **Neuroquímica de la corteza infralímbica.**

La transmisión dopaminérgica proveniente del núcleo acumbens, ejerce gran importancia en el control de la actividad de la CPFM, y proyecta sus axones a los núcleos monoaminérgicos (núcleo de rafé, locus coeruleus y área tegmental ventral) (Nieuwenhuis & Takashima, 2011; Oualian & Gisquet-Verrier, 2010). Estudios con animales demuestran que el déficit de dopamina (DA) en esta zona cortical está relacionado con dificultades en el aprendizaje, la memoria de trabajo, la atención y la toma de decisiones (Rosenkranz & Grace, 2002; Tseng & O'Donnell, 2007).

El segundo neurotransmisor que media la acción de las cortezas IL y PL es la serotonina (5-HT) proveniente del núcleo dorsal de rafé en el tronco cerebral, estas cortezas, se encuentran inervadas densamente por axones serotoninérgicos y tienen receptores para la 5-HT en alta densidad, principalmente los receptores 5-HT1A y 5-HT2A (Robinson et al., 2008).

Estudios recientes, han relacionado al receptor 5-HT2A con la acción de la CPFM en tareas que requieren de la memoria de trabajo, mientras que los receptores 5-HT1A, estarían con procesos como el aprendizaje y en conductas de tipo ansioso (Maroun et al., 2012), adicionalmente, se ha descrito que antagonistas 5-HT1A revierten los déficit cognoscitivos inducidos por diversos fármacos (Amargós-Bosch et al., 2004; Maroun et al., 2012).

Teóricamente se ha vinculado a la 5-HT con una función inhibitoria de la CPFM y por el contrario la NA cumpliría la función excitatoria para evidenciar ese papel antagónico entre estos dos neurotransmisores se han relacionado el efecto de estos en la impulsividad, la FC y la memoria de trabajo (Fitzgerald, 2011).

En oposición a la hipótesis anteriormente mencionada, se ha encontrado que en la corteza IL, los receptores de 5-HT<sub>2A</sub> que se encuentran en las neuronas piramidales y corresponden a un número menor de 50-80%, e inducirían a respuestas excitatorias de la CPFM por intermediación del glutamato producido (Murphy, Dalley, & Robbins, 2005; Robinson et al., 2008). Sin embargo, el mecanismo implicado en la interacción de la neurotransmisión serotoninérgica y glutamatérgica en la CPFM no está claro y existen opiniones controvertidas sobre el origen del glutamato y la localización de los receptores 5-HT<sub>2A</sub> que median los efectos excitadores sobre la actividad cortical (Amargós-Bosch et al., 2004; Cools, Nakamura, & Daw, 2011; Puig, Celada, & Artigas, 2004).

La IL también recibe información de tipo noradrenérgica proveniente del núcleo coeruleus; la noradrenalina (NA) ejerce su acción ante respuestas complejas en la CPFM, con un predominio de respuestas inhibitorias mediadas, probablemente, por interneuronas gabérgicas corticales (Puig et al., 2004). La activación y desactivación endógena de los neuroquímicos, estarían relacionados con las exigencias del ambiente en el cual se desarrollan, tanto la 5-HT como la NA afectan el funcionamiento normal de la CPFM (Andrade, 2011; Cools et al., 2011).

En conclusión, se conoce que la 5HT ejerce efectos complejos sobre la actividad de las neuronas piramidales de la CPFM, con un funcionamiento predominante inhibitorio, puesto que, aunque existe una elevada coexpresión de receptores 5-HT<sub>1A</sub> y 5-HT<sub>2A</sub> en las mismas neuronas piramidales, que ejercen efectos opuestos sobre su actividad, la respuesta inhibitoria mediada por receptores 5-HT<sub>1A</sub> predomina, posiblemente por la localización de estos receptores en el cono axonal piramidal (Puig et al., 2004)

La corteza IL es una estructura de predominio GABAérgico y glutamatérgico, la liberación de GABA desde esta corteza, estimula la liberación de DA en el núcleo acumbens y el area tegmental ventral, de 5-HT en las neuronas del núcleo de ráfé y la

acetilcolina (ACh) de los ganglios basales (Amargós-Bosch et al., 2004), estos sistemas a su vez son neuromoduladores de la actividad de la corteza e influyen en la transmisión sináptica inhibitoria y excitatoria, que modulan los procesos cognoscitivos de forma diferenciada (Boulougouris, Dalley, & Robbins, 2007).

### **Procesos cognoscitivos relacionados con la corteza IL**

Estudios con modelos animales, al igual que con población humana, en los cuales se analiza la posible participación de la CPFM en los procesos cognoscitivos, muestran que esta corteza es importante para la ejecución de las memorias de trabajo e implícita, la atención selectiva y dividida, la inhibición comportamental, el mantenimiento y el cambio de estrategias ante una situación novedosa, la planeación y la toma de decisiones (Boulougouris et al., 2007; Contreras et al., 2008; Herold, 2010). Existe literatura que reconoce que cada una de las subdivisiones anatómicas de esta corteza son heterogéneas, funcional y anatómicamente, sin embargo, aún no hay claridad de cómo actúan y qué tipo de información procesa cada una de las divisiones anatómicas de la CPF. A continuación se describen algunos hallazgos que pueden ofrecer una aproximación para la comprensión neurofisiológica del IL (Dalley, Cardinal, & Robbins, 2004).

La corteza IL está relacionada con el análisis y evaluación de la información a través del tiempo, contribuyendo con la organización, la planeación y la FC, usando la información previamente adquirida para la consolidación y adquisición de estrategias de solución de situaciones problemáticas (Ragozzino & Kesner, 1998).

Existen al menos dos circuitos funcionales dentro de la CPFM, el primero de ellos es el circuito donde intervienen CA, PL e IL: este se asocia a habilidades a nivel cognoscitivo, como la memoria de trabajo, la atención selectiva, la formación de conceptos y la FC; el segundo PL e IL: el cual se asocia al procesamiento de señales somáticas y emocionales que actúan como marcadores o guías de los procesos de toma de decisiones hacia objetivos socialmente adaptativos (Bechara, Tranel, & Damasio, 2000).

### *Aprendizaje, reaprendizaje y memoria*

La relación de la IL con el aprendizaje, se ha estudiado principalmente en tareas de condicionamiento Pavloviano, donde se ha encontrado que la acción principal de esta corteza ejerce mayor influencia durante la extinción del aprendizaje (Haddon & Killcross, 2011). Diferentes estudios indican que la corteza IL estaría implicada con la activación rápida de neuronas que facilitan el establecimiento de asociaciones inhibitorias asociadas con la extinción (Contreras et al., 2008; Kosaki & Watanabe, 2012; Rhodes & Killcross, 2007).

Se ha descrito que la IL permite a los animales integrar la información acerca de los posibles cambios originados en el contexto y que implicarían la extinción de aprendizajes anteriores, para así recuperar con mayor facilidad la información adquirida durante la fase de adquisición, igualmente, la IL modula el control de la extinción y el reaprendizaje, las cuales implican la competencia entre las asociaciones inhibitorias y excitatorias (Rhodes & Killcross, 2007).

La CPFM ha sido fuertemente relacionada con los procesos de memoria de trabajo, una memoria temporal compuesta por diferentes subprocesos cognoscitivos usados para la activación, el mantenimiento y el procesamiento de información relevante para el desarrollo de una tarea (Ragozzino et al., 2003). Estudios donde se analiza la relación entre la CPFM con la memoria de trabajo, se utilizan generalmente tareas con contingencias tardías (*delayed respond contingency*) (Baddeley & Hitch, 1994 ; Delatour & Gisquest-Verrier, 1999), observando que el rendimiento de ratas con lesiones en las cortezas IL y PL disminuye considerablemente en este tipo de tareas (Delatour & Gisquest-Verrier, 1999; Kesner, 2000), una posible explicación atribuida a estos resultados es que este proceso cognoscitivo está influenciado por la acción moduladora dopaminérgica y colinérgica provenientes de la CPFM, al igual que la activación de receptores muscarínicos y colinérgicos que facilitan la consolidación de la información y su rápida evocación, contribuyendo a la memoria de trabajo en tareas que involucran información de tipo espacial (Ragozzino & Kesner, 1998)

La memoria implícita al igual que la FC depende para su buen funcionamiento de las áreas sensoriales primarias, del lóbulo prefrontal, núcleo dorso-mediano del tálamo y el neocórtex (Ragozzino et al., 2003). Los ganglios basales y el córtex prefrontal forman un sistema neuronal distribuido e implicado en tareas cognitivas que requieren de la selección de acciones en un contexto determinado, estas tareas involucran tanto la planificación como el aprendizaje instrumental de habilidades motoras y de hábitos (Cowan, 2008).

La CPFM media en las contingencias de acción en función del tiempo y su organización lógica, estudios demuestran que roedores con lesiones en PL e IL presentan déficits en tareas que requieren que el animal emita una serie de conductas con una secuencia temporal, dificultando la memorización de información temporal y espacial (Fuster, 2001; Gisquet-Verrier & Delatour, 2006).

### ***Procesos atencionales***

Se ha encontrado que la CPFM está relacionada con procesos de atención selectiva, puesto que lesiones en áreas corticales, produce dificultades para establecer un criterio de selección de un estímulo usando la información de este para discriminar otros estímulos que serían menos relevantes para la ejecución de una tarea (Birrell & Brown, 2000). Ratas con lesiones e IL y PL entrenadas en una tarea donde tienen que encontrar un reforzador en un recipiente, discriminando la forma, el olor o la textura, (*Set-shifting*) evidencian un déficit en la selección del estímulo relevante cuando este es cambiante, seleccionando siempre el mismo estímulo para encontrar el refuerzo (Birrell & Brown, 2000). Igualmente muestran dificultades para el aprendizaje reversible (*reversal learning*) al no poder ajustarse a la tarea cuando se introduce una inversión de la contingencia de estímulo-recompensa, emitiendo siempre respuestas perseverativas (Chudasama et al., 2004)

Se reconoce que hay diferencias respecto a la función de cada una de las subdivisiones de la CPFM con relación a tareas donde requiere de la focalización o selección, mantenimiento y desplazamiento de la atención ante los diferentes estímulos, y se seleccionan las respuestas y se activan estrategias para la solución de problemas, los hallazgos indicarían que la corteza IL estaría más relacionada con procesos de atención selectiva o el desplazamiento de la atención valorando diferentes estímulos (Chudasama et al., 2004).

### ***Flexibilidad cognoscitiva***

Existen dos formas de flexibilidad: la flexibilidad reactiva, que implica la capacidad de modificar el comportamiento en función de las exigencias del contexto, y la flexibilidad espontánea, que consiste en la producción de un flujo de ideas o de ítems en respuesta a instrucciones simples (Herold, 2010; Martin & Rubin, 1995). La flexibilidad espontánea exige tanto la inhibición de respuestas y de estrategias automáticas, como la producción de pensamientos divergentes y creativos (Herold, 2010).

Martin y Rubin (1995) argumentan que la FC tiene tres componentes principales, el primero es la necesidad individual de reconocer la existencia de diferentes alternativas, para después adaptar su conducta teniendo en cuenta parámetros sociales y las posibles consecuencias tanto negativas como positivas de sus actos, cuanto mayor sea el número de repertorios comportamentales, más complejos serán los sistemas de procesamiento de la información, y por lo tanto, requerirá mayor flexibilidad individual. El segundo paso requiere la disposición del sujeto a cambiar y ajustarse a las nuevas demandas del entorno, ya habiendo reconocido cuales son las alternativas que puede implementar, en este proceso influye significativamente los procesos motivacionales del sujeto, altos niveles motivacionales harán que el sujeto se adapte con mayor facilidad a los cambios introducidos. El tercer componente requiere de una retroalimentación de la conducta escogida, es decir el individuo debe sentirse seguro de su capacidad de actuar con eficacia lo cual le ayudara a hacer una mejor toma de decisiones y a escoger de mejor manera el repertorio comportamental orientado a la meta.

