

Universidad de Buenos Aires

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Departamento de Fisiología, Biología Molecular y Celular

Bases neurales de la persistencia de memorias apetitivas y aversivas luego de la evocación

Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires en el área de Ciencias Biológicas

Lic. Santiago Abel Merlo

Director de tesis: Dra. María Eugenia Pedreira

Codirector de tesis: Dr. Mariano A. Belluscio

Consejero de estudios: Dr. Arturo G. Romano

Lugar de trabajo: Instituto de Fisiología, Biología Molecular y Neurociencias (IFIByNE) - CONICET-UBA.

Ciudad Autónoma de Buenos Aires, junio de 2025

Índice

Resumen **5**
Abstract **7**
Agradecimientos **9**
Abreviaturas **10**
Introducción **11**
I.1. Introducción general 11
I.2. Relevancia y significancia de este trabajo 12
I.3. Memoria 12
I.3.1. Memorias emocionales y su relevancia adaptativa 12
I.3.2. Evocación, reconsolidación y extinción de memorias emocionales 15
I.3.3. Condicionamiento clásico como modelo experimental 16
I.4. Circuitos neurales implicados en la codificación, evocación y extinción de memorias emocionales 17
I.4.1. Memorias emocionales en el cerebro 17
I.4.2. Rol de la amígdala basolateral en la codificación emocional 18
I.4.3. Rol de la corteza prefrontal medial en la codificación emocional 19
I.5. Dinámica oscilatoria y sincronización interregional 20
I.5.1. Oscilaciones en el cerebro 20
I.5.2. Dinámica oscilatoria y sincronización interregional en las memorias emocionales 21
I.5.3. La respiración como modulador de la actividad oscilatoria en el cerebro 23
I.6. Codificación neuronal en la BLA 24
I.6.1. Arquitectura y poblaciones neuronales de la BLA 24
I.6.2. Codificación multidimensional en la BLA 25
I.6.3. Acoplamiento de la actividad neuronal en la BLA a los ritmos oscilatorios de la red 26
I.7. Estado actual del campo y desafíos emergentes 27
Hipótesis y objetivos **29**
Materiales y métodos **31**
M.1. Animales 31
M.2. Comportamiento 33
M.2.1. Condicionamiento apetitivo 33
M.2.2. Condicionamiento aversivo 36
M.3. Cuantificación y análisis del comportamiento 37
M.3.1. Respuesta condicionada, memoria y discriminación 37
M.3.2. Aceleración y detección del *freezing* o movimiento 38
M.3.3. Registros de video y detección del *freezing* 40

M.3.4. Detección automática de eventos 40
M.4. Sistema de automatización y control con Arduino 41
M.5. Electrodos de registro 42
M.6. Cirugías e implantación de electrodos 44
M.7. Adquisición de las señales electrofisiológicas 45
M.8. Análisis del potencial de campo local (LFP) 46
M.8.1. Preprocesamiento de la señal y análisis espectral 46
M.8.2. Clasificación de eventos *freezing* 4-Hz y *freezing* theta 48
M.8.3. Sincronización entre estructuras 48
M.8.4. Acoplamiento de fase-amplitud 50
M.9. Análisis de la actividad neuronal 51
M.9.1. Aislamiento y clasificación de las unidades 51
M.9.2. Análisis de la respuesta neuronal a eventos 53
M.9.3. Acople de la actividad neuronal a los ritmos oscilatorios 53
M.10. Detección del ritmo respiratorio 54
M.11. Análisis estadístico 54
M.12. Histología 55
Resultados 57
R.1. Condicionamiento aversivo: caracterización conductual de la memoria asociativa de miedo 57
R.1.1. Evolución de la memoria aversiva durante el protocolo 57
R.1.2. Dinámica temporal de la conducta y evolución de la respuesta de miedo 59
R.1.3. Diferencias interindividuales en la dinámica de expresión o inhibición de la memoria aversiva 60
R.2. Dinámica oscilatoria y neuronal en el paradigma aversivo 63
R.2.1. Dinámica oscilatoria durante la presentación de los tonos CS+ y CS- 63
R.2.2. Dinámica oscilatoria durante los distintos estados comportamentales 70
R.2.3. Patrones oscilatorios durante la expresión o extinción del miedo explicados por dos tipos de *freezing* 76
R.2.4. Dinámica de la interacción entre la BLA y la mPFC durante la evocación y extinción del miedo 80
R.2.5. Modulación fase-amplitud intraregional en la BLA y la mPFC durante la expresión y extinción del miedo 85
R.2.6. Variaciones en el ritmo respiratorio asociadas a los distintos estados comportamentales 88
R.2.7. Codificación neuronal en la BLA de la dinámica de evocación y extinción del miedo 89
R.3. Condicionamiento apetitivo: caracterización conductual de la memoria asociativa apetitiva 99

R.3.1. Adquisición, evocación y extinción de la memoria apetitiva 99
R.3.2. Dinámica temporal de la conducta y evolución de la expectativa 102
R.3.3. Diferencias interindividuales en la dinámica de expresión o inhibición de la memoria apetitiva 103
R.4. Dinámica oscilatoria y neuronal en el paradigma apetitivo 106
R.4.1. Dinámica oscilatoria durante la evocación y extinción de memorias apetitivas 106
R.4.2. Dinámica de la interacción entre la BLA y la mPFC durante la evocación y extinción de la memoria apetitiva 121
R.4.3. Modulación fase-amplitud intraregional en la BLA y la mPFC durante la evocación y extinción de la memoria apetitiva 126
R.4.4. Variaciones en el ritmo respiratorio durante los eventos de entrada al puerto 128
R.4.5. Codificación neuronal en la BLA de la dinámica de evocación y extinción de la memoria apetitiva 129
Discusión 136
Bibliografía 150

Resumen

Título: “Bases neurales de la persistencia de memorias apetitivas y aversivas luego de la evocación”

Nuestras decisiones están guiadas por memorias con valor emocional, que nos permiten evitar situaciones potencialmente peligrosas y buscar aquellas asociadas a experiencias recompensantes. Esta capacidad adaptativa, sin embargo, puede volverse maladaptativa cuando las memorias persisten de forma inflexible o se reactivan en contextos inapropiados, contribuyendo al desarrollo de trastornos como el estrés postraumático o la adicción. Comprender cómo se codifican, evocan y extinguen estas memorias es fundamental para entender tanto el funcionamiento del cerebro sano como su desregulación en contextos patológicos. Esta tesis busca entender cómo se reorganiza la actividad oscilatoria y neuronal en los circuitos cortico-límbicos durante la evocación y extinción de memorias emocionales, evaluando especialmente el papel de la amígdala basolateral (BLA) y la corteza prefrontal medial (mPFC), incluyendo el análisis diferencial de sus subregiones prelímbica (PL) e infralímbica (IL). Utilizando paradigmas de condicionamiento clásico aversivo y apetitivo en ratas, se buscó caracterizar la dinámica de distintos ritmos oscilatorios y los patrones de actividad neuronal asociados a la expresión e inhibición de memorias emocionales, bajo la hipótesis de que estos procesos se sustentan en una reorganización flexible de la red BLA-mPFC que varía sistemáticamente en función de la valencia de la memoria, el estado conductual del animal y la especialización funcional de las regiones PL e IL.

Para ello, se realizaron registros electrofisiológicos de potenciales de campo local (LFP) en la BLA, el PL y el IL, y registros de actividad neuronal en la BLA. En el paradigma aversivo, se observó que la evocación del miedo se manifestó durante episodios de *freezing* con un aumento de la potencia oscilatoria en 4-Hz, beta y gamma lento, mientras que la extinción se asoció con un incremento en theta y gamma rápido, en paralelo con una reducción del *freezing* y un aumento del movimiento. Además, se identificaron dos formas de *freezing* con perfiles oscilatorios diferenciados (enriquecidos en 4-Hz o en theta), lo que sugiere que una misma conducta puede reflejar estados cerebrales funcionalmente distintos que se expresan diferencialmente en contextos de miedo y seguridad. En el paradigma apetitivo, se identificó una organización oscilatoria análoga, caracterizada por el predominio de oscilaciones de 4-Hz, beta y gamma lento durante el consumo de la recompensa. En contraste, durante estados de expectativa frente a la omisión de la recompensa, se observó un aumento de la actividad en gamma rápido acompañado de una disminución en las demás bandas. Diferentes análisis de la relación entre la actividad de la BLA y el PL e IL mostraron una reorganización funcional en ambos paradigmas a lo largo del proceso de extinción, con cambios en la direccionalidad del flujo de información entre regiones. Por último, las neuronas de la BLA codificaron los eventos relevantes en ambos paradigmas, y reorganizaron su selectividad y acoplamiento a los ritmos oscilatorios corticales a lo largo de la extinción, reflejando una actualización dinámica del valor emocional de estos eventos.

En conjunto, los resultados revelan una arquitectura funcional común organizada en torno a múltiples ritmos que actúan como canales paralelos de codificación. Estos ritmos se expresan y coordinan de manera flexible según la valencia emocional, el estado comportamental y la expresión de la memoria. A lo largo de la evocación y extinción de la memoria, la red BLA-mPFC alterna entre dos perfiles oscilatorios predominantes: un perfil 4 Hz/beta/gamma lento y otro theta/gamma rápido. Dentro de esta red, el IL parece ejercer un control más preciso sobre la BLA, reforzando su rol en la extinción de la memoria, mientras que el PL mantiene una interacción sostenida con la BLA, contribuyendo a la expresión de la memoria. Esta reorganización dinámica entre la mPFC y la BLA constituye un mecanismo clave para modular la expresión de memorias emocionales en función de la experiencia.

Estos resultados contribuyen al entendimiento de los procesos neurales que sustentan la expresión e inhibición de memorias emocionales, y abren nuevas perspectivas para identificar marcadores funcionales y diseñar intervenciones terapéuticas en trastornos como el estrés postraumático, la ansiedad y las adicciones, donde estos mecanismos pueden encontrarse alterados.

Palabras clave: oscilaciones neuronales, amígdala basolateral, corteza prefrontal medial, memorias emocionales, condicionamiento del miedo, recompensa.

Abstract

Title: "Neural bases of the persistence of appetitive and aversive memories after retrieval"

Our decisions are guided by emotionally charged memories, which help us avoid potentially dangerous situations and seek out those associated with rewarding experiences. However, this adaptive capacity can become maladaptive when memories persist inflexibly or are reactivated in inappropriate contexts, contributing to the development of disorders such as post-traumatic stress or addiction. Understanding how these memories are encoded, retrieved, and extinguished is essential for grasping both healthy brain function and its dysregulation in pathological conditions. This thesis investigates how oscillatory and neuronal activity is reorganized within cortico-limbic circuits during the retrieval and extinction of emotional memories, focusing on the roles of the basolateral amygdala (BLA) and the medial prefrontal cortex (mPFC), with a particular emphasis on the differential contribution of its prelimbic (PL) and infralimbic (IL) subregions. Using appetitive and aversive classical conditioning paradigms in rats, we characterized the dynamics of specific oscillatory rhythms and neuronal firing patterns associated with the expression and inhibition of emotional memories. We hypothesized that these processes rely on a flexible reorganization of the BLA-mPFC network that systematically varies according to memory valence, behavioral state, and the functional specialization of PL and IL.