Neuroanatómicamente, la estructura que más se ha relacionado con la FC es la CPFM, la cual participa en la escogencia de reglas generales y estrategias atencionales (Birrell & Brown, 2000; Laidlaw, Browman, & Brown, 2004; Ragozzino, 2007) y la corteza orbitofrontal que cumple el papel de evaluar y establecer asociaciones entre estímulos y reforzadores (Boulougouris et al., 2007; Ragozzino, 2007).

Burgos-Robles, Bravo-Rivera, y Quirk, (2013) proponen que serían las cortezas IL y PL las más importantes para el desarrollo de la FC, cuando las condiciones del entorno exigen el uso de información de tipo espacial, visual u olfativa. Por otra parte, estas zonas corticales también se han relacionado con procesos de valoración hacia reforzadores

(Contreras et al., 2008; De Bartolo et al., 2009), y con la memoria a largo plazo de emociones relacionadas con el miedo (Akirav et al., 2006; Chang & Maren, 2010).

### ***Impulsividad***

Daños en la CPFM, han sido relacionados con conductas perseverativas, la impulsividad, la falta de iniciativa, y una inercia hacia el cumplimiento de reglas y normas sociales y la inhabilidad en la ejecución de planes y estrategias que le permitan a los individuos solucionar de manera efectiva las problemáticas originadas en el día a día (Valdés & Torrealba L, 2006).

En la literatura clásica se ha asociado la impulsividad a tres factores: el actuar sin una implicación directa de las funciones cerebrales superiores, la impaciencia y un aumento en la velocidad de la respuesta emitida (Leshem & Glicksohn, 2007). La impulsividad no es un constructo unitario sino que abarca una gama de comportamientos que incluyen los aspectos de la hiperexcitabilidad, la desinhibición del comportamiento, y el orden superior de toma de decisiones (Brown et al., 2006).

A nivel neuroanatómico, la impulsividad se ha relacionado con daños en el sistema límbico cortico estriatal (*limbic corticostriatal loop*) y se ha demostrado que aumenta la toma de decisión arriesgada en los seres humanos, ya que la afectación de algunas de estas regiones, tiene efectos en el comportamiento de inhibición y el control cognitivo, así como en el aprendizaje de recompensa (Brown et al., 2006; Laidlaw et al., 2004). Lesiones en la CPFM han demostrado que los sujetos comienzan a emitir comportamientos perseverativos e impulsivos, evaluados mediante la elección de opciones q brindan menor refuerzo pero con un tiempo de acceso corto (Braquehais et al., 2010).

La CPFM de la rata, en especial las cortezas IL y PL, tras la lesión en estas áreas conduce a fallos en el comportamiento de elección debido a que las ratas perdieron capacidad para detectar cambios en las contingencias de recompensa (Lesley K. Fellows & Farah, 2003; L. K. Fellows & Farah, 2007)

El daño en la corteza cingulada anterior aumenta el número de respuestas prematuras o impulsivas en tareas que contienen una recompensa y otras formas de desinhibición conductual, por ejemplo en la extinción de aprendizaje, cuando al no haber

estímulo de recompensa el animal persiste en la conducta aprendida aún cuando ya no recibe ningún reforzador por esta (Brown et al., 2006; L. K. Fellows & Farah, 2007).

### **Discriminación simple de olores (DSO)**

La tarea de DSO implica un aprendizaje asociativo que no presenta las características de un procedimiento aversivo. En esta tarea, el animal debe discriminar entre tres estímulos olfatorios y asociar a uno de ellos con un refuerzo. En el modelo de la DSO usado para este experimento, los animales son sometidos a dos sesiones, un entrenamiento para la adquisición de cinco ensayos y un reaprendizaje 24 horas después del aprendizaje del mismo con cinco ensayos, en los cuales el aroma reforzado es diferente al usado en la fase de adquisición.

Al comienzo, el sujeto explora los tres estímulos olfatorios, pero después del primer ensayo la latencia para dirigirse hacia el aroma que contiene el refuerzo disminuye, al igual que el número de errores (Quiroz-Padilla et al., 2007). Esta tarea se aprende con rapidez en una única sesión y su recuerdo se mantiene durante varios días (Quiroz-Padilla et al., 2007). Algunos autores han sugerido que su rápida adquisición puede deberse a que no requiere del aprendizaje de respuestas instrumentales complejas, sino que se basa en una respuesta innata y natural de los roedores, la exploración (Tronel, Feenstra, & Sara, 2004).

Con el fin de hacer una medición del reaprendizaje, se introdujo una modificación en la tarea original, desde el primer ensayo de la fase de reaprendizaje se reemplazó el aroma con el que fue entrenado el animal en la fase de adquisición; para el éxito en esta tarea el sujeto debió aprender a inhibir su tendencia a seguir la asociación entre el aroma y el reforzador ya aprendido, y adaptarse a los cambios del entorno para encontrar el nuevo aroma reforzado con rapidez (Quiroz-Padilla et al., 2007; Torras-Garcia, Lelong, Tronel, & Sara, 2005).

La DSO se realizó en una caja de madera de 60x60x40cm donde se encontraban tres esponjas impregnadas con tres aromas diferentes (anís, naranja y vainilla), los tres equivalentes en grado para el animal, (ninguno de los aromas produce aversión ni preferencia). Cada esponja tenía un agujero en el centro donde se colocó el refuerzo, las tres esponjas se ubicaban en las esquinas de la caja, en la esquina que quedaba libre se tomo

como punto de partida para colocar el animal y dar inicio a cada uno de los ensayos, la distribución de los aromas en cada una de las esquinas de la caja fue cambiando a lo largo de los ensayos de manera aleatoria, esto con el fin de que el animal asociara el aroma con una ubicación espacial determinada.

El aroma reforzado fue el mismo para cada sujeto en la fase de adquisición durante los 5 ensayos, ya en la fase de reaprendizaje se reemplazo el aroma reforzado en la primera fase y se uso uno de los otros dos aromas restantes durante los 5 ensayos de la tarea. Durante la adquisición de esta tarea, el sujeto aprendió a introducir el morro en el agujero de la esponja con aroma asociado al refuerzo. En cada ensayo se registró la latencia de la rata en realizar la respuesta correcta (encontrar y comer el reforzador), el número de errores de olor (introducir el morro dentro de esponjas no reforzadas) y el número de errores por omisión (oler la esponja reforzada sin introducir el morro para comer la sacarosa). El criterio para identificar que hubo aprendizaje de la tarea, es que el animal a partir del segundo ensayo comience a disminuir la latencia, el número de errores y de omisiones (Quiroz-Padilla et al., 2007; Tronel et al., 2004; Tronel & Sara, 2002, 2003; Villarejo-Rodríguez, Vale-Martínez, Guillazo-Blanch, & Martí-Nicolovius, 2010).

### **Posible circuito neural de la tarea DSO**

Evidencias experimentales proponen que la corteza prelímbica participa en la adquisición y consolidación de la DSO. Otras áreas cerebrales relacionadas con la adquisición de esta tarea son la corteza orbitofrontal y la amígdala basolateral (Tronel & Sara, 2002), mientras que la abénula lateral (Hbl) se ha relacionado con la retención de la DSO (Tronel & Sara, 2003).

La DSO es una tarea que requiere el funcionamiento de estructuras cerebrales relacionadas con la percepción olfatoria, la memoria implícita y la FC (Torras-García et al., 2005); la corteza PL, es una zona que cumple un papel importante en el desarrollo de las funciones cognoscitivas, al recibir proyecciones de estructuras como el bulbo olfatorio (Terreberry & Neafsey, 1987) y la amígdala basolateral (Krettek & Price, 1977). Estudios muestran que esta zona, está implicada en procesos de memoria de trabajo (Kesner, 2000), de atención (Passetti, Dalley, & Robbins, 2003) y en la flexibilidad e inhibición conductual

(Delatour & Gisquest-Verrier, 1999; Jinks & McGregor, 1997; Villarejo-Rodríguez et al., 2010).

Diferentes estudios (Tronel et al., 2004; Tronel, Milekic, & Alberini, 2005; Tronel & Sara, 2002, 2003; Villarejo-Rodríguez et al., 2010), sugieren que la corteza PL está implicada en el aprendizaje y la consolidación de la DSO y que manipulaciones farmacológicas con antagonistas glutamatérgicos y noradrenérgicos en la corteza PL impiden la retención a las 48 horas. Tronel y Sara, (2002) entrenaron a un grupo de animales en una sesión de adquisición de tres ensayos y un test a las 48 horas, con cuatro ensayos, para investigar el papel del sistema noradrenérgico de la corteza PL en los procesos de consolidación de la memoria. La infusión bilateral de timolol, un bloqueador de los receptores  $\beta$  adrenérgicos en esta zona prefrontal, dos horas después del entrenamiento de la DSO causó amnesia a las 48 horas, pero no afectó el reaprendizaje de la tarea (Tronel et al., 2004). Este mismo efecto se produjo con la administración del APV 5 minutos después del entrenamiento de la DSO con el mismo diseño experimental de la tarea utilizado en el primer trabajo (Tronel & Sara, 2003). Los resultados de estos experimentos sugieren que la corteza PL participa de forma importante, en los primeros estadios de la consolidación de la memoria a largo plazo a través de los receptores NMDA (Torras-García et al., 2005; Tronel et al., 2004; Tronel & Sara, 2003).

Este mismo grupo de investigadores demostraron la importancia de los receptores noradrenérgicos de la corteza PL para la consolidación de la DSO. Las muestras obtenidas por microdiálisis en esta zona prefrontal a los 32 y 128 minutos después del entrenamiento de la tarea, mostraron un incremento en la liberación de NA (Tronel et al., 2004; Tronel et al., 2005; Tronel & Sara, 2002, 2003). Estudios previos (Kublik & Sara) con técnicas de marcaje de c-Fos y registros electrofisiológicos, ya habían propuesto a la corteza prelámbica como una zona cortical que se muestra necesaria para la adquisición de la DSO, cuando el entrenamiento de la tarea es de 5 ensayos. Esta zona cortical mostró un alto nivel de inmunoreacción de c-Fos y alta actividad neuronal inmediatamente después del entrenamiento de la tarea (Villarejo-Rodríguez et al., 2010).

Tanto la corteza orbitofrontal, que ha sido relacionada con procesos cognoscitivos como la FC (Fuster, 2001), como la amígdala basolateral, que participa en tareas de

discriminación olfativa han sido relacionadas con la adquisición de la DSO. (Hess, Gall, Granger, & Lynch, 1997; Schoenbaum, Chiba, & Gallagher, 1999). Estas dos regiones fueron analizadas con la técnica inmunohistoquímica de c-Fos 90 min. Después del último ensayo de la sesión de adquisición y de la retención a las 24 horas de la DSO (Hess et al., 1997). En dos estudios, luego del análisis histológico se observó un incremento en la expresión c-Fos en estas dos zonas cerebrales sólo después de la sesión de adquisición (Torrás-García et al., 2005; Tronel & Sara, 2002).

Por otra parte, la Hbl, núcleo que envía proyecciones a zonas ricas en DA como la Sustancia nigra pars compacta y al área tegmental ventral (Herkenham & Nauta, 1979), y que recibe aferencias de la PL ha sido relacionada con la retención de DSO. Tronel y Sara (2002), observaron un aumento de la proteína c-Fos en esta zona diencefálica, sólo en los sujetos que realizaron un pseudo-entrenamiento (un ensayo con refuerzo) 24 horas después de la sesión de aprendizaje. Los autores proponen que posiblemente el papel de Hbl sea el de optimizar el balance entre la DA y NA después de la reactivación, para ayudar posteriormente al proceso de consolidación de la memoria.

### **Metodología**

#### **Sujetos**

Para la realización de este experimento se utilizaron 20 ratas macho de la cepa Wistar con un peso promedio de 265 g, (desviación estándar de 3.3 y rango de 69) al inicio del experimento y edad de 8 a 9 semanas, proveniente del bioterio del Sector de Ciencias Biológicas de la Universidad Federal de Paraná. Durante todas las fases experimentales los animales estuvieron en el estabulario bajo parámetros controlados de temperatura (20-24C°), humedad (40-70%) y bajo un ciclo de luz y oscuridad artificial de (12x12 horas). La manipulación experimental se realizó durante el período de luz. Tres días antes de la realización de la tarea DSO, los animales fueron sometidos a períodos de privación de alimento (día 2 a 5 y 18 a 22), con el fin de aumentar la motivación al reforzador. En los días de pre-operatorio y de recuperación los sujetos tuvieron acceso libre a comida y agua.

El control del estado de los sujetos en todas las fases de la investigación, especialmente después de la intervención quirúrgica, se realizó mediante un protocolo de supervisión que estableció criterios para evitar el sufrimiento innecesario de los animales.

El proyecto de investigación cumplió con la normativa vigente planteada en la ley AROUCA número 11.794 del 8 de octubre del 2008 del ministerio de ciencia y tecnología de Brasil y la resolución normativa del CONCEA (Consejo Nacional de Control de Experimentación Animal), con la aprobación de la CEUA/BIO–UFPR (comisión de ética en el uso de animales experimentales del sector de ciencias biológicas de la Universidade Federal do Paraná) y de la legislación colombiana (Ley 84 de 1989 y Resolución No. 8430 de 1993 del Ministerio de Salud) sobre ética, cuidado y control de animales para fines experimentales.

### Diseño experimental o procedimiento

En la Tabla 1 se resumen las diferentes fases del experimento, que serán explicadas en los siguientes apartados.

Tabla 1: Descripción de procedimientos para cada una de las fases adquisición y reaprendizaje.

FASE EXPERIMENTAL	GRUPOS	
	LESIÓN	VEHÍCULO
Separación + <i>handling</i> + privación	Estabulación en jaulas individuales, manipulación de los animales y 4 días de privación.	
Habitación al refuerzo	Entrenamiento a la ingesta de sacarosa y a la caja experimental (3 sesiones, 1 diaria, de 15, 10 y 5 minutos respectivamente).	
Período pre- operatorio	Ingesta de comida <i>ad libitum</i> 3 días previos a la cirugía	
Intervención extereotáxica	Lesión bilateral excitotóxica con NMDA 0,1 µl. Concentración 0,5 gr x µl	Infusión bilateral tampón fosfato (PBS) 0,1µl, concentración de 0,06M, pH=7,4.

	<p>disuelto en un tampón fosfato (PB), pH=7,4. Coord. AP: +2,8 mm, L: ±0.5 mm y DV:-5.1 mm con respecto a bregma, inclinación 5°</p>
Recuperación post-cirugía	7 días de ingesta de comida <i>ad libitum</i>
Privación	2 días de privación
Habituaación al reforzador post-cirugía	Re-entrenamiento a la ingesta de sacarosa un día antes del entrenamiento DSO (5 minutos.)
Adquisición o aprendizaje de la DSO	5 Ensayos, tres aromas anís (0.3 ml), naranja (0.6 ml) y vainilla (0.2 ml) impregnados en esponjas diferentes contenidas en recipientes cuadrados de aluminio, para cada animal se seleccionó uno de los tres aromas donde se ubicó el reforzador (sacarosa) en el orificio ubicado en el centro de la esponja, el animal debió hacer la asociación entre el aroma seleccionado y el reforzador, se finaliza el ensayo luego de que la rata encuentra y come la sacarosa.
Reaprendizaje a las 24 horas de la DSO	5 ensayos donde se cambia el aroma asociado al reforzador establecido en la fase de aprendizaje.
Prueba de percepción olfatoria	1 sesión 48 horas después del test DSO
Histología	Tinción con Violeta de Cresilo

Análisis estadísticos

---

### **Separación, *handling* y privación**

En esta primera fase los animales se estabularon en jaulas individuales de material plástico de tamaño (50x 40x20cm), provistas de un lecho de viruta y cubiertas con una tapa de enrejado de acero inoxidable. El día de separación el sujeto se introdujo en la jaula sin ninguna clase de manipulación para que se adaptaran a su nuevo espacio físico. A partir del segundo día, se continuó con sesiones diarias de *handling*, para que los animales se habitúen a la manipulación por parte del investigador. Cada una de estas sesiones tuvo una duración aproximada de 5 minutos por sujeto. Adicionalmente, se estableció un control de peso diario; a partir del segundo día se inició la privación de alimento y se mantuvo durante 4 días, dando a cada animal aproximadamente un pellet y medio de su alimento habitual y verificando diariamente su peso hasta que este llegara al 80% de su peso inicial, antes de iniciar la siguiente fase del experimento.

### **Habitación al refuerzo**

Con el fin de que los sujetos se habituaran a la sacarosa, la cual se utilizó como reforzadora en la DSO y a la caja experimental de la tarea, antes de la cirugía extereotáxica se realizaron 3 sesiones de habitación en 3 días consecutivos. La habitación al refuerzo se realizó en una jaula de plástico de 50x 40x20cm, sin viruta, el animal permaneció en su primera sesión un tiempo de 15 minutos, en la segunda sesión 10 minutos, y en la tercera sesión 5 minutos. Los sujetos que se seleccionaron para continuar con el procedimiento fueron aquellos que consumieron en su totalidad las 10 unidades de sacarosa en dos de los tres ensayos. Inmediatamente después se introdujo al sujeto en la jaula experimental, una caja de madera de 1 cm de grosor y área de 60x 60x40 cm con un suelo de acrílico. En la caja se encontraban tres esponjas con un agujero en el centro (sin ningún olor impregnado en las esponjas y sin reforzador), las esponjas estaban dentro de recipientes metálicos de menor altura que las esponjas y ubicados en una posición diferente dentro de la caja. Este proceso se llevo a cabo en cada uno de los días de habitación durante dos minutos aproximadamente. Una vez finalizadas las sesiones de habitación los animales se devolvieron al estabulario en su jaula habitual. Después de cirugía los sujetos fueron nuevamente entrenados en una única sesión de habitación de 5 minutos, para descartar posibles efectos de la intervención sobre la motivación a la ingesta del refuerzo.

### **Período pre-operatorio**

Con el fin de que los animales estuvieran en óptimas condiciones de salud para soportar la intervención esterotáxica, se establecieron 3 días previos a la cirugía en los que los animales tenían libre acceso a alimento y líquido.

### **Intervención esterotáxica**

La intervención quirúrgica se realizó siguiendo los procedimientos convencionales de cirugía y se utilizó un microinyector digital (modelo 53311, Stoelting, USA) acoplado a un aparato estereotáxico (modelo 51600, Stoelting, USA) con adaptador para ratas. Previamente a la intervención, los sujetos fueron distribuidos de forma aleatoria en los siguientes grupos: lesión IL + DSO (n=10) y Vehículo PBS + DSO (n=10). Todos los animales fueron anestesiados mediante inyecciones intraperitoneales de tiopental. Antes de realizar la incisión cutánea, se aplicó un antiséptico tópico y lidocaína. Durante toda la intervención, la temperatura corporal de los animales se mantuvo constante con una manta térmica.

Se realizó una lesión bilateral excitotóxica con NMDA disuelto 0,5 M en un tampón PBS para el grupo lesión, con coordenadas de AP: +2,8 mm, L:  $\pm 0.5$  mm y DV: - 5.1mm con respecto a bregma, con una inclinación de la aguja de 5° en todos los sujetos incluidos dentro del experimento. Al grupo vehículo se hizo una infusión bilateral de PBS.

### **Recuperación post-cirugía**

Inmediatamente después de que los animales recuperaron su movilidad al terminar la cirugía, los sujetos fueron llevados a su caja habitual con viruta limpia, fácil acceso a agua y a alimento triturado, a partir del segundo día se colocó los pellets de alimento habitual y se dio libre acceso a agua y comida durante 7 días posteriores a la intervención estereotáxica, durante este periodo de tiempo se observaban características comportamentales y el peso del animal, para descartar diferencias de comportamiento producto de la intervención.

### **Habituaación al reforzador post cirugía**

Luego de dos días de privación de alimento, se dio inicio a la habituación al reforzador post-cirugía, en un único ensayo de 5 minutos de duración, se ubicó al animal en una caja idéntica a la que ellos permanecían habitualmente sin viruta y con 10 pellets de sacarosa, los animales debían consumir la totalidad de los pellets para continuar a la siguiente fase del experimento, este procedimiento se realizo con el fin de descartar neofobias o falta de motivación por el consumo de la sacarosa.

### **Adquisición o aprendizaje de la DSO**

Para el aprendizaje de la DSO, se impregnaron tres esponjas como las utilizadas en la habituación a la caja experimental, con diferentes aromas: anís 0.3ml, naranja 0.6ml, y vainilla 0.2ml. Cada esponja se ubicó en una esquina diferente de la jaula experimental. Para cada sujeto, solo uno de los aromas fue asociado con la presencia de refuerzo en el interior de la esponja. Los tres aromas utilizados en el experimento fueron reforzados de manera balanceada entre los diferentes grupos experimentales a lo largo del estudio.

El animal aprendió a introducir el morro en el agujero de la esponja con el aroma donde se encontrara el refuerzo. El entrenamiento se realizó en una única sesión de cinco ensayos, separados por un intervalo de tiempo entre ensayos de 1 minuto. En cada uno de los ensayos la ubicación de los aromas fue cambiado con el objetivo de que el animal no se guiará por pistas contextuales. Al inicio de cada ensayo se ubicó al sujeto en la esquina que no tenía la esponja como punto de partida. En el primer ensayo se colocaron, a modo de pista, cuatro pellets de sacarosa, una en cada esquina de la esponja reforzada, para facilitar la aproximación del sujeto a la esponja con el aroma reforzado.

En los ensayos se registraron las tres respuestas importantes: el acierto, la omisión y el error, y fueron gravados con una cámara de video Web Hd 720p 1280x720 Genius Facecam 1020 1.3 Mp Usb. El ensayo se daba por terminado cada vez que el animal comía el pellet de sacarosa.

### **Reaprendizaje a las 24 horas de la DSO**

Un día después de la adquisición, se realizó la tarea DSO en una sesión de 5 ensayos, se registraron las mismas características medidas en el entrenamiento inicial

(latencia de respuesta, error de olor y omisión). En esta sesión, las condiciones experimentales fueron las mismas que las de la adquisición, exceptuando que desde el primer ensayo, se introducirá un cambio en el aroma que era reforzado en la fase de adquisición. Este tipo de aprendizaje reversible permitió evaluar procesos cognoscitivos como el aprendizaje de respuestas instrumentales simples, el reaprendizaje, la FC y la impulsividad.

### **Prueba de percepción olfatoria**

Para descartar posibles efectos de la lesión de la corteza IL sobre el sistema olfatorio, al final del experimento (2 días después de finalizar la DSO), los sujetos de cada grupo experimental realizaron una prueba de percepción olfatoria. En primer lugar se habituó a los animales a comer galletas con sabor a mantequilla marca mimosa, colocando un cuarto de galleta en sus jaulas durante una noche. Dos días después se introdujo al sujeto en una jaula con lecho de viruta, en la que se esconderá un cuarto de galleta en una de las esquinas, la ubicación de la misma en 4 de las esquinas disponibles fue alternada aleatoriamente en cada uno de los grupos. La prueba de olfato consistió en medir el tiempo que la rata tarda en encontrar la galleta escondida bajo la viruta. La latencia de respuesta se considerara como un índice de la capacidad olfativa del animal, un animal con capacidad perceptiva olfatoria normal encuentra la galleta en un tiempo inferior a un minuto.

### **Histología**

Al finalizar el experimento a todos los sujetos, se le efectuó una perfusión intracardiaca bajo efectos de una sobredosis de tiopental sódico (barbitúrico, elaborado por farmaceutas del laboratorio del sistema nervioso central del departamento de posgrado en farmacología). Se utilizó perfusión por gravedad usando recipientes tubos de caucho y jeringas, pasando inicialmente salina al 9% de concentración y un pH de 7.0, con el fin de retirar toda la sangre del cerebro y así mejorar la visibilidad de las estructuras cerebrales, para fijar el tejido nervioso se introdujo una solución de paraformaldehido pH de 7.0.