To test this, we performed local field potential (LFP) recordings in the BLA, PL, and IL, along with single-unit recordings in the BLA. In the aversive paradigm, fear retrieval occurred during freezing episodes accompanied by increased power in the 4-Hz, beta, and slow gamma bands, while extinction was associated with enhanced theta and fast gamma activity, along with reduced freezing and increased movement. Two distinct forms of freezing were identified, each with different oscillatory profiles (4-Hz- or theta-enriched), suggesting that a single behavior may reflect different brain states depending on emotional context. In the appetitive paradigm, we observed a similar oscillatory organization: 4-Hz, beta, and slow gamma rhythms dominated during reward consumption. In contrast, reward omission was marked by increased fast gamma and decreased activity in other bands. Functional analyses of BLA interactions with PL and IL revealed task- and phase-specific reorganizations, including shifts in the directionality of information flow between regions. Finally, BLA neurons encoded relevant events in both paradigms and dynamically updated their selectivity and coupling to cortical rhythms throughout extinction, reflecting changes in emotional value attribution.

Overall, the results reveal a shared functional architecture organized around multiple oscillatory rhythms acting as parallel coding channels. These rhythms are flexibly expressed and coordinated according to memory valence, behavioral state, and retrieval outcome. During memory retrieval and extinction, the BLA-mPFC network alternates between two dominant oscillatory modes: one comprising 4-Hz, beta, and slow gamma, and the other characterized by theta and fast gamma. Within this network, IL appears to exert more precise control over BLA activity, reinforcing its role in memory extinction, whereas PL maintains a sustained interaction with the BLA that supports memory expression. This dynamic reorganization between the mPFC and the BLA emerges as a key mechanism for flexibly modulating emotional memory expression based on experience.

These findings advance our understanding of the neural processes underlying emotional memory expression and inhibition and offer new perspectives for identifying functional biomarkers and developing therapeutic interventions in conditions such as PTSD, anxiety, and addiction, where these mechanisms may be disrupted.

Keywords: neural oscillations, basolateral amygdala, medial prefrontal cortex, emotional memory, fear conditioning, reward.

Agradecimientos

El verdadero héroe detrás de esta tesis es un héroe colectivo, un grupo humano. Esas personas que me acompañaron en el recorrido. Porque hacer un doctorado no es un viaje solitario: es un proceso largo y desafiante, pero también hermoso, lleno de momentos de entusiasmo, de dudas, de aprendizajes, de cansancio y de alegría. Y en ese trayecto, uno descubre que necesita del apoyo, la paciencia, la palabra, el abrazo y la compañía de quienes caminan al lado.

Esta tesis no es sólo el resultado de años de trabajo, de esfuerzo silencioso o de sacrificios personales. Es también el reflejo del acompañamiento constante de familiares, amigos, compañeros, colegas y mentores; de todos aquellos que, en mayor o menor medida, hicieron que esto fuera posible.

De corazón, mis agradecimientos a todos ellos:

A Eugenia, por haberme abierto las puertas del laboratorio cuando todo era nuevo para mí, y por haber sembrado las primeras semillas de este camino. Fuiste una mentora que marcó profundamente mi formación a lo largo de estos años, una guía generosa y cercana que siempre estuvo presente, y que dio forma a una etapa que voy a recordar siempre.

A Mariano, por haber sido un mentor fundamental en estos últimos años de mi formación. Me enseñaste muchísimo: me diste herramientas para crecer, para ser independiente, para pensar de forma crítica. Tu pasión por la ciencia y tu impulso genuino de apostar a la formación de personas dejaron en mí una impronta que voy a llevar siempre.

A Emiliano, por haber sido parte de mis primeros pasos como investigador y por apostar en mí y en este proyecto desde el inicio. Me enseñaste a pensar y a escribir ciencia, y estuviste siempre dispuesto a discutir ideas, corregir manuscritos y acompañar cada etapa de este trabajo con entusiasmo y compromiso. Estuviste presente en cada instancia en la que te necesité, y fuiste una referencia constante, tanto en lo académico como en lo humano.

A mis compañeros y amigos del laboratorio, del IFIBYNE y del IFIBIO, por su ayuda, por su disposición, por las palabras oportunas, por hacer que cada día en el laboratorio fuera más ameno. Gracias por los momentos compartidos, por la diversión dentro y fuera del trabajo, por las charlas, las comidas ricas, y la compañía que hicieron de estos años un camino más liviano y divertido. En especial a Azul y a Marcos, que dieron mucho de su tiempo y fueron generosos conmigo de manera desinteresada, enseñándome y acompañándome siempre que lo necesité. Guardo un profundo agradecimiento por todo lo que compartimos.

A mi familia y a mis amigos de la vida, por acompañarme también en este camino, por celebrar cada logro, por sostenerme en los malos momentos y por regalarme siempre su amor incondicional. Ustedes fueron quienes me formaron desde el principio, quienes me enseñaron, y siguen enseñándome, a ser mejor persona cada día. De alguna manera, este logro también es de ustedes, porque es el reflejo de todo lo que aprendí, viví y compartí a su lado.

Por último, a la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y a la Universidad de Buenos Aires. A todas esas personas que, día a día, construyen un espacio de formación, de exigencia, de libertad y de excelencia. Agradezco de corazón a todos los docentes que me formaron, y también a aquellos que dejaron su huella en esta casa, por dar siempre más de lo que deben, por sostener una universidad pública de prestigio. Me siento profundamente orgulloso de haberme formado en la UBA, y llevaré siempre ese orgullo como bandera.

Abreviaturas

BLA: Amígdala basolateral

CCG: Cross-correlograma

CeA: Amígdala central

CR: Respuesta condicionada

CS-: Estímulo condicionado negativo

CS+: Estímulo condicionado positivo

EO: Epitelio olfatorio

FR: Tasa de disparo

GLMM: Modelo lineal mixto generalizado

HPC: Hipocampo

IL: Corteza infralímbica

LFP: Potencial de campo local

MAD: Desviación absoluta de la mediana

mPFC: Corteza prefrontal medial

NAc: Núcleo accumbens

PAC: Acoplamiento fase-amplitud

PL: Corteza prelímbica

PLV: Valor del acople de fase

Pre: Período previo al estímulo

PSD: Densidad espectral de potencia

SEM: Error estándar de la media

SNR: Relación señal-ruido

TEPT: Trastorno por estrés postraumático

UR: Respuesta incondicionada

US: Estímulo incondicionado

vHPC: Hipocampo ventral

vStr: Estriado ventral

β: Banda frecuencial de beta

γf: Banda frecuencial de gamma rápido

γs: Banda frecuencial de gamma lento

θ: Banda frecuencial de theta

Introducción

I.1. Introducción general

Desde los inicios de la neurobiología y la psicología experimental, gran parte de la investigación se centró en el estudio del comportamiento humano y animal, lo que sentó las bases para una de las preguntas fundamentales de la neurociencia: ¿cómo aprenden los organismos a partir de su entorno y de qué manera influyen las experiencias pasadas en su conducta futura? Este interrogante ha dado lugar al estudio sistemático de la memoria, entendida no como un simple archivo del pasado, sino como un proceso activo mediante el cual el sistema nervioso construye representaciones internas del mundo exterior y guía el comportamiento en función de ellas (O'Keefe y Nadel, 1978; Tulving et al., 1983; McGaugh, 2000; Miller y Cohen, 2001). En este contexto, las memorias emocionales, definidas como aquellas asociadas a experiencias con carga afectiva positiva o negativa (valencia emocional), han cobrado especial relevancia tanto por su papel adaptativo como por su implicación en múltiples trastornos psiquiátricos (LeDoux, 2000; McGaugh, 2004; Phelps y LeDoux, 2005; Rauch et al., 2006). En particular, cuando las personas tienen dificultades para inhibir sus respuestas ante estímulos que han dejado de ser amenazantes, pueden convertir comportamientos adaptativos en disfuncionales. Esta disfunción puede conducir a la aparición de trastornos psicológicos, incluidos los trastornos de ansiedad y el trastorno de estrés postraumático (Dymond et al., 2015). Los mecanismos conductuales asociados con este tipo de aprendizaje, desde el adaptativo hasta el disfuncional, han sido investigados utilizando paradigmas de condicionamiento de miedo en el laboratorio (condicionamiento pavloviano; Pavlov, 1927). El condicionamiento clásico o pavloviano se ha consolidado como una herramienta experimental fundamental para el estudio de este tipo de memorias, ya que permite modelar la formación de asociaciones entre estímulos ambientales y consecuencias relevantes (Rescorla y Wagner, 1972; Domjan, 2005). En particular, los paradigmas que involucran memorias aversivas, como las relacionadas con el miedo, y memorias apetitivas, como las asociadas a recompensas, ofrecen un enfoque robusto para estudiar cómo el cerebro codifica y almacena asociaciones con valor emocional (Everitt y Robbins, 2005; Kalivas y Volkow, 2005; Maren et al., 2013; Herry y Johansen, 2014).

Los avances recientes en técnicas de registro electrofisiológico en animales despiertos y comportándose libremente han ampliado significativamente las posibilidades de investigación y han permitido estudiar la dinámica cerebral subyacente a estos procesos (O'Keefe y Dostrovsky, 1971; Buzsáki, 2004; Deisseroth, 2014), lo que ha revelado la participación de múltiples regiones cerebrales, como la amígdala basolateral (BLA) y la corteza prefrontal medial (mPFC), cuya interacción resulta crítica para la evocación y extinción de memorias emocionales (Maren y Quirk, 2004; Luo et al., 2008; Quirk y Mueller, 2008; Karalis et al., 2016). El rol funcional de estas regiones también ha sido demostrado mediante estudios de ablación e inactivación farmacológica, que evidenciaron su participación tanto en la expresión como en la inhibición de estas memorias (Büchel et al., 1998; Maren, 2001; Milad et al., 2009; Pape y Paré, 2010). Desde una perspectiva electrofisiológica, se ha demostrado que la actividad cerebral está estructurada en forma de oscilaciones que reflejan el estado interno del organismo y facilitan la coordinación funcional entre regiones cerebrales distantes (Buzsáki y Draguhn, 2004; Fries, 2005). Estas oscilaciones se han asociado a funciones cognitivas de alto nivel, como la codificación, evocación y consolidación de memorias (Buzsáki y Draguhn, 2004), y particularmente la sincronización entre estructuras límbicas y corticales se la ha relacionado con la recuperación de memorias emocionales (Womelsdorf y Fries, 2007; Pape y Pare, 2010; Karalis et al., 2016; Clarke-Williams et al., 2024).

En este contexto, esta tesis propone contribuir al entendimiento de los mecanismos neurales subyacentes a las memorias emocionales mediante el uso de paradigmas de condicionamiento clásico y registros electrofisiológicos en ratas. El objetivo es avanzar en la caracterización de la dinámica oscilatoria y neuronal implicada en la evocación y extinción de dichas memorias, y sumar

nuevos aportes empíricos que permitan profundizar en la comprensión de los procesos mnésicos que dan forma a las respuestas conductuales emocionales.

I.2. Relevancia y significancia de este trabajo

Comprender los mecanismos neurales mediante los cuales los organismos aprenden a asociar estímulos del entorno con sus consecuencias aporta conocimientos esenciales en el campo de las neurociencias y tiene implicaciones significativas en el ámbito clínico. Este tipo de memorias involucra redes distribuidas en distintas regiones cerebrales, por lo que el estudio de la coordinación rítmica de dichas regiones y de la variación de su actividad neuronal durante la persistencia o la inhibición de estas memorias permite revelar los mecanismos fundamentales que sustentan respuestas adaptativas flexibles o, en su defecto, respuestas maladaptativas cuando fallan los procesos de regulación. Este enfoque tiene una gran relevancia para comprender una variedad de trastornos psiquiátricos y conductuales en los que la persistencia de memorias disfuncionales juega un papel central. Por ejemplo, la incapacidad para extinguir memorias aversivas es una característica central del trastorno de estrés postraumático (TEPT) y de los trastornos de ansiedad (Rothbaum y Davis, 2003; Milad y Quirk, 2012). Por otro lado, una respuesta exacerbada a estímulos asociados a recompensas es típica de las adicciones, la obesidad y los trastornos alimentarios (Kenny, 2011; Volkow y Baler, 2015; Berner et al., 2017). Estos cuadros clínicos comparten disfunciones en la comunicación entre la corteza prefrontal y la amígdala, incluidas alteraciones en el acoplamiento oscilatorio y déficits en el control descendente que la corteza debería ejercer sobre las estructuras subcorticales (Goldstein y Volkow, 2011; Russo y Nestler, 2013).

La sincronización entre diferentes regiones del cerebro permitiría que estas trabajen de forma conjunta y coordinada, al alinear sus patrones de excitabilidad en el tiempo (Fries, 2015; Womelsdorf y Fries, 2007). Identificar patrones específicos de frecuencia que indiquen la persistencia de memorias asociativas, en contraste con aquellos que predicen una extinción exitosa o la inhibición conductual, permitiría avanzar en modelos circuitales del aprendizaje con implicaciones clínicas para intervenir en estos procesos mediante neuromodulación o fármacos (Courtin et al., 2014). En resumen, esta tesis parte de un marco teórico que sustenta una aproximación experimental sólida para estudiar la evocación y extinción de las memorias emocionales, integrando métodos conductuales y electrofisiológicos. Más allá de su contribución al avance del conocimiento en neurociencia básica, al aportar herramientas conceptuales y metodológicas para futuras investigaciones, los resultados presentados poseen un gran potencial para el desarrollo de estrategias terapéuticas en el ámbito clínico, abriendo nuevas vías para el tratamiento de fobias, trastornos de estrés postraumático y trastornos alimenticios.

I.3. Memoria

I.3.1. Memorias emocionales y su relevancia adaptativa

¿Qué es la memoria?

La memoria es la capacidad de un sistema físico para incorporar información del pasado y utilizarla en el comportamiento futuro. En los organismos con sistema nervioso, se define como la capacidad para codificar, almacenar y recuperar información, con el objetivo final de utilizarla en el futuro para obtener una ventaja de supervivencia (James, 1884). Las memorias de las experiencias vividas se codifican en representaciones que implican cambios físicos y químicos en las neuronas y sus conexiones. Aunque la memoria parece ser una característica universal de los animales con sistema nervioso, no es un sistema único, sino que consiste en múltiples sistemas de memoria en el cerebro.

Estos sistemas están compuestos por diversas regiones cerebrales, formando redes neuronales distintas pero interconectadas, que permiten la codificación y recuperación de diferentes tipos de recuerdos (Squire, 2004). Los sistemas de memoria pueden clasificarse según varias propiedades, como el nivel anatómico, la escala temporal, el contenido y la función. Un avance significativo en la comprensión de los sistemas de memoria provino del estudio de H.M., un paciente que sufría de epilepsia severa, quien se sometió a una resección bilateral del área epileptogénica de su cerebro, específicamente los lóbulos temporales mediales (Scoville y Milner, 1957). Si bien esta cirugía trató con éxito su epilepsia, también le provocó una amnesia anterógrada severa, impidiéndole formar nuevos recuerdos a largo plazo que duraran más de unos pocos minutos. A pesar de esta limitación, H.M. mantuvo intactas sus habilidades perceptuales, motoras y algunas funciones cognitivas, como la atención y el aprendizaje procedimental. Por ejemplo, pudo adquirir nuevas habilidades como aprender a dibujar mirando su mano en un espejo, a pesar de no tener recuerdo de los intentos previos (Milner, 1962). Su caso proporcionó la primera evidencia experimental que respaldaba la existencia de sistemas de memoria distintos, procesados por áreas cerebrales separadas (Corkin, 2002; McDonald et al., 2017). En general, el estudio de H.M. y otros hallazgos en neurociencia han demostrado que la memoria no es una entidad única, sino un proceso dinámico que involucra múltiples sistemas y mecanismos distribuidos en diferentes regiones cerebrales. El lóbulo temporal medial desempeña un papel crucial en la codificación inicial y la retención a corto plazo de nuevos recuerdos, mientras que el almacenamiento a largo plazo y la recuperación dependen de una red más amplia de estructuras cerebrales. Estos conocimientos han transformado la comprensión moderna de cómo se estructura, procesa y conserva la memoria a lo largo del tiempo.

Tipos de memoria

La memoria puede clasificarse en memoria a corto y largo plazo. La memoria a corto plazo se refiere al almacenamiento transitorio de información, y puede considerarse una etapa inicial en la formación de memorias duraderas. La memoria a largo plazo, en cambio, se caracteriza por su capacidad para conservar información durante períodos prolongados, que pueden abarcar desde días hasta toda la vida. Más allá de la duración, una clasificación más clásica de los tipos de memoria fue proporcionada por Squire y Zola-Morgan (**Fig. 1**; Zola-Morgan y Squire 1991, ver también Squire y Wixted, 2011 para una revisión más reciente). La principal subdivisión de los sistemas de memoria se basa en si los recuerdos pueden recuperarse de manera consciente (memorias explícitas) o no (memorias implícitas). Las memorias explícitas se subdividen en episódica y semántica (Tulving, 1972). La memoria episódica es aquella de eventos autobiográficos en su contexto original y detallado; por ejemplo, recordar una experiencia peligrosa que ocurrió hace ocho años. La memoria semántica es el recuerdo de hechos, significados y conocimientos conceptuales, independientemente del contexto en el que se hayan aprendido; por ejemplo, recordar que los peces viven en el agua. Las memorias implícitas resultan de la experiencia y se expresan a través de la acción. Un subtipo de memoria implícita es la memoria procedural, que se refiere a hábitos o habilidades automáticas, como la memoria para habilidades motoras y perceptuales, como andar en bicicleta o leer. Otros subtipos de memoria implícita incluyen el *priming* (identificación perceptual de palabras y objetos), el aprendizaje no asociativo (habituación y sensibilización, que respectivamente disminuyen o amplifican una respuesta innata a estímulos que son repetidos con frecuencia) y el condicionamiento clásico u operante.

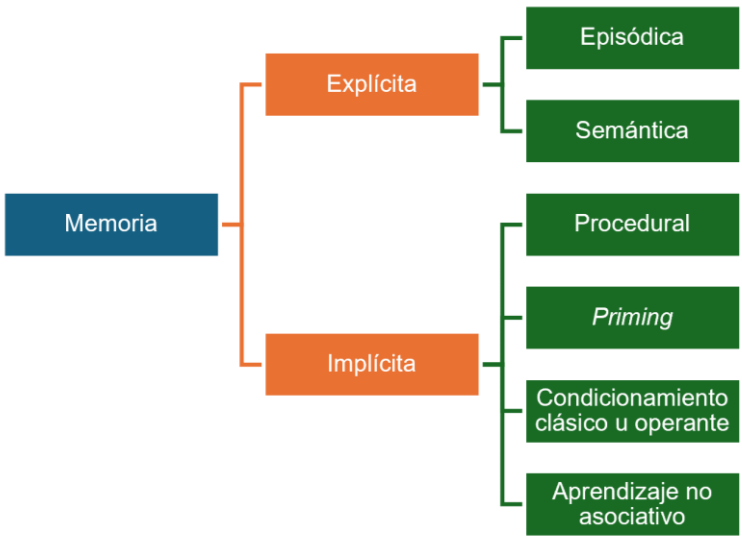


Figura 1. Sistemas de memoria. Clasificación clásica de los sistemas de memoria propuesta por Squire y Zola-Morgan (1991). Aunque es conceptualmente útil, su validez ha sido cuestionada, ya que los datos experimentales sugieren que estas categorías pueden superponerse.

Memorias emocionales

Las experiencias emocionales tienden a ser recordadas con mayor detalle y persistencia que aquellas sin valor afectivo. Esta propiedad, que distingue a las memorias emocionales de otros tipos de memorias, ha sido interpretada como una adaptación evolutiva que permite al organismo priorizar el recuerdo de eventos con consecuencias importantes para la supervivencia (LeDoux, 2000; Rolls, 2000; McGaugh, 2004). Las memorias emocionales se definen entonces como representaciones del pasado que están moduladas por el valor motivacional del evento, ya sea de naturaleza aversiva (amenaza/daño) o apetitiva (recompensa/beneficio). Estas memorias se codifican y consolidan a través de mecanismos que involucran activación de sistemas neuromodulatorios y estructuras límbicas especializadas, principalmente la BLA (Phelps y LeDoux, 2005). Desde una perspectiva funcional, la memoria emocional cumple un rol esencial en la regulación del comportamiento adaptativo, ya que recordar una experiencia aversiva permite evitarla en el futuro, mientras que recordar una experiencia recompensante facilita su búsqueda o repetición. En este sentido, la BLA actúa como una interfaz crítica entre los sistemas sensoriales, el hipocampo (HPC) y las regiones prefrontales, integrando información contextual y afectiva para asignar un valor emocional a los estímulos y favorecer su retención a largo plazo (Aggleton y Mishkin, 1986; McGaugh, 2004; Roozendaal et al., 2009; Yonelinas y Ritchey, 2015).

Si bien las memorias aversivas y apetitivas comparten mecanismos generales de adquisición asociativa y consolidación potenciada por la activación emocional, presentan diferencias relevantes en cuanto a su expresión conductual, circuitos reclutados y persistencia temporal. En el caso del miedo, la expresión conductual suele ser inmediata y estereotipada (*freezing*/evitación), y la red neural involucrada incluye a la BLA, el HPC y la corteza prefrontal medial (mPFC; Rauch et al., 2006). Estas memorias tienden a ser duraderas, difíciles de extinguir y fuertemente moduladas por el eje noradrenérgico-cortisol, lo que las hace especialmente resistentes a la modificación y relevantes en trastornos como el TEPT (Buchanan, 2007; Brewin, 2018). Las memorias asociadas a recompensas implican circuitos parcialmente solapados, pero con un peso mayor del sistema mesolímbico, en particular la interacción entre la BLA, el núcleo accumbens (NAc), el HPC, la mPFC y la corteza orbitofrontal (Berridge y Robinson, 2003; Kalivas y Volkow, 2005). Estas memorias presentan mayor flexibilidad conductual y están vinculadas a procesos como la motivación dirigida a objetivos, la

expectativa de recompensa y la toma de decisiones. A nivel neurofisiológico, la dopamina facilita la codificación y reconsolidación de ambos tipos de memorias, y su desregulación ha sido implicada en cuadros de adicción, alimentación compulsiva y desórdenes de impulsividad (Everitt y Robbins, 1992; Rolls, 2000; Sierra et al., 2023).