Los cerebros fueron retirados del cráneo de los animales, posteriormente fueron almacenados en frascos llenos de paraformaldehido de manera individual y se guardaron en un freezer, luego de dos días se cambio el contenido de los frascos por una solución de

sacarosa al 9%, para dar una mejor fijación de los tejidos y se hicieron cambios de esta solución por cuatro días más hasta el momento del corte del tejido en el criostato.

Luego de retirado el cerebro, fueron almacenados en frascos pequeños llenos de paraformaldehído, después del segundo día el cerebro fue almacenado en sacarosa y se hicieron

Se obtuvieron secciones seriadas de tejido a 20  $\mu\text{m}$  de grosor mediante criostato (Leica CM 3050 S). Se recogieron muestras coronales a la altura de la corteza IL. Finalmente, se realizó el análisis histológico utilizando un microscopio óptico (Leica DM500B) equipado con cámara (Leica EC3) que nos permitió tomar microfotografías para evaluar el efecto de la infusión del NMDA y el PBS en el IL.

### **Análisis Estadísticos**

Los datos fueron analizados mediante el programa estadístico SPSS 21 para Windows. El análisis estadístico se realizó mediante pruebas no paramétricas debido al tamaño de la muestra, usando el estadístico prueba de Mann Whitney para muestras independientes teniendo en cuenta las siguientes variables: independiente el tipo de grupo (lesión Vs control-vehículo) y fase de entrenamiento (adquisición o aprendizaje y re-entrenamiento o reaprendizaje), como variables dependientes se tomaron los datos de las latencias para emitir la respuesta correcta y el total de errores y omisiones. Adicionalmente, se analizó los resultados de la prueba de precepción olfatoria de los sujetos mediante el estadístico de Mann Whitney, en el cual la variable independiente fue el grupo y la dependiente el tiempo para encontrar la galleta.

### **Consideraciones éticas y disposiciones legales vigentes**

Durante la realización de este proyecto se cumplió las normas éticas y legales exigidas para la investigación con animales de laboratorio en Colombia (Ley 84 de 1989 y Resolución No. 8430 de 1993 del Ministerio de Salud). Se garantizó que los animales tuvieran agua y comida *ad libitum*, con la excepción de las fases privación. Se respetó la declaración universal de los derechos de los animales proclamada por la liga internacional de los derechos del animal, Ginebra, Suiza (1989) y los principios éticos de la experimentación animal enunciados por el International Council for Laboratory Animal

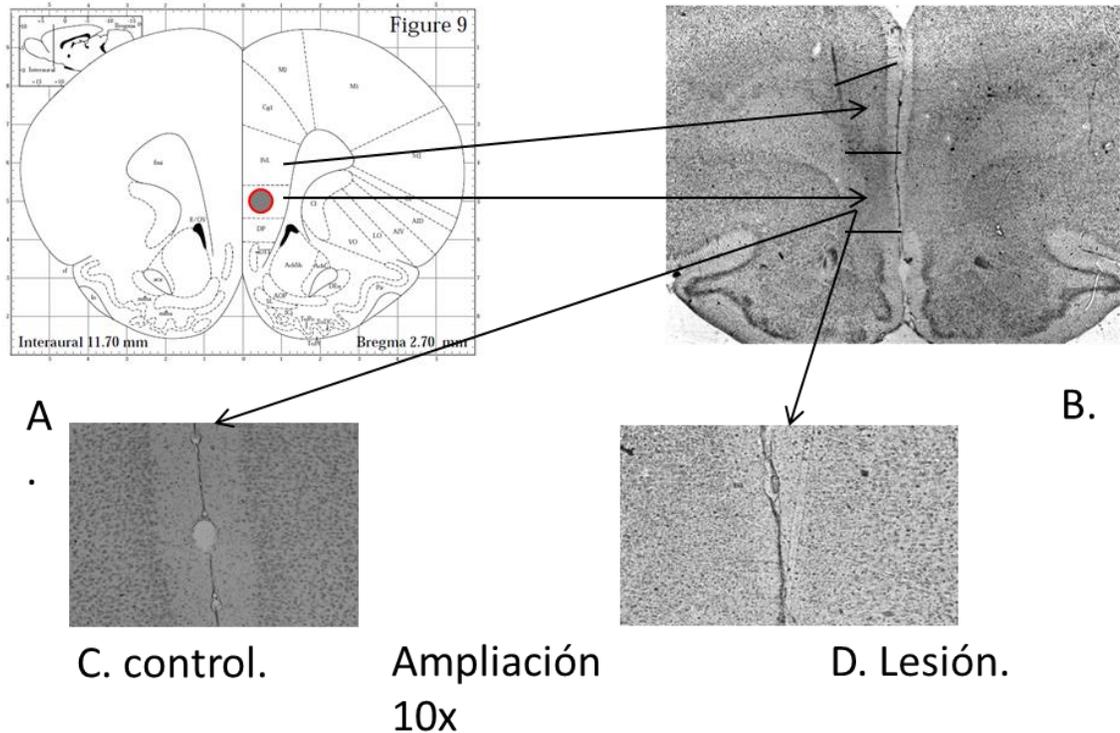
Science (ICLAS), y la normativa planteada en la ley AROUCA número 11.794 del 8 de octubre del 2008 del ministerio de ciencia y tecnología de Brasil, la resolución normativa del CONCEA (Consejo Nacional de Control de Experimentación Animal), junto con la aprobación y regulación de la CEUA/BIO–UFPR (comisión de ética en el uso de animales experimentales del sector de ciencias biológicas de la Universidade Federal do Paraná).

Los fármacos seleccionados en este estudio, fueron utilizados mediante procedimientos estándar de bioseguridad (almacenaje y manipulación de los productos químicos, uso de guantes y tapa bocas) y su manipulación fue controlada de acuerdo con los protocolos regulares del laboratorio del sistema nervioso central del área de posgrado en farmacología del sector de ciencias biológicas de la Universidad Federal de Paraná. La mayoría de los procedimientos realizados fueron totalmente inocuos y por tanto no provocaron ninguna alteración en el medio ambiente. Igualmente, el uso de fijadores para el tejido cerebral así como las diferentes sustancias químicas utilizadas en los procedimientos histológicos se manejaron según las normas de bioseguridad vigentes. Se garantizó igualmente que los investigadores y demás personal que tenga contacto con las condiciones experimentales reunieron las exigencias de los organismos de control sanitario (CEUA/BIO–UFPR).

## **Resultados**

### **Procedimiento histológico**

Dos observadores de forma independiente analizaron las microfotografías de los tejidos coronales obtenidos en el estudio, estos evaluadores desconocían la ejecución conductual de los sujetos. El análisis mostró que la zona afectada por las infusiones (NMDA) variaba desde la coordenada +2,60mm a la +3,10 aproximadamente, posterior a Bregma, ver figura 2.



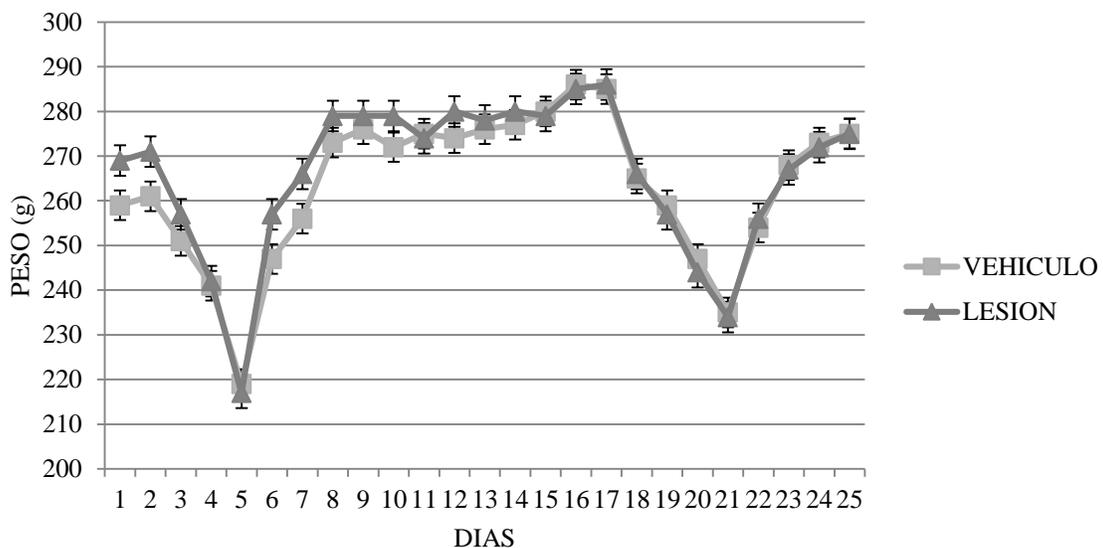
**Figura 2.** Esquema comparativo entre el tejido neuronal de la corteza infralímbica (IL) con y sin lesión. (A) sección coronal de IL según Paxinos y Watson, 1997. (B) micrografía de sección coronal del IL teñido con violeta de Cresilo (coordinada +2,8 mm, L:  $\pm 0.5$  mm y DV: -5.1 mm con respecto a bregma, inclinación  $5^\circ$ ). (C) ampliación (10x) de IL control vehículo teñido con violeta de Cresilo. (D) ampliación (10x) de IL lesión con infusión de NMDA teñido con violeta de Cresilo.

Las micrografías de la Figura 3 B, C y D son cortes coronales a la altura de la corteza IL. Los criterios usados para considerar como válidos los animales del grupo lesión fueron: a) pérdida de cuerpos neuronales en la zona de la corteza IL  $>25\%$ , b) no afectación en áreas circundantes al IL, ni presencia de daño tisular a lo largo de la trayectoria de la aguja Hamilton; algunas de las lesiones alcanzaron a lesionar menos del  $10\%$  de la corteza peduncular dorsal (DP) sin embargo, esta lesión no fue considerada como significativa, y c) la lesión debía ser bilateral. Los sujetos que no cumplieron con estas condiciones histológicas se excluyeron del análisis estadístico. El criterio de inclusión del grupo control vehículo fue la observación de la trayectoria de la aguja Hamilton y la ausencia de pérdida de neuronas en la corteza IL u otro tipo de lesión tisular debida a la infusión de PB.

### Estado de los sujetos

Después del análisis histológico, la muestra final para el análisis estadístico fue de 13 sujetos distribuidos en los siguientes grupos: control- vehículo (6 sujetos) con un peso promedio de 263 g y grupo lesión (7 sujetos), con un peso promedio medio de 265 g los dos grupos al inicio del experimento tenían una edad de 8 a 9 semanas de vida.

La evolución del peso en los diferentes grupos experimentales siguió una evolución similar, tal y como se observa en la figura 4, que fue variando en función de si los sujetos estaban o no en fase de privación. El peso mínimo de los sujetos en la fase de privación de comida (pellets) fue de un 82% en relación con su peso inicial.