I.3.2. Evocación, reconsolidación y extinción de memorias emocionales

La adquisición y consolidación de memorias emocionales permiten que las experiencias con valor afectivo sean codificadas y almacenadas de manera duradera, formando la base para respuestas adaptativas futuras (Squire y Alvarez, 1995; McGaugh, 2000). La adquisición refiere al proceso mediante el cual se forma una nueva asociación entre un estímulo y su valor emocional (LeDoux, 2000; Maren, 2001), mientras que la consolidación involucra los mecanismos neurobiológicos que estabilizan y fortalecen esa memoria en el tiempo, haciéndola resistente al olvido o a la interferencia (Dudai y Morris, 2000; McGaugh, 2004). Una vez establecida la memoria, su expresión no es estática, sino que depende de procesos dinámicos que permiten su recuperación o inhibición en función del contexto. La evocación, la reconsolidación y la extinción constituyen procesos clave en la regulación de las memorias y en la adaptación conductual frente a entornos cambiantes. La evocación permite recuperar asociaciones previamente aprendidas y generar respuestas apropiadas ante estímulos significativos, reactivando la traza de memoria almacenada. Bajo ciertas condiciones, esta reactivación puede hacer que la memoria vuelva a un estado lábil y susceptible de modificación a través de un proceso conocido como reconsolidación, y que requiere cierta discrepancia entre lo esperado y lo ocurrido, conocida como error de predicción (Fernández et al., 2016). Por otro lado, la extinción implica la formación de una nueva memoria inhibitoria que reduce la expresión de la respuesta aprendida cuando el estímulo deja de predecir un evento significativo. Desde una perspectiva funcional, estos procesos aseguran que el organismo no solo pueda aprender de sus experiencias, sino también ajustar flexiblemente sus respuestas frente a nuevas condiciones, lo que resulta fundamental para la supervivencia y el equilibrio emocional (Quirk y Mueller, 2008; Vervliet et al., 2013).

En los modelos experimentales, la extinción se estudia comúnmente mediante paradigmas de condicionamiento clásico, un tipo de aprendizaje asociativo en el que un estímulo que provoca una respuesta natural (estímulo incondicionado, US), se empareja con un estímulo inicialmente neutro (estímulo condicionado, CS), para que este último adquiera la capacidad de evocar una respuesta por sí mismo (respuesta condicionada, CR). Una vez establecida la asociación entre el CS y el US, se induce la extinción al presentar repetidamente el CS en ausencia del US, lo que lleva a una disminución progresiva de la respuesta condicionada (CR) (Pavlov, 1927; Myers y Davis, 2007). Esta disminución se explica principalmente por la formación de una nueva memoria de extinción que compite con la memoria de condicionamiento (Bouton, 2004; Suzuki et al., 2004). El carácter inhibitorio y no destructivo de la extinción ha sido respaldado por múltiples fenómenos de recuperación de la respuesta que pueden observarse tras un entrenamiento exitoso de extinción. Entre ellos, se destacan la recuperación espontánea, la reinstalación y la renovación. La recuperación espontánea consiste en la reaparición de la CR con el simple paso del tiempo tras la extinción, lo que indica que la asociación original permanece latente y puede resurgir (Brooks y Bouton, 1993). La reinstalación ocurre cuando, después de la extinción, la presentación aislada del US provoca la reaparición de la CR al reexponer al animal al CS (Rescorla y Heth, 1975). Por su parte, la renovación se refiere al retorno de la respuesta condicionada cuando el CS se presenta en un contexto distinto al del entrenamiento de extinción. Estos fenómenos ponen de manifiesto que la expresión de la memoria de extinción es altamente dependiente del contexto, y que resulta más lábil y susceptible a la interferencia que la memoria original de condicionamiento.

Desde el punto de vista neurobiológico, se ha demostrado que la extinción involucra mecanismos de plasticidad activa en regiones como la mPFC (en particular, la región infralímbica), la BLA y el HPC (Quirk y Mueller, 2008; Herry et al., 2010). La formación de una memoria de extinción requiere la activación de receptores NMDA, la expresión génica y la síntesis proteica, y se ha observado que sus mecanismos moleculares y temporales son distintos de los involucrados en la reconsolidación de la memoria original (Suzuki et al., 2004; Inda et al., 2011). Además, estudios recientes sugieren que, bajo ciertas condiciones específicas, como la aplicación de un protocolo de extinción durante la ventana de reconsolidación, es posible debilitar de forma más permanente la memoria original, reduciendo la probabilidad de reaparición de la respuesta condicionada (Kindt et al., 2009; Monfils et al., 2009; Schiller et al., 2010). Desde una perspectiva traslacional, estos procesos son especialmente relevantes para el estudio de la persistencia y la flexibilidad de las memorias emocionales. La capacidad de una memoria de resistir o no a la extinción, o de recuperarse tras ella, proporciona información sobre su estabilidad y su potencial para ser modificada. En este sentido, la extinción ha sido propuesta como una herramienta experimental valiosa para evaluar la maleabilidad de las memorias emocionales tanto en modelos animales como en humanos (Cammarota et al., 2005; Vervliet et al., 2013). Además, entender la dinámica entre evocación y extinción resulta fundamental para el diseño de estrategias clínicas (por ejemplo, la terapia de exposición) para tratar memorias disfuncionales, como el trastorno de estrés postraumático, las fobias o la adicción (Quirk y Mueller, 2008; Milad y Quirk, 2012; Wechsler et al., 2019; McLean et al., 2022).

I.3.3. Condicionamiento clásico como modelo experimental

El condicionamiento clásico constituye una forma de aprendizaje asociativo (**Fig. 2**), donde un estímulo inicialmente neutro (estímulo condicionado, CS) adquiere la capacidad de evocar una respuesta condicionada (CR) tras ser repetidamente emparejado con un estímulo incondicionado (US) que naturalmente provoca una respuesta incondicionada (UR) que forma parte del repertorio comportamental del animal (Pavlov, 1927). El esquema básico del condicionamiento clásico ha sido ampliamente utilizado para investigar cómo los organismos aprenden a anticipar la aparición de eventos significativos y ajustar su comportamiento en consecuencia (Rescorla y Wagner, 1972; Domjan, 2005).

En estudios con roedores, este modelo ha sido implementado exitosamente tanto en versiones aversivas como apetitivas. En el caso del condicionamiento aversivo, se empareja un estímulo sensorial (como un tono) con un estímulo aversivo (como una descarga eléctrica), lo que da lugar a respuestas defensivas condicionadas como el *freezing* (Maren, 2001). Por el contrario, en los paradigmas apetitivos se utiliza un reforzador positivo, como la administración de una solución de sacarosa, y se evalúan respuestas anticipadas para la obtención de la recompensa (Weingarten, 1983; Fitzpatrick y Morrow, 2016). En ambos casos, el uso de un diseño discriminativo con estímulos CS+, que predicen la aparición del US, y estímulos CS-, que no se asocian con consecuencias relevantes, permite evaluar no solo la adquisición de la asociación, sino también su especificidad y la capacidad del animal para inhibir respuestas ante estímulos irrelevantes. Esta discriminación (CS+ vs. CS-) es especialmente útil para estudiar la dinámica de aprendizaje y extinción, así como para evaluar la flexibilidad de las memorias emocionales en función de su valencia y del contexto experimental (Rescorla, 1968; Knight et al., 2009). Cabe destacar que la presentación del CS+ no evoca la memoria per se, sino que aumenta la probabilidad de que esta se exprese; es decir, el momento de evocación se manifiesta cuando el animal ejecuta la respuesta condicionada. El paralelismo entre ambos tipos de memoria permite analizar con precisión los puntos de convergencia y divergencia en sus dinámicas comportamentales y neuronales, contribuyendo a una comprensión más integrada del aprendizaje emocional.

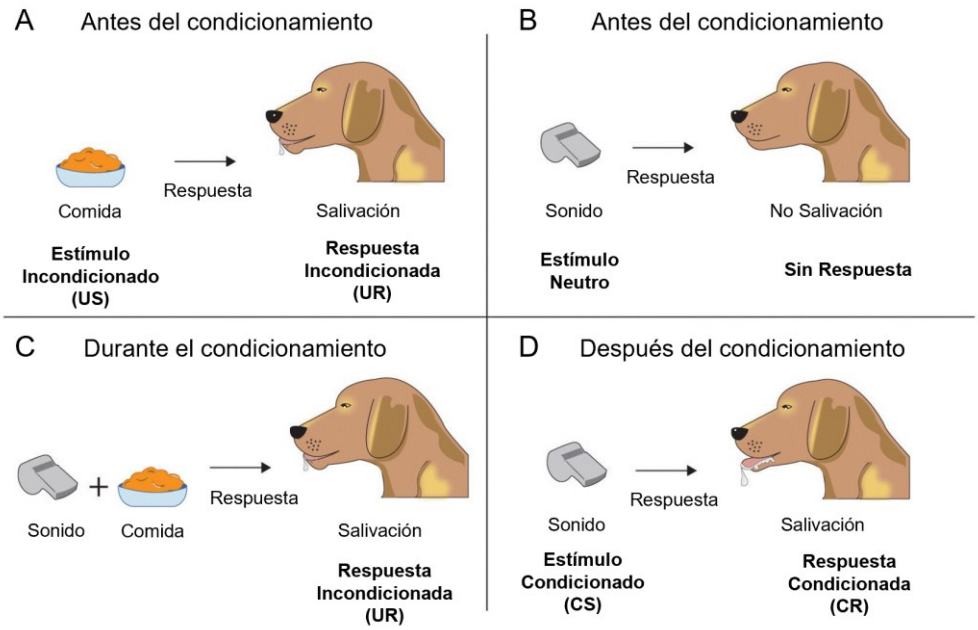


Figura 2. Esquema del paradigma de condicionamiento clásico apetitivo. A. Respuesta natural de salivación ante la presentación de un estímulo incondicionado (comida, US), que genera una respuesta incondicionada (UR). **B.** Estímulo inicialmente neutro (sonido de un silbato) que no provoca respuesta. **C.** Durante el condicionamiento, el estímulo neutro se presenta junto al estímulo incondicionado, generando una respuesta incondicionada. **D.** Tras varias presentaciones, el estímulo previamente neutro se transforma en un estímulo condicionado (CS), capaz de evocar por sí solo una respuesta condicionada (CR), en este caso la salivación.

I.4. Circuitos neurales implicados en la codificación, evocación y extinción de memorias emocionales

I.4.1. Memorias emocionales en el cerebro

Las memorias emocionales no se codifican en una única región cerebral, sino que emergen de la interacción dinámica entre múltiples estructuras corticales y subcorticales (Fig. 3). Esta red distribuida procesa de forma integrada la relevancia afectiva de los estímulos, el contexto en el que se presentan, su significado aprendido y las respuestas adaptativas que desencadenan. Muchas de las regiones incluidas en esta red se comunican de forma recíproca y flexible, permitiendo una codificación compleja que combina componentes sensoriales, viscerales, atencionales y procesos de memoria (Barrett y Satpute, 2013; Pessoa, 2017).