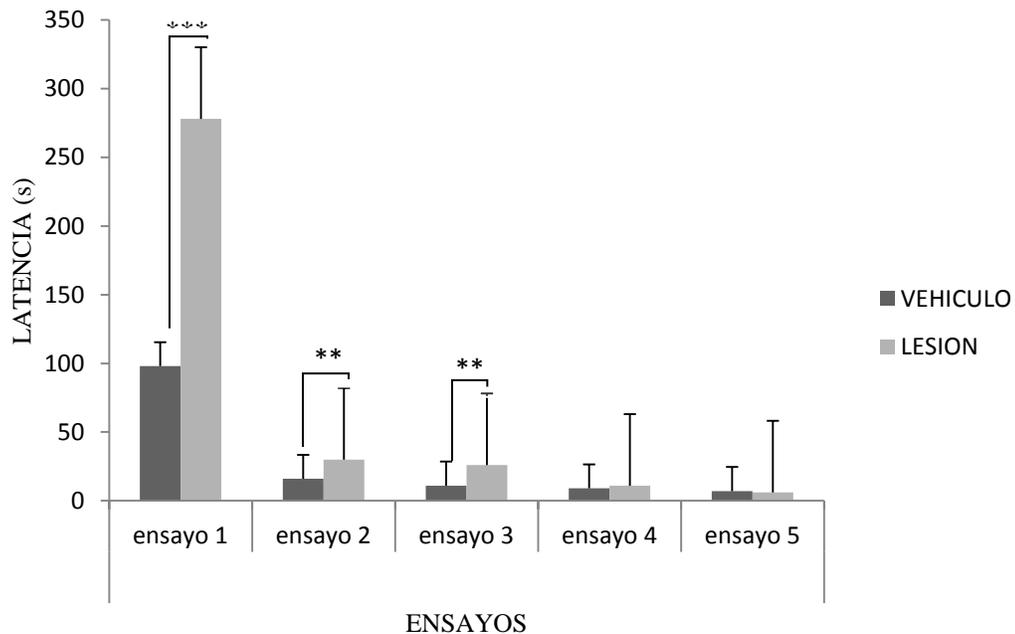
**Figura 3.** Evolución de los pesos de los sujetos a lo largo del experimento en los diferentes grupos.

### Resultados conductuales

Para el análisis estadístico se tomaron en cuenta tres variables dependientes, la primera la latencia, entendida como el tiempo en que el animal encuentra y come el pellet de sacarosa contenido en una esponja impregnada del aroma indicador del refuerzo, la segunda los errores evidenciados cuando los animales introducían el morro en aromas no reforzados y la tercera las omisiones, evaluadas cuando los animales se acercaban al aroma reforzado y no consumían la sacarosa.

## Latencia

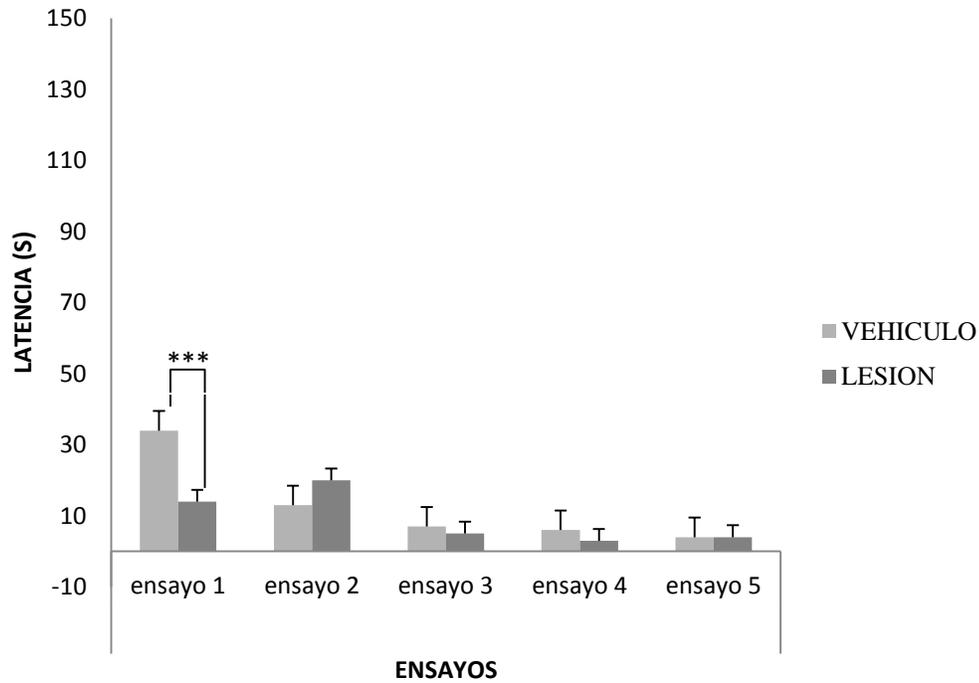
Según los resultados de la prueba de Mann Whitney, se observó que en la fase de entrenamiento del aprendizaje, los animales pertenecientes al grupo lesión demoraron más tiempo en adquirir la asociación entre el reforzador y el aroma en los tres primeros ensayos 1: ( $P= 0.000$ ); ensayo 2: ( $P= 0.022$ ); ensayo 3: ( $P= 0.022$ ), comparado con el grupo control vehículo. En los ensayos 4 y 5 no se evidenciaron diferencias significativas entre los dos grupos, ensayo 4: ( $P= 0.295$ ); ensayo 5: ( $P= 0.836$ ), tal y como se observa en la figura 4



**Figura 4.** Efectos en la latencia de respuesta correcta, tras lesión bilateral con NMDA en la corteza IL, comparación entre grupos (vehículo y lesión), en la fase de aprendizaje de la tarea de DSO.

**Nota:** \*\*\*= grado de significancia menor a 0.001 \*\* = grado de significancia menor a 0.05

En la fase de reaprendizaje, los sujetos del grupo control Vehículo presentaron una latencia mayor en el ensayo 1 en comparación con el grupo lesión: ( $P= 0.000$ ); a partir del segundo ensayo no se encuentran diferencias significativas entre los grupos: ensayos 2: ( $P= 0.138$ ); ensayo 3: ( $P= 0.101$ ); ensayo 4: ( $P= 0.051$ ); ensayo 5: ( $P= 0.445$ ). (Ver figura 5)

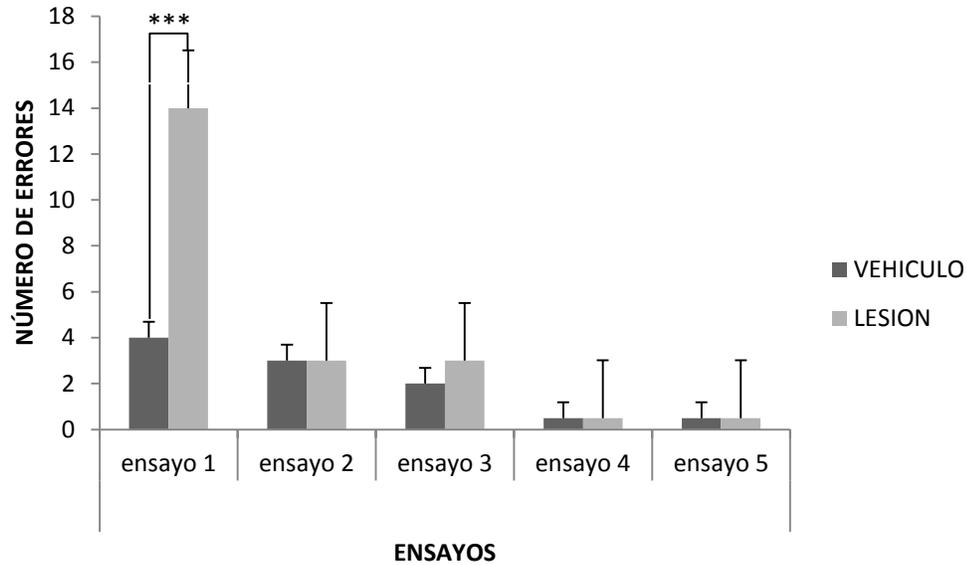


**Figura 5.** Efectos en la latencia de respuesta correcta, tras lesión bilateral con NMDA en la corteza IL, comparación entre grupos (vehículo y lesión), en la fase de reaprendizaje de la tarea DSO.

**Nota:** \*\*\*= grado de significancia menor a 0.001

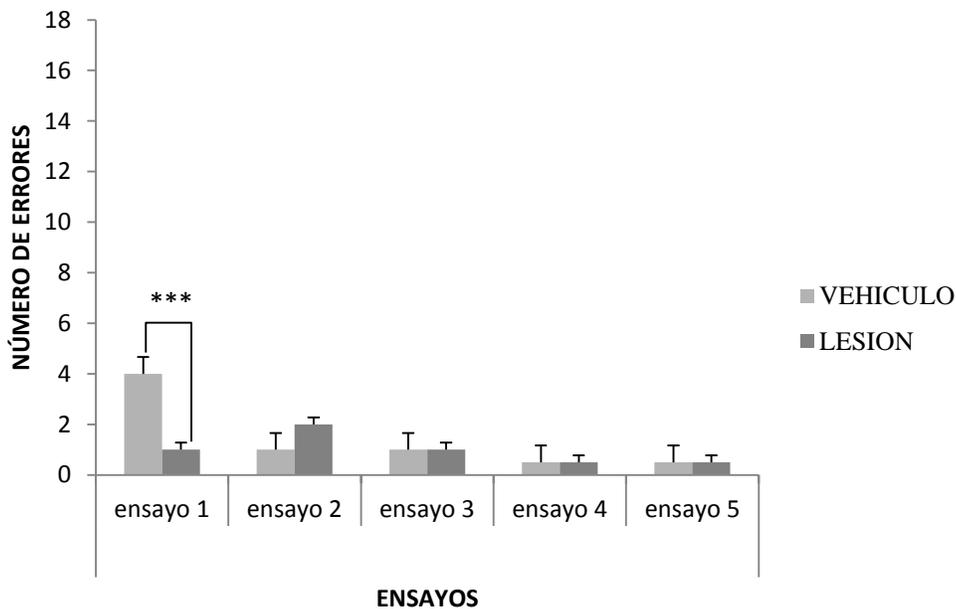
### Errores

En la figura 6, se muestra el número de errores en la fase de aprendizaje, el análisis para muestras independientes mediante la prueba Mann Whitney dio como resultado una diferencia significativa entre grupos, los sujetos con lesión presentaron un mayor número de errores en el primer ensayo comparado con el grupo vehículo, ( $P= 0.001$ ); a partir del segundo ensayo no se observaron diferencias entre grupos: ensayo 2: ( $P= 0.138$ ); ensayo 3: ( $P= 0.445$ ); ensayo 4: ( $P= 0,101$ ) y ensayo 5: ( $P= 0,445$ ).



**Figura 6.** Efectos de la inyección de NMDA en la corteza IL en el número de errores cometidos en una tarea de DSO, en la primera fase de entrenamiento.

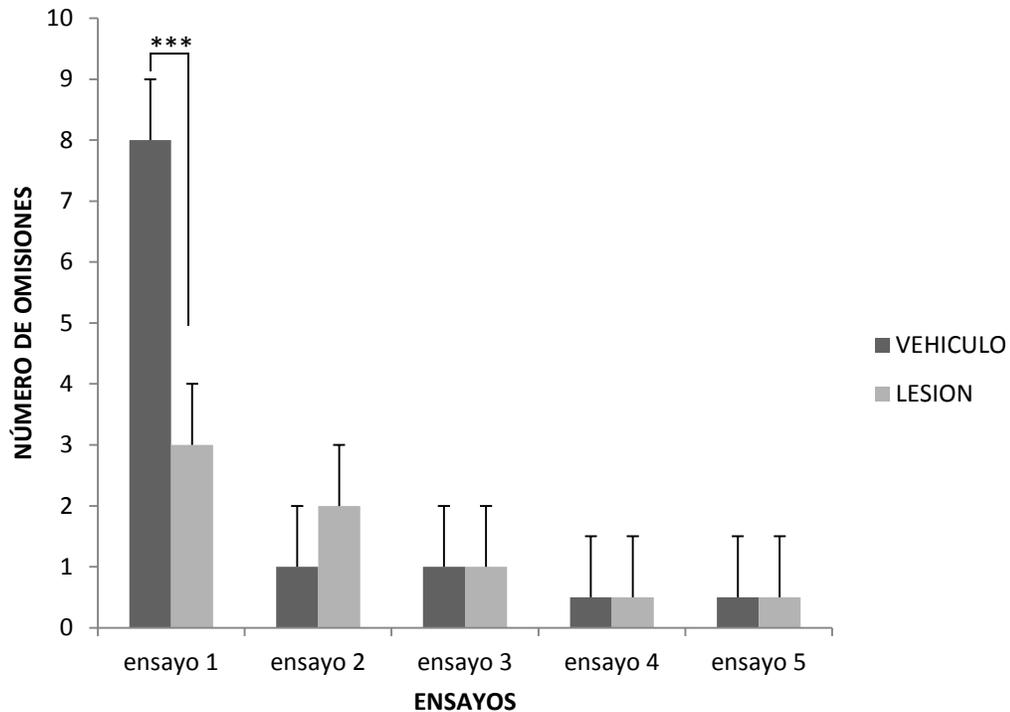
A diferencia de los resultados de la fase de adquisición en el reaprendizaje, se observó que los sujetos del grupo vehículo cometieron un mayor número de errores en el ensayo 1: ( $P= 0.002$ ); a partir del segundo ensayo no se evidenciaron diferencias significativas ( $P= 0.534$ ); ensayo 3: ( $P= 0.731$ ); ensayo 4: ( $P= 0,731$ ) y ensayo 5: ( $P= 0,445$ ) (Ver figura 7).



**Figura 7.** Efectos de la inyección de NMDA en la corteza IL en el número de errores cometidos en una tarea de DSO, en la fase de reaprendizaje.

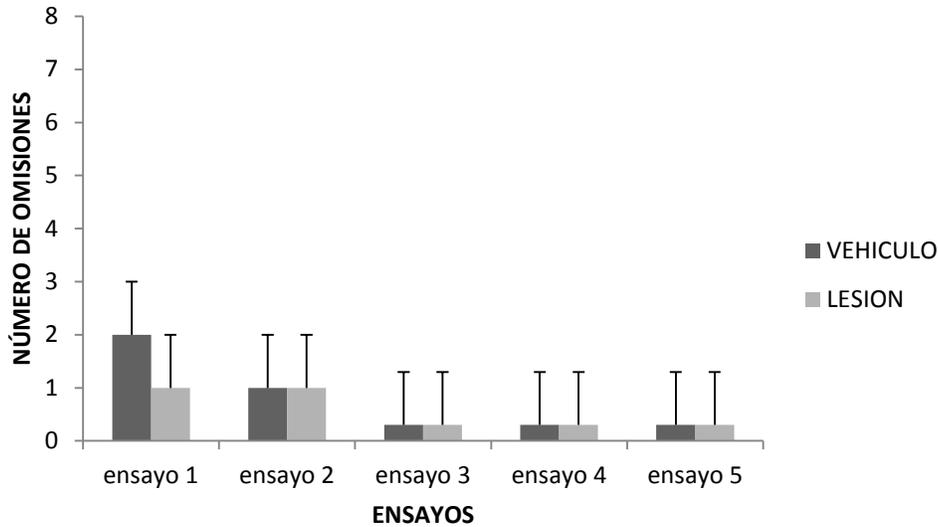
### Omisiones

Mediante la prueba de Mann Whitney se estimó la existencia de diferencias significativas en el primer ensayo ( $P=0,001$ ), en el número de omisiones entre los grupos control vehículo y lesión en la fase de aprendizaje (ver figura 8), a partir del segundo ensayo no se encontraron diferencias entre grupos: ensayo 2 ( $P= 0.366$ ); ensayo 3: ( $P= 0.234$ ); ensayo 4: ( $P= 0,731$ ) y ensayo 5: ( $P= 0,731$ ).



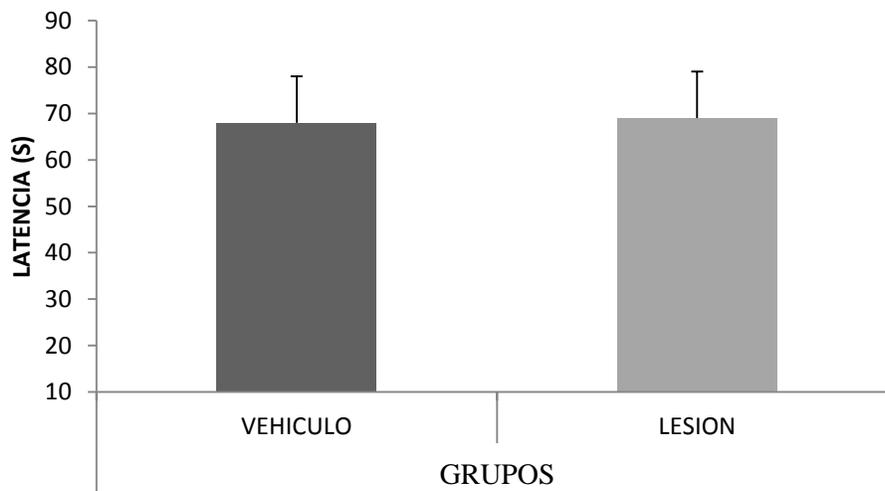
**Figura 8.** Efectos de la inyección de NMDA en la corteza IL en el número de omisiones cometidos en una tarea de DSO, en la fase de aprendizaje.

En la fase de reaprendizaje no se evidenciaron diferencias entre los grupos lesión y control vehículo según lo observado en la gráfica 9, ensayo 1 ( $P= 0.445$ ); ensayo 2 ( $P= 0.445$ ); ensayo 3: ( $P= 1.000$ ); ensayo 4: ( $P= 0,445$ ) y ensayo 5: ( $P= 1,000$ ).



**Figura 9.** Efectos de la inyección de NMDA en la corteza IL en el número de omisiones cometidas en una tarea de DSO, en la fase de reaprendizaje.

#### Resultado prueba de percepción olfatoria



**Figura 10.** Tiempo que emplea el animal para encontrar una galleta de chocolate cubierta con aserrín, en su caja habitual.

Como se observa en la figura 10 según el análisis mediante el estadístico Mann Whitney no se encontraron diferencias significativas ( $P= 0.836$ ) en la prueba de percepción olfatoria entre los grupos, lo sugiere que los resultados mencionados anteriormente no se derivan de una deficiencia o alteración a nivel senso-perceptual olfatoria como resultado de la realización de la lesión en la corteza IL.

## Discusión

Este estudio se realizó con el fin de proporcionar una mejor comprensión del funcionamiento de la corteza infralímbica (IL), con relación al aprendizaje y el reaprendizaje de ratas Wistar usando un modelo de Discriminación simple de olores (DSO), adicionalmente se evaluaron otros procesos cognoscitivos como la flexibilidad cognoscitiva (FC), la impulsividad y la atención selectiva, dado que las características de la tarea permitieron su análisis.

Los resultados más importantes del estudio, permiten afirmar que en la primera fase de aprendizaje, la lesión con NMDA afectó el rendimiento de los sujetos en comparación al grupo control, debido a que se evidenció un aumento de la latencia en los tres primeros ensayos. Igualmente, se observó un mayor número de errores y omisiones en el primer ensayo de la primera fase de la DSO.

Sin embargo, en los dos últimos ensayos de la fase de aprendizaje, las ratas con lesión consiguieron realizar la asociación entre el aroma y el reforzador, mostrando un comportamiento similar al que se observó en las ratas del grupo control vehículo. Esto sugiere que la corteza IL no afectó directamente el aprendizaje, puesto que los sujetos a partir del segundo ensayo comenzaron a disminuir progresivamente en el tiempo que demoraban para encontrar el reforzador, al igual que el número de errores y de omisiones llegando a valores cercanos a cero.

Estudios con lesiones de las cortezas PL e IL, demuestran que la corteza IL cumpliría una función relacionada con la selección de la estrategia correcta para encontrar la solución de un problema, mientras que la corteza PL estaría relacionada con el mantenimiento de la estrategia seleccionada (Heidbreder & Groenewegen, 2003); teniendo en cuenta este estudio, puede decirse que el déficit observado puede ser explicado porque la lesión de la IL dificultó inicialmente la selección de una estrategia para la solución de la tarea. Sin embargo al final de la fase los animales lograron hacer la asociación entre el aroma y el reforzador, lo cual indica que la IL no afecta el aprendizaje (Nelson, Cooper, Thur, Marsden, & Cassaday, 2011; Ragozzino et al., 2003).

En cuanto a la fase de reaprendizaje, se evidenció un aparente mejor desempeño de las ratas pertenecientes al grupo lesión, puesto que fueron más rápidas en encontrar el cambio de aroma reforzado, cometiendo un número menor de errores y omisiones en el primer ensayo comparado con el grupo control vehículo; esto se podría explicar porque los animales del grupo lesión no necesitaron seleccionar otra estrategia diferente sino que mantuvieron la que ya habían adquirido en la fase de aprendizaje, esto facilitado por la corteza PL que se encontraba sin lesión, lo que posiblemente les permitió ser más rápidas en la acción de encontrar el reforzador en el aroma correcto (Heidbreder & Groenewegen, 2003).

Existen investigaciones que sugieren que las lesiones extensas en la CPFM produce déficits en el reaprendizaje (Rhodes y Killcross, 2007). En un estudio donde se realizaron lesiones en la CPFM usando NMDA mostró dificultades en el proceso de reaprendizaje en la tarea de discriminación espacial. Los investigadores sugieren que la falta de inhibición de la respuesta adquirida en la fase de entrenamiento de una tarea de discriminación espacial, generó un mayor número de respuestas correctas (presionar la barra cuando el estímulo indicador de refuerzo se encuentra en la posición correcta) que incrementó la posibilidad de realizar la respuesta acertada para la solución de la tarea, dando como resultado un aparente mejor rendimiento en comparación con los grupos control, estos resultados son contrarios a los hallados en esta investigación, en donde las ratas del grupo lesión se desempeñaron de forma más rápida adquiriendo con facilidad la asociación entre el reforzador y el nuevo aroma asociado, más relacionado a una respuesta impulsiva, que llevo a un mejor desempeño (Coutureau & Killcross, 2003; Salazar, White, Lacroix, Feldon, & White, 2004). Debido a la sencillez de la tarea implementada para el presente experimento, las ratas con lesión emitieron un menor número de errores y omisiones lo cual descarta la presencia de impulsividad y confirma el aprendizaje de la tarea según los criterios para la DSO.

Por el contrario, en nuestro estudio las deficiencias encontradas se observaron en la fase de aprendizaje, esto se puede explicar por el tipo de tarea utilizada, en los experimentos anteriores, se usaron tareas donde el animal debía discriminar estímulos espaciales o visuales, mientras que en la DSO el animal discriminó estímulos olfatorios,

característica que facilitó el aprendizaje debido a que las ratas evolutivamente han desarrollado más el sentido del olfato (Burgos-Robles et al., 2013; Kesner, 2000); por tal razón pueden tener mayor facilidad para desempeñarse mejor en tareas que involucran estímulos olfativos, esto lo confirman estudios donde se usó una tarea de discriminación de olores en un laberinto (Ragozzino et al., 2003), en este experimento, las ratas con lesión tienen un aparente mejor desempeño en la fase de re-aprendizaje cuando la tarea es sencilla. Sin embargo, al generar dificultad en la tarea el animal está obligado a seleccionar estrategias diferentes lo que obstaculiza su desempeño en esta misma fase de reaprendizaje (Bussey TJ, 1997; Ragozzino, 2007; Ragozzino et al., 2003), lo cual refuerza la hipótesis de que el aparente mejor desempeño de los animales lesionados se debe al funcionamiento que hace la corteza PL al mantener la estrategia seleccionada anteriormente por la corteza IL.

Contrario a nuestros hallazgos, un experimento en el cual se produjo la inactivación de la CPFM usando muscimol, demostró que esta zona cortical afecta el reaprendizaje en tareas de discriminación con claves visoespaciales. Sin embargo, la inactivación no se realizó de forma selectiva, sino en toda la CPFM (Shaw, Watson, Hallock, Cline, & Griffin, 2013), lo cual confirmaría que esta zona cortical, no afecta directamente el aprendizaje, pero sería necesaria para la selección de estrategias y el mantenimiento de las mismas para las tareas que requieren un reaprendizaje, teniendo en cuenta que es la corteza cingulada anterior (AC) la encargada de evaluar y establecer asociaciones entre estímulos y reforzadores, y que las cortezas PL e IL, participan en la escogencia y mantenimiento de reglas generales y estrategias atencionales (W. Hoover & Vertes, 2007).