Entre las estructuras centrales se encuentra la BLA, que integra señales sensoriales con valor emocional y participa tanto en el aprendizaje aversivo como apetitivo, así como en la evocación y extinción de estas memorias. Su rol es clave para formar asociaciones y para modular la consolidación de memorias en otras regiones (McGaugh, 2004; Phelps y LeDoux, 2005). La amígdala central (CeA) actúa como nodo de salida, generando respuestas autonómicas y conductuales apropiadas ante estímulos condicionados (Dolcos et al., 2004). El HPC codifica información contextual y espacial relevante, y su interacción con la BLA resulta esencial para representar el entorno en el que ocurrió una experiencia emocional (LaBar y Cabeza, 2006). La mPFC también desempeña un papel crucial. Su subdivisión prelímbica (PL) se ha vinculado con la expresión de memorias de miedo, mientras que la infralímbica (IL) interviene en la inhibición de estas respuestas, facilitando la consolidación de la memoria de extinción (Rauch et al., 2006). Otras regiones corticales

relevantes son la corteza orbitofrontal (OFC), que codifica el valor afectivo de los estímulos y se ajusta a cambios en las contingencias; la corteza cingulada anterior (ACC), implicada en la evaluación emocional y el control atencional; y la ínsula anterior, que procesa estados corporales interoceptivos y contribuye a la percepción consciente de emociones (Barrett y Satpute, 2013; Pessoa, 2017). Además, estructuras subcorticales como el área tegmental ventral (VTA) y el núcleo accumbens (NAc) forman parte del circuito de recompensa. En este, la VTA libera dopamina en respuesta a estímulos apetitivos, y esta señal dopaminérgica actúa sobre regiones como el NAc, reforzando la codificación de memorias motivacionales. De forma complementaria, la habénula lateral (LHb) cumple un rol modulador crítico en situaciones de valencia negativa o de omisión de recompensa, ya que inhibe la actividad dopaminérgica de la VTA y activa proyecciones serotoninérgicas del rafe, lo que contribuye a codificar estados de frustración, castigo o expectativa negativa (Hikosaka, 2010; Li et al., 2011). Por último, el tálamo (TH) actúa como un centro de retransmisión sensorial, enviando información rápida a la BLA para respuestas emocionales inmediatas.

Este conjunto de regiones conforma una red funcional distribuida, altamente interconectada, que sustenta la codificación y expresión de memorias emocionales. La visión contemporánea abandona la idea de módulos emocionales rígidos y propone en cambio un sistema dinámico en el que cada región aporta un componente distinto del procesamiento emocional, desde la evaluación afectiva inicial hasta la regulación conductual y la consolidación de la experiencia (Dolcos et al., 2004; LaBar y Cabeza, 2006; Pessoa, 2017).

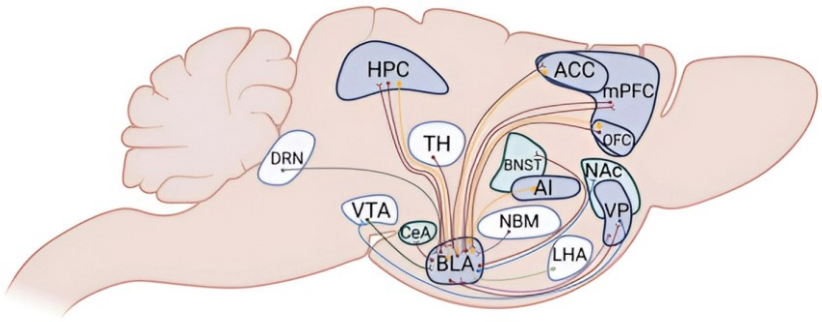


Figura 3. Red distribuida de regiones cerebrales involucradas en la codificación y expresión de memorias emocionales. Esquema de las principales estructuras corticales y subcorticales que interactúan funcionalmente con la amígdala basolateral (BLA), representando proyecciones aferentes, eferentes y recíprocas. HPC (hipocampo), ACC (corteza cingulada anterior), mPFC (corteza prefrontal medial), OFC (corteza orbitofrontal), NAc (núcleo accumbens), VP (pálido ventral), LHA (área hipotalámica lateral), NBM (núcleo basal de Meynert), AI (ínsula anterior), BNST (lecho de la estría terminal), TH (tálamo), DRN (núcleo del rafe dorsal), VTA (área tegmental ventral), y CeA (amígdala central). Regiones que proyectan hacia la BLA (en gris claro); regiones que reciben proyecciones desde la BLA (en verde); regiones con proyecciones recíprocas (en violeta). Adaptado de Ma et al., 2024.

I.4.2. Rol de la amígdala basolateral en la codificación emocional

La BLA es una estructura clave para la formación, consolidación y expresión de memorias emocionales tanto aversivas como apetitivas. Diversos estudios de lesión e inactivación farmacológica han demostrado su papel clave en la codificación de asociaciones emocionales. En paradigmas de condicionamiento del miedo, se ha demostrado que lesiones de la BLA previas al entrenamiento impiden la formación de la memoria emocional, mientras que lesiones posteriores al entrenamiento afectan su expresión conductual (Büchel et al., 1998; Maren, 2001; Pape y Paré, 2010). Estudios de inactivación farmacológica aguda han demostrado que la inhibición transitoria de

la BLA, mediante agonistas GABAérgicos como muscimol, bloquea la adquisición del miedo condicionado si se aplica antes del entrenamiento, pero no afecta la expresión si se aplica luego del mismo (Sehlmeyer et al., 2009; Agren et al., 2012). La participación de la BLA también se ha demostrado en tareas de miedo contextual, donde esta estructura es crítica para asociar estímulos complejos y multimodales con consecuencias aversivas (Sacchetti et al., 1999; Kalisch et al., 2006). En las memorias apetitivas, la función de la BLA parece más especializada. Esta región resulta esencial cuando la tarea requiere el uso de representaciones específicas del valor o tipo de recompensa para guiar la conducta (Baxter y Murray, 2002; Balleine et al., 2003). Por ejemplo, animales con lesiones en la BLA no ajustan su conducta ante la devaluación de una recompensa previamente aprendida, lo que indica que la BLA contribuye a la actualización del valor esperado (Pickens et al., 2003; Murray y Izquierdo, 2007). Del mismo modo, estudios de aprendizaje instrumental han mostrado que la BLA es necesaria para que se puedan modular selectivamente acciones instrumentales asociadas a una recompensa específica (Blundell et al., 2001; Ostlund y Balleine, 2008). Así, la BLA no solo participa en la codificación emocional básica, sino que actúa como un nodo integrador que permite representar y actualizar el valor emocional y motivacional de los estímulos, contribuyendo así a la flexibilidad adaptativa del comportamiento emocional.

I.4.3. Rol de la corteza prefrontal medial en la codificación emocional

La mPFC forma parte de la red cerebral encargada de la codificación y regulación de memorias emocionales. Sus dos subregiones principales (**Fig. 4**), la corteza prelímbica (PL) y la corteza infralímbica (IL), cumplen roles funcionales diferenciados con una organización jerárquica y complementaria del procesamiento emocional. El PL ha sido relacionado de forma consistente con la expresión de memorias de miedo; su inactivación reduce el *freezing*, sin afectar la adquisición o consolidación de la extinción, y su activación promueve respuestas defensivas aprendidas (Duvarci et al., 2011; Duvarci y Pare, 2014). En contraste, el IL interviene de manera crítica en la consolidación de la memoria de extinción: su activación facilita la supresión de respuestas condicionadas, mientras que su lesión o inactivación impide la consolidación efectiva de esta nueva memoria (Milad et al., 2009; Li et al., 2013). Estudios recientes han demostrado que el IL regula activamente al PL mediante proyecciones inhibitorias, ajustando su nivel de excitabilidad y favoreciendo la transición hacia un estado comportamental de inhibición emocional (Ma et al., 2024). Esta relación funcional permite que ambas regiones operen como un eje bidireccional capaz de promover la expresión o la supresión del miedo, en función de las demandas del entorno. Esta dinámica se ve también modulada por su interacción con otras estructuras límbicas clave, como la BLA y el hipocampo ventral (vHPC), mediante proyecciones recíprocas (**Fig. 4**; Sierra-Mercado et al., 2011; Burgos-Robles et al., 2017).

Desde una perspectiva del circuito, se ha demostrado que distintas poblaciones de neuronas en la BLA participan selectivamente en la codificación de memorias emocionales con valencia opuesta. Las neuronas de la BLA que forman parte del circuito del miedo, suelen proyectar hacia el PL, mientras que las que se activan durante la extinción del miedo, proyectan principalmente hacia el IL (**Fig. 4**; Herry et al., 2008; Senn et al., 2014; McGarry et al., 2017). Este patrón sugiere un sistema organizado jerárquicamente en el que la BLA coordina, a través de proyecciones específicas, la expresión o inhibición del miedo condicionado según el estado de aprendizaje. En contextos apetitivos, la mPFC también juega un papel relevante, aunque menos estudiado. Algunos autores sugieren, por ejemplo, que el IL participa en la inhibición de impulsos o en la reevaluación del valor del estímulo cuando la recompensa ya no está disponible, además de participar en la consolidación de hábitos y en tareas que implican una motivación positiva (Burgos-Robles et al., 2017). En conjunto, esta flexibilidad funcional permite que la mPFC adapte la conducta del animal según el valor motivacional de los estímulos, ya sea para aproximarse a una recompensa o para evitar un castigo, integrando así la valencia, la información contextual y la experiencia previa.

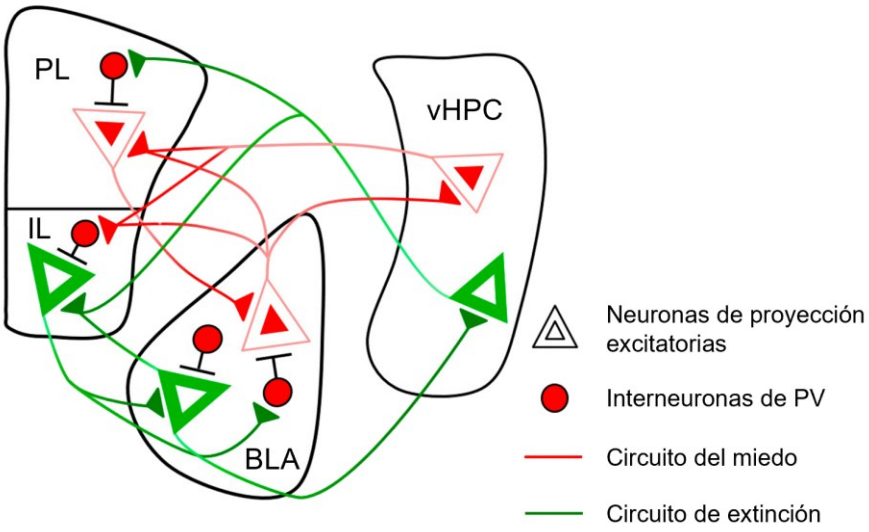


Figura 4. Circuitos implicados en la expresión del miedo condicionado y su extinción. Esquema de las conexiones funcionales entre las subregiones prelimbica (PL) o infralímbica (IL) de la corteza prefrontal medial, la amígdala basolateral (BLA) y el hipocampo ventral (vHPC). Los triángulos representan neuronas de proyección excitatorias y los círculos rojos indican interneuronas de parvalbúmina (PV). Las líneas rojas muestran conexiones incluidas en el circuito del miedo y las verdes en el circuito de extinción del miedo. Las terminaciones de esas conexiones indican excitación (triángulos) o inhibición (líneas).