Otro resultado interesante de este estudio, es el obtenido con la realización de la prueba de percepción olfatoria, donde no se encontraron diferencias entre grupos, indicando que todos los sujetos tenían la habilidad de discriminar y reconocer los olores. Debido a que la corteza IL, cuenta con proyecciones eferentes con el bulbo olfatorio (Vertes, 2006), al producir cambios en el circuito neuroanatómico, se podrían observar déficits en la capacidad de discriminar olores, no obstante, nuestros resultados demuestran que los efectos observados en la tarea de DSO, no fueron consecuencia de pérdida de la capacidad de percibir olores.

Esta zona cortical cuenta también con conexiones con el hipotálamo lateral y la amígdala estructuras relacionadas con la motivación y la ingesta de alimentos (Brown et al., 2006; Kuipers et al., 2006), al lesionar la corteza IL se podrían haber alterado los niveles motivacionales al reforzador sin embargo, tampoco se detectó alguna disminución en la motivación a la ingesta del reforzador puesto que luego de la cirugía se realizó una segunda habituación al reforzador donde se evidenció que los animales continuaban consumiendo la sacarosa en la misma cantidad que la que consumían antes de ser operadas, cumpliendo así con el criterio de inclusión para el inicio del aprendizaje de la tarea de DSO ( la ingesta de los 10 pellets de sacarosa).

Por otra parte, las características cambiantes que se introdujeron a la DSO permitieron identificar de manera indirecta posibles comportamientos impulsivos, bajo el criterio de déficit en la capacidad de inhibir una conducta ya adquirida (dirigirse al mismo aroma reforzado en la fase de adquisición durante el reaprendizaje). Sin embargo, los resultados obtenidos muestran que el número de errores y omisiones en la fase de reaprendizaje del grupo lesión fue significativamente menor en el primer ensayo comparando con el grupo vehículo, lo cual indica que no hay un aparente comportamiento de impulsividad (Salazar et al., 2004).

Para resumir, la DSO, permitió observar procesos de aprendizaje de respuestas instrumentales simples, mediante la asociación de un único estímulo (el aroma) con un reforzador (la sacarosa), el reaprendizaje, evaluado por la capacidad de adquirir una nueva asociación entre un aroma diferente al entrenado en la fase de aprendizaje y el reforzador, adicionalmente se evaluó la FC estudiando la capacidad que tienen los roedores para identificar diferentes alternativas de respuesta ante una misma situación. De estos procesos cognoscitivos se pudo observar que el aprendizaje no se ve afectado por la lesión de la corteza IL, pues los sujetos de todos los grupos adquirieron la asociación correcta entre aroma y reforzador, aunque se observaron déficits en la elección de la estrategia inicial para dar solución a la tarea. Con respecto al reaprendizaje, se evidenció un aparente mejor rendimiento, el cual se explica por la función que ejerce la corteza PL ayudando a mantener la estrategia implementada en la fase anterior, no se evidenciaron problemas en la ejecución debido a déficits en la percepción olfatoria ni a la FC, puesto que siendo las

cortezas IL y PL las más importantes para el desarrollo de esta función ejecutiva, no se observaron dificultades para adquirir nuevamente la asociación entre el aroma y el reforzador cuando las condiciones del entorno cambiaron (Burgos-Robles et al., 2013; Kesner, 2000; Salazar et al., 2004).

### **Conclusión y perspectivas a futuro**

En conclusión, se puede decir que la corteza IL afectaría la habilidad inicial de seleccionar estrategias que permiten establecer discriminaciones y asociaciones entre estímulos olfativos y la presencia de estímulos reforzadores. En nuestro estudio no se encontraron conductas relacionadas con comportamientos impulsivos, puesto que el número de errores y omisiones siempre fue menor, lo cual indica que el animal encontraba el refuerzo por la asociación realizada entre el estímulo y el reforzador, y no llegaba a la respuesta por simple ensayo y error. La capacidad de aprendizaje no se vio perjudicada pues a partir del 3 o 4 ensayo el animal lograba identificar que aroma era el que contenía el refuerzo y cuáles no, dirigiéndose al aroma correcto de inmediato.

Para continuar explorando la relación que tiene la corteza IL con los procesos cognoscitivos, se plantea para futuras investigaciones realizar la fase de aprendizaje pre-cirugía y la fase de re-aprendizaje post-cirugía, con el fin de dilucidar mejor el papel de la corteza IL en los procesos de reaprendizaje y selección de estrategias para la solución de problemas, igualmente se proyecta adicionar un grupo más donde sea lesionada únicamente la corteza PL, con el fin de aclarar el posible funcionamiento de estas dos zonas corticales.

## Referencias

- Akirav, I., Raizel, H., & Maroun, M. (2006). Enhancement of conditioned fear extinction by infusion of the GABAA agonist muscimol into the rat prefrontal cortex and amygdala. *23(3)*, 758-764.
- Amargós-Bosch, M., Bortolozzi, A., Puig, M. V., Serrats, J., Adell, A., Celada, P., & Artigas, F. (2004). Co-expression and in vivo interaction of serotonin1A and serotonin2A receptors in pyramidal neurons of prefrontal cortex. *14(3)*, 281-299.
- Andrade, R. (2011). Serotonergic regulation of neuronal excitability in the prefrontal cortex. *Neuropharmacology*, *61(3)*, 382-386. doi: 10.1016/j.neuropharm.2011.01.015
- Baddeley, A. D., & Hitch, G. J. (1994). Developments in the concept of working memory. *8(4)*, 485. doi:10.1037/0894-4105.8.4.485
- Ball, K. T., & Slane, M. (2012). Differential involvement of prelimbic and infralimbic medial prefrontal cortex in discrete cue-induced reinstatement of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA; ecstasy) seeking in rats. *Psychopharmacology*, *224(3)*, 377-385. doi: 10.1007/s00213-012-2762-5
- Bechara, A., Tranel, D., & Damasio, H. (2000). Characterization of the decision-making deficit of patients with ventromedial prefrontal cortex lesions. *Brain*, *123(11)*.
- Birrell, J. M., & Brown, V. J. (2000). Medial frontal cortex mediates perceptual attentional set shifting in the rat. *20(11)*, 4320-4324.
- Boulougouris, V., Dalley, J. W., & Robbins, T. W. (2007). Effects of orbitofrontal, infralimbic and prelimbic cortical lesions on serial spatial reversal learning in the rat. *Behavioural Brain Research*, *179(2)*, 219-228. doi: 10.1016/j.bbr.2007.02.005
- Braquehais, M. D., Ramos-Quiroga, J. A., & Sher, L. (2010). Impulsivity: current and future trends in pharmacological treatment. *Expert Review of Neurotherapeutics*, *10(9)*, 1367-1369. doi: 10.1586/ern.10.100
- Brown, S. M., Manuck, S. B., Flory, J. D., & Hariri, A. R. (2006). Neural basis of individual differences in impulsivity: Contributions of corticolimbic circuits for behavioral arousal and control. *Emotion*, *6(2)*, 239-245. doi: 10.1037/1528-3542.6.2.239
- Burgos-Robles, A., Bravo-Rivera, H., & Quirk, G. J. (2013). Prelimbic and Infralimbic Neurons Signal Distinct Aspects of Appetitive Instrumental Behavior. *Plos One*, *8(2)*. doi: 10.1371/journal.pone.0057575
- Bussey TJ, M. J., Everitt BJ, Robbins TW. (1997). Triple dissociation of anterior cingulate, posterior cingulate, and medial frontal cortices on visual discrimination tasks using a touchscreen testing procedure for the rat. *Behavioral Neuroscience* *111*.((5)), 920-936.
- Chang, C.-h., & Maren, S. (2010). Strain difference in the effect of infralimbic cortex lesions on fear extinction in rats. *Behavioral Neuroscience*, *124(3)*, 391-397. doi: 10.1037/a0019479
- Chudasama, Y., Passetti, F., Rhodes, S. E. V., Lopian, D., Desai, A., & Robbins, T. W. (2004). Dissociable aspects of performance on the 5-choice serial reaction time task following lesions of the dorsal anterior cingulate, infralimbic and orbitofrontal cortex in the rat: differential effects on selectivity, impulsivity and compulsivity (vol 146, pg 105, 2003). *Behavioural Brain Research*, *152(2)*, 453-453. doi: 10.1016/j.bbr.2004.03.014
- Ciaramelli, E., & Spaniol, J. (2009). Ventromedial prefrontal damage and memory for context: Perceptual versus semantic features. *Neuropsychology*, *23(5)*, 649-657. doi: 10.1037/a0015937

- Clark, nbsp, Bechara, Damasio, Aitken, Sahakian, & Robbins. (2008). Differential effects of insular and ventromedial prefrontal cortex lesions on risky decision-making. *Brain*, 131(5).
- Contreras, D., Catena, A., Candido, A., Perales, J. C., & Maldonado, A. (2008). The role of ventromedial prefrontal cortex in emotional decision-making. *International Journal of Clinical and Health Psychology*, 8(1), 285-313.
- Cools, R., Nakamura, K., & Daw, N. D. (2011). Serotonin and Dopamine: Unifying Affective, Activational, and Decision Functions. *Neuropsychopharmacology*, 36(1), 98-113. doi: 10.1038/npp.2010.121
- Coutureau, E., & Killcross, S. (2003). Inactivation of the infralimbic prefrontal cortex reinstates goal-directed responding in overtrained rats. *Behavioural Brain Research*, 146(1-2), 167-174. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2003.09.025>
- Cowan, N. (2008). What are the differences between long-term, short-term, and working memory?. 169, 323-338.
- Dalley, J. W., Cardinal, R. N., & Robbins, T. W. (2004). Prefrontal executive and cognitive functions in rodents: neural and neurochemical substrates. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 28(7), 771-784. doi: 10.1016/j.neubiorev.2004.09.006
- De Bartolo, P., Mandolesi, L., Federico, F., Foti, F., Cutuli, D., Gelfo, F., & Petrosini, L. (2009). Cerebellar involvement in cognitive flexibility. *Neurobiology of Learning and Memory*, 92(3), 310-317. doi: 10.1016/j.nlm.2009.03.008
- Delatour, B., & Gisquet-Verrier, P. (1999). Lesions of the prelimbic-infralimbic cortices in rats do not disrupt response selection processes but induce delay-dependent deficits: Evidence for a role in working memory?. . 113(5), 941.
- Fellows, L. K., & Farah, M. J. (2003). Ventromedial frontal cortex mediates affective shifting in humans: evidence from a reversal learning paradigm. *Brain*, 126(8).
- Fellows, L. K., & Farah, M. J. (2007). The role of ventromedial prefrontal cortex in decision making: Judgment under uncertainty or judgment per se? *Cerebral Cortex*, 17(11), 2669-2674. doi: 10.1093/cercor/bhl176
- Fitzgerald, P. (2011). A neurochemical yin and yang: does serotonin activate and norepinephrine deactivate the prefrontal cortex? *Psychopharmacology*, 213, 171-182.
- Fontanez-Nuin, D. E., Santini, E., Quirk, G. J., & Porter, J. T. (2011). Memory for Fear Extinction Requires mGluR5-Mediated Activation of Infralimbic Neurons. *Cerebral Cortex*, 21(3), 727-735. doi: 10.1093/cercor/bhq147
- Fuster, J. M. (2001). The prefrontal cortex - An update: time is of the essence. *Neuron*, 30(2), 319-333. doi: 10.1016/s0896-6273(01)00285-9
- Gisquet-Verrier, P., & Delatour, B. (2006). The role of the rat prelimbic/infralimbic cortex in working memory: Not involved in the short-term maintenance but in monitoring and processing functions. *Neuroscience*, 141(2), 585-596. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.04.009>
- Haddon, J. E., & Killcross, S. (2011). INACTIVATION OF THE INFRALIMBIC PREFRONTAL CORTEX IN RATS REDUCES THE INFLUENCE OF INAPPROPRIATE HABITUAL RESPONDING IN A RESPONSE-CONFLICT TASK. *Neuroscience*, 199, 205-212. doi: 10.1016/j.neuroscience.2011.09.065
- Heidbreder, C. A., & Groenewegen, H. J. (2003). The medial prefrontal cortex in the rat: evidence for a dorso-ventral distinction based upon functional and anatomical characteristics. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 27(6), 555-579. doi: 10.1016/j.neubiorev.2003.09.003