I.5. Dinámica oscilatoria y sincronización interregional

I.5.1. Oscilaciones en el cerebro

Las oscilaciones cerebrales son patrones rítmicos de actividad eléctrica generados por poblaciones neuronales y detectados extracelularmente como potenciales de campo local (LFP) (Buzsáki et al., 2012). Estas no reflejan la actividad aislada de una o pocas neuronas, sino la sincronización coordinada de corrientes transmembrana en poblaciones neuronales (Einevoll et al., 2013). Se expresan en distintas frecuencias, y su presencia puede ser sostenida en el tiempo o transitoria, según el estado cerebral (Buzsáki y Draguhn, 2004; Wang, 2010). Las oscilaciones reflejan dinámicas de sincronización poblacional que facilitan la comunicación entre regiones cerebrales, por lo que su estudio permite inferir principios de organización funcional (Fries, 2005). Estas propiedades emergen de la dinámica colectiva de las redes neuronales, donde la interacción sináptica, a través de potenciales postsinápticos, potenciales de acción y corrientes subumbrales, genera flujos iónicos sincronizados que se suman en el espacio extracelular (Buzsáki et al., 2012; Einevoll et al., 2013). La forma y magnitud de estas señales dependen críticamente de la geometría de las neuronas, como la orientación de las dendritas, la distribución de las aferencias sinápticas y del nivel de sincronización poblacional (Pettersen et al., 2006; Lindén et al., 2011). Además, el equilibrio dinámico entre excitación e inhibición local regula tanto la expresión como la estabilidad de estos patrones rítmicos (Okun y Lampl, 2008; Isaacson y Scanziani, 2011).

Las oscilaciones neuronales cumplen funciones organizativas esenciales en el procesamiento cerebral. Al sincronizar la actividad de regiones distantes, facilitan la comunicación interregional eficiente (Fries, 2005; Buzsáki, 2006; Sirota et al., 2008). Estas oscilaciones actúan como marcos temporales que modulan la excitabilidad neuronal, definiendo cuándo una neurona es más propensa a disparar (Canolty y Knight, 2010; Wang, 2010). Asimismo, permiten segmentar la información en unidades temporales discretas, como se propone en el modelo de codificación de theta-gamma en

el hipocampo, que permite representar el orden secuencial de eventos durante la formación y recuperación de memorias (Lisman, 2005; Lisman y Jensen, 2013). Además, las oscilaciones también interactúan entre sí a través de mecanismos de modulación, en el que la fase de una oscilación lenta modula la amplitud de una oscilación más rápida. Esta jerarquía rítmica, es un paso más en la segmentación temporal, permitiendo vincular procesos globales, como el control atencional, con dinámicas locales como la codificación sináptica (Jensen y Colgin, 2007; Canolty y Knight, 2010; Hyafil et al., 2015). A través de este acoplamiento, las oscilaciones lentas organizan la excitabilidad neuronal en marcos temporales precisos, regulando cómo y cuándo fluye la información entre regiones (Buzsáki, 2006; Belluscio et al., 2012). Distintas bandas de frecuencia se han asociado con estados afectivos y conductuales específicos; por ejemplo, la actividad theta (rango amplio de 4-12Hz) con el estrés y la memoria de miedo, y el gamma con el estado de alerta y la codificación de experiencias emocionales (Newson y Thiagarajan, 2019; Figueira et al., 2020; Okonogi y Sasaki, 2021). Así, el estudio de las oscilaciones neuronales permite entender cómo se representan, evocan o inhiben memorias de contenido emocional, al coordinar la actividad entre regiones clave como la BLA y la mPFC (Headley y Paré, 2013; Totty y Maren, 2022).

I.5.2. Dinámica oscilatoria y sincronización interregional en las memorias emocionales

La codificación, evocación y extinción de memorias emocionales se sustentan en la interacción dinámica entre múltiples regiones cerebrales, coordinadas a través de oscilaciones neuronales en distintas bandas de frecuencia. En particular, la BLA y la mPFC, incluyendo sus subregiones PL e IL, conforman una red funcional clave cuya actividad oscilatoria varía sistemáticamente según la valencia del estímulo, el estado conductual del animal y la expresión de la memoria.

Durante la evocación de la memoria de miedo ante la presentación del CS+ (**Fig. 5A**), se ha observado un patrón oscilatorio distintivo caracterizado por una sincronización en la banda de theta bajo (4-8 Hz) entre la mPFC y la BLA, acompañado de episodios de gamma rápido (70-120 Hz) de baja potencia, pero fuertemente acoplados a la fase de theta bajo (Stujenske et al., 2014). Esta sincronización oscilatoria se ha interpretado como un marcador del procesamiento de una situación amenazante (Seidenbecher et al., 2003; Likhtik et al., 2014). Durante los episodios de *freezing* (**Fig. 5B**), se ha identificado una oscilación en una banda de frecuencia cercana a los 4-Hz (2-6 Hz), que aparece de manera sincrónica en la mPFC y la BLA (Karalis et al., 2016; Dejean et al., 2016; Bagur et al., 2018). Esta oscilación se alinea con el inicio y el final del *freezing*, y su inducción por estimulación optogenética en la mPFC es suficiente para inducir esta conducta (Karalis et al., 2016; Bagur et al., 2018; Han et al., 2023). A nivel de la interacción entre regiones, también se ha observado que esta oscilación de 4-Hz sincroniza la mPFC con otras estructuras como la BLA, reforzando un patrón de direccionalidad mPFC → BLA durante la expresión del miedo (Lesting et al., 2013; Karalis et al., 2016; Clarke-Williams et al., 2024).

Por otro lado, durante la locomoción y la exploración activa, se ha observado un predominio de oscilaciones theta (8-12 Hz) en el HPC, la mPFC y la BLA, asociadas al estado de movimiento voluntario (O'Neill et al., 2013; Han et al., 2023). Este ritmo se ha vinculado con la organización temporal de la actividad neuronal durante tareas dirigidas a objetivos (Buzsáki, 2005), y con la coordinación funcional entre estructuras límbicas y corticales en estados de alta demanda cognitiva (Jones y Wilson, 2005; Siapas et al., 2005). En contraste, en un contexto de seguridad (**Fig. 5C**), como ante la presentación del CS- o luego de la extinción del miedo, se produce un aumento en la potencia de gamma rápido (70-120 Hz) en la mPFC, la BLA y el HPC. Este aumento se acompaña de una mayor coherencia entre estas regiones y de un patrón de direccionalidad funcional mPFC → BLA → HPC, reflejando un flujo descendente de información que inhibiría la expresión del miedo (Lesting et al., 2011; Cho et al., 2013; Likhtik et al., 2014; Stujenske et al., 2014; Karalis et al., 2016).

Este cambio sugiere una reconfiguración dinámica del circuito en función de la experiencia previa y del estado emocional del animal (Bocchio et al., 2017).

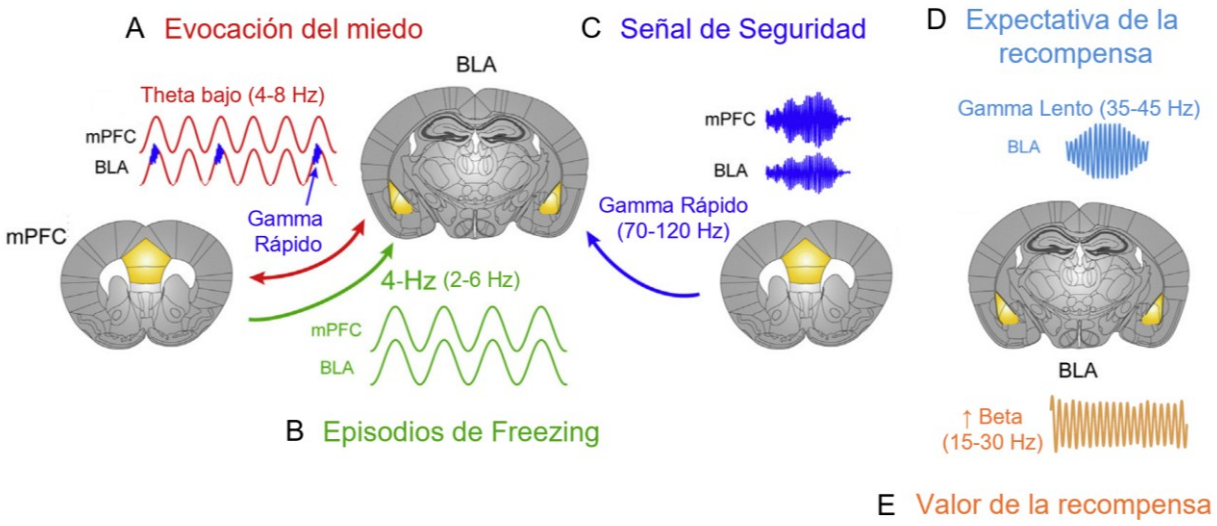


Figura 5. Oscilaciones cerebrales y sincronización interregional en la red BLA-mPFC durante distintas fases de la expresión emocional. **A**. Evocación del miedo: durante la evocación de la memoria de miedo, se observa una sincronización de theta bajo (4-8 Hz) entre la mPFC y la BLA, junto con eventos de gamma rápido (70-120 Hz) acoplados a la fase de theta. **B.** Episodios de *freezing*: estos eventos se asocian con una oscilación de 4-Hz (2-6 Hz) que sincroniza la actividad de la mPFC y la BLA. **C.** Señal de seguridad: en este contexto, se incrementa la potencia de gamma rápido en la mPFC, la BLA y el HPC, con un patrón de coherencia y dirección de la información mPFC → BLA. **D.** Expectativa de la recompensa: en el aprendizaje asociado a una recompensa, la expectativa de esta se acompaña de un aumento de potencia en la banda de gamma lento (35-45 Hz) en la BLA. **E.** Valor de la recompensa: tras este aprendizaje apetitivo, se observa un incremento sostenido en la potencia de beta (15-30 Hz) en la BLA, asociado al valor aprendido del estímulo. Las flechas indican direccionalidad en las oscilaciones. Adaptada de Bocchio et al., 2017.

Además, a lo largo de estas condiciones se ha documentado un patrón específico de acoplamiento fase-amplitud (PAC) entre theta y gamma, que se adapta a la valencia del estímulo. Durante la presentación del CS+, predomina el acoplamiento theta-gamma en la BLA, tanto en la banda de gamma lento (40-70 Hz) como en la de gamma rápido (**Fig. 5A**). Este acoplamiento ocurre de forma desfasada, donde la amplitud de gamma lento se alinea preferentemente con el valle de la oscilación theta, mientras que la de gamma rápido lo hace con el pico, lo que sugiere una posible segregación funcional entre ambas bandas dentro del mismo ciclo oscilatorio (Stujenske et al., 2014). En cambio, ante el CS- o luego del aprendizaje de extinción, se incrementa la potencia de gamma rápido y el acoplamiento theta-gamma entre la mPFC y la BLA, en conjunto con una direccionalidad funcional mPFC → BLA, lo que sugiere un acoplamiento más fuerte de theta con gamma rápido en una situación segura (**Fig. 5C**; Lesting et al., 2013; Likhtik et al., 2014; Stujenske et al., 2014). Esta organización específica por región cerebral y banda de frecuencia se ha interpretado como un mecanismo mediante el cual el cerebro usa diferentes ritmos en distintas regiones para activar caminos distintos de procesamiento, dependiendo del contexto emocional, y permitiendo al cerebro adaptarse flexiblemente a situaciones como el miedo o la seguridad (Lisman y Jensen, 2013).

Durante el aprendizaje de memorias apetitivas, los patrones oscilatorios muestran diferencias marcadas. En estos contextos, la presentación de un CS+ que predice una recompensa se acompaña de un aumento progresivo en la potencia de gamma lento (35-45 Hz) en la BLA y en las cortezas rinales, especialmente durante la fase de anticipación y expectativa de la recompensa (**Fig.**

5D). Esta oscilación también muestra un incremento en la coherencia la BLA y en las cortezas rinales y una alineación más precisa de la actividad de las neuronas con la fase de gamma, lo que sugiere que coordina la activación neuronal de manera funcional para la consolidación de la memoria (Bauer et al., 2007; Popescu et al., 2009). Esta dinámica también se ha observado entre la BLA y el cuerpo estriado ventral, donde las oscilaciones de gamma lento sincronizan ambas regiones durante el aprendizaje apetitivo, lo que sugiere una red funcional para la codificación del valor positivo del estímulo (Bauer et al., 2007; Popescu et al., 2009). La oscilación beta (12-30 Hz) se ha propuesto que cumple un rol relevante en la representación del valor aprendido. En particular, se ha reportado un aumento sostenido de la potencia beta en la BLA tras una experiencia apetitiva (Fig. 5E), el cual se correlaciona con la preferencia conductual por estímulos asociados a una recompensa (Amaya et al., 2024). Estas oscilaciones podrían reflejar la consolidación de un estado motivacional que orienta la conducta dirigida a la obtención de estas recompensas. En cambio, en las memorias resistentes a la extinción, como las asociadas al consumo de drogas, se ha observado una coordinación transitoria en la banda beta entre la BLA, la mPFC, el NAc y el HPC, guiada por una oscilación de 4-Hz en la VTA que actúa como marcapasos y permite sincronizar estas regiones para facilitar la persistencia de la memoria apetitiva (Clarke-Williams et al., 2024).

En conjunto, estos trabajos indican que las oscilaciones cerebrales en bandas específicas no solo reflejan el estado conductual del animal, sino que también participan activamente en la codificación, evocación y extinción de memorias emocionales, tanto aversivas como apetitivas. La dinámica oscilatoria según el estado comportamental (como el *freezing*, la exploración o la expectativa de recompensa) y los patrones de direccionalidad funcional entre regiones corticales y límbicas constituyen elementos clave para entender cómo se organiza la actividad cerebral en función de la valencia del estímulo, del contexto y de la evocación y extinción de estas memorias.

I.5.3. La respiración como modulador de la actividad oscilatoria en el cerebro

La respiración, más allá de su función fisiológica básica, constituye un ritmo endógeno que estructura la actividad cerebral a distintas escalas. Aunque su origen está en el tronco encefálico, su impacto sobre la dinámica neuronal se produce principalmente a través de la estimulación mecánica del epitelio olfatorio durante la respiración nasal (Zelano et al., 2016; Moberly et al., 2018), lo que activa el bulbo olfatorio y propaga esta señal rítmica a múltiples regiones corticales y subcorticales. Esta vía sensorial permite que el ritmo respiratorio module tanto la excitabilidad local como la sincronización entre regiones (Tort et al., 2018; Bagur et al., 2021). Este ritmo puede registrarse de manera precisa a partir del epitelio olfatorio (EO), lo que permite analizar su relación con la actividad cerebral en animales comportándose libremente (Grimaud y Murthy, 2018; Liu y Han, 2022). Distintos estudios han demostrado que la frecuencia respiratoria se acopla con precisión a las oscilaciones neuronales en regiones como la mPFC, el HPC, la BLA y otras estructuras sensoriales. Este acoplamiento se manifiesta tanto en la sincronización temporal de la actividad neuronal con la fase de cada ciclo respiratorio (inhalación/exhalación), como en la correlación entre la frecuencia respiratoria y la frecuencia de las oscilaciones neuronales (Nguyen Chi et al., 2016; Lockmann et al., 2016; Moberly et al., 2018). Durante estados como el sueño o la quietud, la respiración puede actuar como un marcapasos central. Se ha observado que durante el sueño REM, los cambios en la frecuencia respiratoria se correlacionan con variaciones en la frecuencia y la amplitud de las oscilaciones theta y gamma en la corteza parietal, con relaciones causales bidireccionales (Tort et al., 2021). Además, se ha propuesto que la respiración facilita la coordinación entre los *ripples* hipocampales y las transiciones *UP/DOWN* corticales, apoyando procesos de consolidación de la memoria (Karalis y Sirota, 2022).

En la vigilia, la respiración también organiza la dinámica oscilatoria cerebral. En la mPFC, se ha demostrado que la fase del ciclo respiratorio modula el disparo de neuronas individuales y organiza la actividad de poblaciones neuronales, afectando funciones como la memoria de trabajo y la expresión de la conducta (Bagur et al., 2021). Durante el *freezing*, el ritmo respiratorio adopta una frecuencia de 4-Hz, y esta actividad se acopla con oscilaciones en la BLA y la mPFC. La perturbación del flujo nasal reduce esta oscilación y altera específicamente la mantención de esta conducta (Moberly et al., 2018). En cambio, durante el movimiento activo, la frecuencia respiratoria supera los 6 Hz, acompañando el surgimiento de oscilaciones theta en estas regiones (Tort et al., 2018; Karalis y Sirota, 2022; Han et al., 2023). Este paralelismo sugiere que la respiración no solo refleja el estado del animal, sino que participa activamente en la definición de los estados oscilatorios subyacentes a la conducta. De este modo, la respiración emerge como un ritmo central en la organización temporal de la actividad cerebral, modulando las oscilaciones neuronales, el acoplamiento interregional y la expresión conductual. Por lo tanto, el ritmo respiratorio permite la integración de redes funcionales que sustentan la percepción, la memoria y el procesamiento de las emociones.

I.6. Codificación neuronal en la BLA

I.6.1. Arquitectura y poblaciones neuronales de la BLA

La amígdala es una estructura heterogénea del sistema límbico compuesta por varios núcleos con funciones específicas en el procesamiento emocional (**Fig. 6**). El complejo basolateral (BLA) incluye la amígdala lateral (LA), basal (BA) y basomedial (BM), y constituye la principal vía de entrada y procesamiento sensorial del sistema amigdalino. La LA recibe aferencias del tálamo y la corteza sensorial, como las señales del CS y del US, cuya convergencia sináptica en esta región es fundamental para la formación de asociaciones durante el condicionamiento (Sepahvand et al., 2023). Por otro lado, la BA y la BM integran estas señales y participan en la modulación contextual y en la interacción con estructuras como la mPFC (Pare y Duvarci, 2012; Krabbe et al., 2018). La BLA está compuesta en un 80 % por neuronas de proyección glutamatérgicas y en un 20 % por interneuronas GABAérgicas (Krabbe et al., 2018). Estas interneuronas se dividen en dos subtipos mayoritarios, identificables por marcadores moleculares, interneuronas parvalbúmina-positivas (PV+) y somatostatina-positivas (SOM+). También se encuentran interneuronas que expresan calretinina, CCK o VIP, en menor proporción (Krabbe et al., 2018). Cada subtipo presenta características morfológicas y fisiológicas distintivas, lo que contribuye a una regulación precisa de la actividad excitatoria dentro del circuito local. La amígdala central (CeA), subdividida en una parte lateral (CeL) y otra medial (CeM), representa la vía de salida hacia regiones que controlan respuestas autónomas y motoras. La CeA está compuesta casi exclusivamente por neuronas GABAérgicas, distribuidas principalmente en las subdivisiones CeL y CeM. En la CeL, se identifican dos grandes subpoblaciones funcionales: las neuronas PKCδ+ (CeL-Off), que inhiben a la CeM, y las PKCδ- (CeL-On), que inhiben a las primeras, generando un circuito disináptico que regula la salida emocional (Pare y Duvarci, 2012; Whittle et al., 2021). Estas poblaciones también pueden expresar marcadores como somatostatina o CRF, y muestran plasticidad dependiente del aprendizaje emocional. La CeM, por su parte, proyecta hacia centros autonómicos y motores. Entre la BLA y la CeA, se encuentran las masas de células intercaladas (ITC) que forman un sistema de núcleos GABAérgicos que median inhibición *feedforward* entre estas estructuras, y cumplen un rol clave en la regulación de la expresión y extinción del miedo (Duvarci y Pare, 2014; Whittle et al., 2021).

En conjunto, esta organización microanatómica y funcional convierte a la amígdala en un núcleo integrador fundamental para la evaluación emocional de los estímulos y la selección adaptativa de respuestas comportamentales, modulando de forma dinámica la conducta en función del contexto, la experiencia previa y la valencia emocional. Además de su organización sináptica, la actividad de la BLA recibe influencia de neuromoduladores como la dopamina, la serotonina, la noradrenalina y

la acetilcolina, que ajustan la excitabilidad neuronal y la plasticidad sináptica según el estado emocional (Tovote et al., 2015; Giustino y Maren, 2018; Likhtik y Johansen, 2019; Duvarsi, 2024). Estos sistemas permiten que la BLA codifique con flexibilidad la valencia emocional de los estímulos, facilitando la adaptación conductual frente a experiencias tanto aversivas como apetitivas.

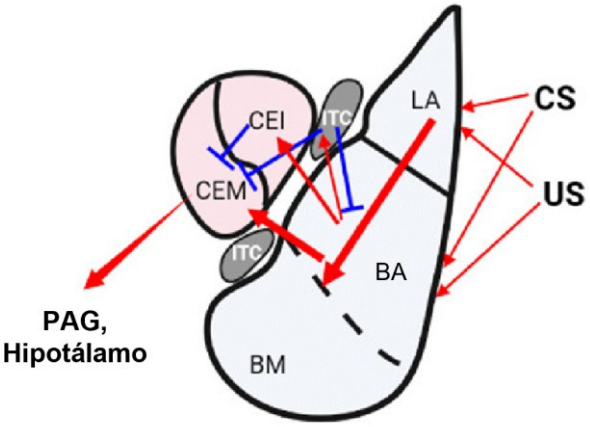


Figura 6. Representación simplificada del circuito de la amígdala subyacente al condicionamiento y al procesamiento emocional. La amígdala lateral (LA) se conecta con la amígdala central (CeA) de forma directa o a través de la amígdala basal (BA), que incluye las divisiones lateral (BL) y medial (BM), o por medio de las células intercaladas (ITCs). De manera similar, la BA se conecta con la CeA directamente o a través de las ITCs. La división medial de la CeA (CeM) proyecta hacia estructuras posteriores como el hipotálamo y la sustancia gris periacueductal (PAG) para controlar respuestas autonómicas y defensivas. La convergencia del estímulo condicionado (CS) y el estímulo incondicionado (US) en la BLA genera cambios sinápticos mediante una interacción compleja entre excitación e inhibición dentro de la amígdala. Las líneas rojas indican la vía de salida de la amígdala; las líneas azules, la inhibición de dicha salida. Adaptada de Sepahvand et al., 2023.