- Herkenham, M., & Nauta, W. J. H. (1979). Efferent connections of the habenular nuclei in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, *187*(1), 19-47. doi: 10.1002/cne.901870103
- Herold, C. (2010). NMDA and D2-Like Receptors Modulate Cognitive Flexibility in a Color Discrimination Reversal Task in Pigeons. *Behavioral Neuroscience*, *124*(3), 381-390. doi: 10.1037/a0019504
- Hess, U. S., Gall, C. M., Granger, R., & Lynch, G. (1997). Differential patterns of c-fos mRNA expression in amygdala during successive stages of odor discrimination learning. *4*(3), 262-283.
- Hoover, W., & Vertes, R. (2007). Anatomical analysis of afferent projections to the medial prefrontal cortex in the rat. *Brain Structure and Function*, *212*(2), 149-179. doi: 10.1007/s00429-007-0150-4
- Hoover, W. B., & Vertes, R. P. (2012). Collateral projections from nucleus reuniens of thalamus to hippocampus and medial prefrontal cortex in the rat: a single and double retrograde fluorescent labeling study. *Brain Structure & Function*, *217*(2), 191-209. doi: 10.1007/s00429-011-0345-6
- Jinks, A. L., & McGregor, I. S. (1997). Modulation of anxiety-related behaviours following lesions of the prelimbic or infralimbic cortex in the rat. *Brain Research*, *772*(1-2), 181-190. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0006-8993\(97\)00810-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0006-8993(97)00810-X)
- Kesner, R. P. (2000). Subregional analysis of mnemonic functions of the prefrontal cortex in the rat. *28*, 219-228.
- Kosaki, Y., & Watanabe, S. (2012). Dissociable roles of the medial prefrontal cortex, the anterior cingulate cortex, and the hippocampus in behavioural flexibility revealed by serial reversal of three-choice discrimination in rats. *Behavioural Brain Research*, *227*(1), 81-90. doi: 10.1016/j.bbr.2011.10.039
- Krettek, J. E., & Price, J. L. (1977). The cortical projections of the mediodorsal nucleus and adjacent thalamic nuclei in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, *171*(2), 157-191. doi: 10.1002/cne.901710204
- Kublik, E., & Sara, S. J. Activity in medial frontal cortex during odour discrimination learning in the rat: Neuronal response to experimental cortex. *1*, 1-40.
- Kuipers, R., Mensinga, G. M., Boers, J., Klop, E. M., & Holstege, G. (2006). Infralimbic cortex projects to all parts of the pontine and medullary lateral tegmental field in cat. *European Journal of Neuroscience*, *23*(11), 3014-3024. doi: 10.1111/j.1460-9568.2006.04843.x
- Laidlaw, A. H., Browman, E. M., & Brown, V. J. (2004). Depletion of serotonin by ICV 5,7-DHT increases reaction time but not impulsivity in a cued reaction time task. *Journal of Psychopharmacology*, *18*(3), A32-A32.
- Laureiro-Martínez, D., Brusoni, E., & Zollo, M. (2009). Cognitive Flexibility in Decision Making a Neurological Model of Learning and Change. *CROMA - Center for Research in Organization and Management - Bocconi University* *1*, 1-43.
- Leshem, R., & Glicksohn, J. (2007). The construct of impulsivity revisited. *Personality and Individual Differences*, *43*(4), 681-691. doi: 10.1016/j.paid.2007.01.015
- Maroun, M., Kavushansky, A., Holmes, A., Wellman, C., & Motanis, H. (2012). Enhanced Extinction of Aversive Memories by High-Frequency Stimulation of the Rat Infralimbic Cortex. *Plos One*, *7*(5). doi: 10.1371/journal.pone.0035853
- Martin, M., & Rubin, R. (1995). A new measure of cognitive flexibility. *Psychological Reports*, *76*(623-6).
- Morgane, P. J., Galler, J. R., & Mokler, D. J. (2005). A review of systems and networks of the limbic forebrain/limbic midbrain. *Progress in Neurobiology*, *75*(2), 143-160. doi: 10.1016/j.pneurobio.2005.01.001

- Murphy, E., Dalley, J., & Robbins, T. (2005). Local glutamate receptor antagonism in the rat prefrontal cortex disrupts response inhibition in a visuospatial attentional task. *Psychopharmacology*, *179*(1), 99-107. doi: 10.1007/s00213-004-2068-3
- Nelson, A. J. D., Cooper, M. T., Thur, K. E., Marsden, C. A., & Cassaday, H. J. (2011). The Effect of Catecholaminergic Depletion Within the Prelimbic and Infralimbic Medial Prefrontal Cortex on Recognition Memory for Recency, Location, and Objects. *Behavioral Neuroscience*, *125*(3), 396-403. doi: 10.1037/a0023337
- Oualian, C., & Gisquet-Verrier, P. (2010). The differential involvement of the prelimbic and infralimbic cortices in response conflict affects behavioral flexibility in rats trained in a new automated strategy-switching task. *Learning & Memory*, *17*(12), 654-668.
- Passetti, F., Dalley, J., & Robbins, T. (2003). Double dissociation of serotonergic and dopaminergic mechanisms on attentional performance using a rodent five-choice reaction time task. *Psychopharmacology*, *165*(2), 136-145. doi: 10.1007/s00213-002-1227-7
- Puig, M. V., Celada, P., & Artigas, F. (2004). Control serotoninérgico de la corteza prefrontal. . *39*, 539-547.
- Quiroz-Padilla, M. F., Guillazo-Blanch, G., Vale-Martinez, A., Torras-Garcia, M., & Marti-Nicolovius, M. (2007). Effects of parafascicular excitotoxic lesions on two-way active avoidance and odor-discrimination. *Neurobiology of Learning and Memory*, *88*(2), 198-207. doi: 10.1016/j.nlm.2007.06.002
- Ragozzino, M. E. (2007). The contribution of the medial prefrontal cortex, orbitofrontal cortex, and dorsomedial striatum to behavioral flexibility. In G. Schoenbaum, J. A. Gottfried, E. A. Murray & S. J. Ramus (Eds.), *Linking Affect to Action: Critical Contributions of the Orbitofrontal Cortex* (Vol. 1121, pp. 355-375).
- Ragozzino, M. E., & Kesner, R. P. (1998). The effects of muscarinic cholinergic receptor blockade in the rat anterior cingulate and prelimbic/infralimbic cortices on spatial working memory. . *69*(3), 241-257.
- Ragozzino, M. E., Kim, J., Hassert, D., Minniti, N., & Kiang, C. (2003). The contribution of the rat prelimbic-infralimbic areas to different forms of task switching. *Behavioral Neuroscience*, *117*(5), 1054-1065. doi: 10.1037/0735-7044.117.5.1054
- Rhodes, S. E. V., & Killcross, A. S. (2007). Lesions of rat infralimbic cortex enhance renewal of extinguished appetitive Pavlovian responding. *European Journal of Neuroscience*, *25*(8), 2498-2503. doi: 10.1111/j.1460-9568.2007.05486.x
- Robinson, E. S. J., Dalley, J. W., Theobald, D. E. H., Glennon, J. C., Pezze, M. A., Murphy, E. R., & Robbins, T. W. (2008). Opposing roles for 5-HT(2A) and 5-HT(2C) receptors in the nucleus accumbens on inhibitory response control in the 5-choice serial reaction time task. *Neuropsychopharmacology*, *33*(10), 2398-2406. doi: 10.1038/sj.npp.1301636
- Rosenkranz, J. A., & Grace, A. A. (2002). Cellular mechanisms of infralimbic and prelimbic prefrontal cortical inhibition and dopaminergic modulation of basolateral amygdala neurons in vivo. *Journal of Neuroscience*, *22*(1), 324-337.
- Salazar, R. F., White, W., Lacroix, L., Feldon, J., & White, I. M. (2004). NMDA lesions in the medial prefrontal cortex impair the ability to inhibit responses during reversal of a simple spatial discrimination. *Behavioural Brain Research*, *152*(2), 413-424. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2003.10.034>
- Schoenbaum, G., Chiba, A. A., & Gallagher, M. (1999). Neural encoding in orbitofrontal cortex and basolateral amygdala during olfactory discrimination learning. . *19*(5), 1876-1884.
- Shaw, C. L., Watson, G. D. R., Hallock, H. L., Cline, K. M., & Griffin, A. L. (2013). The role of the medial prefrontal cortex in the acquisition, retention, and reversal of a tactile

- visuospatial conditional discrimination task. *Behavioural Brain Research*, 236(0), 94-101. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2012.08.024>
- Terreberry, R. R., & Neafsey, E. J. (1987). The rat medial frontal cortex projects directly to autonomic regions of the brainstem. *Brain Research Bulletin*, 19(6), 639-649. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0361-9230\(87\)90050-5](http://dx.doi.org/10.1016/0361-9230(87)90050-5)
- Torras-Garcia, M., Lelong, J., Tronel, S., & Sara, S. J. (2005). Reconsolidation after remembering an odor-reward association requires NMDA receptors. *Learning & Memory*, 12(1), 18-22. doi: 10.1101/lm.80905
- Tronel, S., Feenstra, M. G. P., & Sara, S. J. (2004). Noradrenergic action in prefrontal cortex in the late stage of memory consolidation. *Learning & Memory*, 11(4), 453-458. doi: 10.1101/lm.74504
- Tronel, S., Milekic, M. H., & Alberini, C. M. (2005). Linking new information to a reactivated memory requires consolidation and not reconsolidation mechanisms. *Plos Biology*, 3(9), 1630-1638. doi: 10.1371/journal.pbio.0030293
- Tronel, S., & Sara, S. J. (2002). Mapping of olfactory memory circuits: Region-specific c-fos activation after odor-reward associative learning or after its retrieval. *Learning & Memory*, 9(3), 105-111. doi: 10.1101/lm.47802
- Tronel, S., & Sara, S. J. (2003). Blockade of NMDA receptors in prelimbic cortex induces an enduring amnesia for odor-reward associative learning. *Journal of Neuroscience*, 23(13), 5472-5476.
- Tseng, K. Y., & O'Donnell, P. (2007). D-2 dopamine receptors recruit a GABA component for their attenuation of excitatory synaptic transmission in the adult rat prefrontal cortex. *Synapse*, 61(10), 843-850. doi: 10.1002/syn.20432
- Valdés, J. L., & Torrealba L, F. (2006). La corteza prefrontal medial controla el alerta conductual y vegetativo: Implicancias en desórdenes de la conducta. 44(3). 195-204.
- van Aerde, K. I., Heistek, T. S., & Mansvelder, H. D. (2008). Prelimbic and Infralimbic Prefrontal Cortex Interact during Fast Network Oscillations. *Plos One*, 3(7). doi: 10.1371/journal.pone.0002725
- Vazquez-Borsetti, P., Celada, P., Cortes, R., & Artigas, F. (2011). Simultaneous projections from prefrontal cortex to dopaminergic and serotonergic nuclei. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 14(3), 289-302. doi: 10.1017/s1461145710000349
- Vertes, R. P. (2006). Interactions among the medial prefrontal cortex, hippocampus and midline thalamus in emotional and cognitive processing in the rat. *Neuroscience*, 142(1), 1-20. doi: 10.1016/j.neuroscience.2006.06.027
- Villarejo-Rodríguez, I., Vale-Martínez, A., Guillazo-Blanch, G., & Martí-Nicolovius, M. (2010). d-Cycloserine in prelimbic cortex enhances relearning of an odor-reward associative task. *Behavioural Brain Research*, 213(1), 113-116. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2010.04.016>
- Winstanley, C. A., Eagle, D. M., & Robbins, T. W. (2006). Behavioral models of impulsivity in relation to ADHD: Translation between clinical and preclinical studies. *Clinical Psychology Review*, 26(4), 379-395. doi: 10.1016/j.cpr.2006.01.001