I.6.2. Codificación multidimensional en la BLA

La BLA contiene neuronas capaces de discriminar entre estímulos condicionados, así como entre estados comportamentales. Luego de un condicionamiento aversivo, muchas neuronas muestran una actividad diferencial ante el CS+ y el CS-, reflejando una codificación específica de la valencia adquirida para cada estímulo (Quirk et al., 1995; Goosens et al., 2003). Esta selectividad no se limita al tipo de estímulo, sino que también se manifiesta en relación con el comportamiento del animal, ya que la actividad de muchas neuronas depende del estado motor, en particular si el animal está en *freezing* o en movimiento (Hobin et al., 2003; Karalis et al., 2016). Incluso cuando la valencia es la misma, como ocurre entre dos estímulos aversivos en diferentes contextos, las respuestas neuronales pueden ajustarse en función de la información contextual (Hobin et al., 2003). Estudios recientes han demostrado que muchas neuronas de la BLA codifican simultáneamente múltiples dimensiones relevantes para la conducta, como el tipo de estímulo, la valencia asociada, el estado comportamental y la velocidad del animal, organizando esta información en un espacio de codificación de alta dimensionalidad (Kyriazi et al., 2018). Esta capacidad sugiere que la BLA participa activamente en la integración de señales sensoriales y motoras para guiar respuestas adaptativas. En esta línea, se ha identificado que distintas poblaciones neuronales dentro de la BLA están especializadas en codificar estímulos de valencia opuesta, como señales asociadas al miedo o a la recompensa. Por otro lado, muchas de ellas muestran respuestas selectivas a estímulos apetitivos, incrementando su tasa de disparo ante señales que predicen recompensas y contribuyendo a la ejecución de conductas dirigidas a la obtención de estas recompensas (Ambroggi et al., 2008; Stuber et al., 2011; Janak y Tye, 2015). Estas poblaciones se organizan funcional y

anatómicamente en relación con la estructura a la que proyectan. Las neuronas que responden a los estímulos aversivos tienden a proyectar hacia la CeA, mientras que aquellas vinculadas a recompensas lo hacen hacia el NAc (Ambroggi et al., 2008; Beyeler et al., 2016; Smith y Torregrossa, 2021). Sin embargo, esta organización no es rígida, y algunas neuronas pueden responder a estímulos de ambas valencias dependiendo del contexto, lo que sugiere un sistema de codificación flexible (Burgos-Robles et al., 2017). Esta plasticidad se vuelve evidente durante la extinción del miedo. En este proceso, se observa una transformación activa del patrón de actividad en la BLA, con el surgimiento de nuevas poblaciones neuronales que codifican la extinción y que reemplazan a aquellas vinculadas al miedo (Herry et al., 2008). Esta reorganización funcional contribuye a consolidar la extinción y refleja la capacidad de la BLA para adaptar dinámicamente sus representaciones emocionales frente a cambios en la contingencia entre los estímulos.

Complementariamente, se han identificado en la BLA poblaciones genéticamente definidas que codifican valencias opuestas y compiten funcionalmente durante el aprendizaje emocional. Neuronas de proyección que expresan Rspo2 se activan ante estímulos aversivos y están implicadas en la expresión del miedo condicionado, mientras que neuronas que expresan Ppp1r1b+, que además están vinculadas al circuito de la recompensa, se activan en respuesta a señales de seguridad o ausencia de castigo (Zhang et al., 2020). Durante la extinción, se observa una supresión progresiva de las Rspo2+ y un aumento en la actividad de las Ppp1r1b+, lo que refleja un desplazamiento funcional desde un estado de miedo hacia uno de seguridad, y sugiere que la memoria de extinción se representa activamente como una experiencia positiva, y no simplemente como la inhibición del miedo. Esta reorganización funcional de la BLA está acompañada por una modulación diferencial desde las regiones prefrontales PL e IL, que orientan la activación de distintas subpoblaciones neuronales según la fase de la memoria. Las neuronas de la BLA que proyectan hacia el PL tienden a codificar estímulos de valencia negativa y están asociadas con la expresión del *freezing*, mientras que aquellas que proyectan hacia el IL codifican señales de valencia positiva y se activan preferencialmente durante la extinción, contribuyendo a la inhibición del miedo (Herry et al., 2008; Senn et al., 2014; Burgos-Robles et al., 2017). En situaciones de conflicto, donde un mismo estímulo puede asociarse tanto a una consecuencia negativa como positiva, la proyección diferencial desde la BLA hacia el PL o el IL contribuye a modular la respuesta del animal según cuál de estos circuitos se active preferencialmente (Burgos-Robles et al., 2017). Así, la interacción dinámica entre la BLA y la mPFC permite una evaluación flexible del valor de los estímulos y una respuesta emocional adaptativa.

I.6.3. Acoplamiento de la actividad neuronal en la BLA a los ritmos oscilatorios de la red

El acoplamiento de la actividad neuronal en la BLA a los ritmos oscilatorios de la red constituye un mecanismo dinámico y flexible que permite organizar la actividad neuronal en función del estado emocional del animal. Durante el *freezing*, las oscilaciones de 4-Hz en esta red coordinan el disparo neuronal en la BLA, con un ~30 % de las neuronas acopladas a una fase de esta oscilación, en general durante el valle, mientras que un 21 % lo hace a la fase de theta durante estados de seguridad (Karalis et al., 2016; Ozawa et al., 2020). Además, en la misma condición de evocación del miedo, un 21 % de las neuronas presentaban una preferencia de la fase de gamma rápido (Stujenske et al., 2014). Estas oscilaciones también pueden inducirse artificialmente mediante estimulación optogenética, y bajo estas condiciones, el 35 % de las neuronas se acopla a la fase de 4-Hz y el 30 % a la fase de theta, replicando los patrones observados espontáneamente (Ozawa et al., 2020). Complementariamente, durante el CS- las neuronas de la BLA se acoplan a la fase de la oscilación theta del mPFC, con un retraso que sugiere que están siendo moduladas por señales descendentes desde la mPFC. Este acoplamiento se incrementa en animales que logran discriminar

entre miedo y seguridad, y disminuye cuando generalizan el miedo, lo que sugiere que funciona como un marcador neuronal de un estado de seguridad (Likhtik et al., 2014). Durante un aprendizaje apetitivo, también se reportó que el ~47% de las neuronas de la BLA se acoplaban a la fase de las oscilaciones de gamma lento en la BLA durante un estado de expectativa de la recompensa (Bauer et al., 2007; Popescu et al., 2009). Por otro lado, la estimulación optogenética de interneuronas PV+ en la BLA a 20 Hz induce un estado oscilatorio beta que sincroniza el LFP y genera preferencia por una recompensa asociada a dicha estimulación. Además, la inhibición de las PV+ redujo la potencia de theta y alteró la flexibilidad conductual ante la devaluación de la recompensa, lo que refuerza el rol de estas interneuronas en seleccionar estados oscilatorios emocionales (Amaya et al., 2024).

El acoplamiento de la actividad neuronal de la BLA a la fase de las oscilaciones locales o interregionales sería un mecanismo de codificación dinámico que integra la valencia emocional y la experiencia previa, permitiendo seleccionar en tiempo real qué engrama se activa, qué conducta se gatilla y qué región lidera el procesamiento. De esta forma, las oscilaciones en ciertas bandas de frecuencia, como las generadas en la mPFC, pueden reflejar un estado de coordinación funcional que favorece la influencia de señales descendentes sobre la BLA. Cuando ambas estructuras están anatómicamente conectadas y muestran sincronía, se incrementa la probabilidad de que la mPFC module la actividad local de la BLA, lo que facilitaría, por ejemplo, el reclutamiento de determinada población neuronal. A su vez, las oscilaciones locales en la BLA pueden organizar la dinámica temporal de disparo y, con ello, favorecer la transmisión eficiente de información hacia otras regiones del cerebro (Bocchio et al., 2017).

I.7. Estado actual del campo y desafíos emergentes

En las últimas décadas, el estudio de la dinámica neuronal y oscilatoria en redes límbicas ha permitido avances significativos en la comprensión de los mecanismos que subyacen a la codificación, evocación y extinción de las memorias emocionales. Dentro de estas redes, el circuito formado por la BLA y la mPFC se ha consolidado como un eje central para la regulación de conductas motivadas por estímulos aversivos o apetitivos. La actividad oscilatoria conjunta entre estas regiones, especialmente en bandas de frecuencia específicas como 4-Hz, theta, beta y gamma, ha sido propuesta como una forma eficiente de coordinar la actividad neuronal y facilitar la comunicación interregional. Del mismo modo, el acoplamiento de la actividad neuronal a la fase de las oscilaciones y el acoplamiento entre las frecuencias bajas y las altas son mecanismos clave para segmentar temporalmente la actividad de poblaciones neuronales durante estados emocionales definidos.

En este marco, numerosos trabajos han caracterizado patrones oscilatorios específicos que emergen durante la presentación de estímulos condicionados asociados a consecuencias emocionales. Sin embargo, pese a estos avances, la mayoría de los estudios existentes tienden a concentrar su análisis exclusivamente durante la presentación del CS, asumiendo implícitamente que este estímulo evoca directamente la memoria asociada a él. Esta perspectiva, si bien útil, pasa por alto un aspecto fundamental: la presentación del CS no garantiza la evocación de la memoria *per se*, sino que incrementa la probabilidad de que el animal exprese la respuesta condicionada, la cual constituye, desde un punto de vista funcional, el verdadero momento de evocación. Este matiz es particularmente relevante cuando se considera que las respuestas condicionadas, como el *freezing* en el paradigma aversivo o la búsqueda de una recompensa en el apetitivo, no se expresan de forma constante ni uniforme a lo largo del CS. Por el contrario, estas respuestas varían en función del estado interno del animal, de la fase del aprendizaje y del contexto, lo que sugiere que la memoria se manifiesta en momentos puntuales y observables. Este cambio de enfoque plantea la necesidad de estudiar no solo la dinámica oscilatoria durante el CS, sino también, y especialmente, durante los eventos conductuales asociados a la memoria. A pesar de esto, los trabajos que analizan la actividad

oscilatoria y neuronal asociada particularmente a las respuestas condicionadas siguen siendo escasos.

Otro aspecto que representa un desafío importante en el campo es la diferenciación funcional entre las subregiones de la mPFC: la corteza prelimbica y la infralímbica. Aunque existe consenso en que la PL participa principalmente en la expresión del miedo y la IL en su extinción, muchos estudios que analizan la dinámica oscilatoria y la sincronización en la red BLA-mPFC no distinguen entre estas subregiones, ni especifican cuál fue el sitio de registro dentro de la mPFC. Esta omisión ha limitado la posibilidad de entender con mayor precisión cómo se distribuyen las funciones entre el PL y el IL, y de qué manera interactúan dinámicamente con la BLA durante los distintos estados emocionales. Hasta el momento, son muy pocos los estudios que analicen simultáneamente la actividad oscilatoria y neuronal en el PL y el IL junto con la BLA durante tareas de aprendizaje emocional, lo que impide observar patrones de coordinación interregional diferenciados. Además, ninguno de estos estudios aborda de manera integral ambos paradigmas, aversivo y apetitivo, ni combina el análisis oscilatorio con el de actividad neuronal en paralelo, lo que limita aún más la comprensión comparativa del circuito.

Este aspecto poco explorado se vuelve aún más relevante al considerar la evolución de los estados emocionales durante procesos como la extinción. Pocos trabajos han explorado cómo cambia la interacción funcional entre la BLA, el PL y el IL a lo largo del proceso de extinción, mientras el animal transita gradualmente de un estado de evocación de la memoria apetitiva o aversiva a un estado de evocación de la memoria de extinción. En otras palabras, falta una descripción detallada de cómo se transforma la dinámica oscilatoria y neuronal entre estas regiones durante el proceso de extinción, lo cual sería clave para entender los mecanismos de regulación emocional. A estos desafíos se suma una limitación conceptual importante: la gran mayoría de los estudios en este campo se han enfocado en paradigmas aversivos, dejando en un segundo plano la exploración de memorias apetitivas. Esto ha generado un desequilibrio considerable en el conocimiento disponible, dificultando la posibilidad de establecer comparaciones funcionales entre los circuitos que codifican estímulos de diferente valencia. En el caso del condicionamiento apetitivo, todavía no se cuenta con una caracterización general de los ritmos oscilatorios predominantes, ni de las dinámicas neuronales asociadas a la evocación y extinción de memorias asociadas a una recompensa. Además, se desconoce si la red BLA-mPFC responde de forma similar o diferencial en función de la valencia, y si el PL y el IL mantienen su especialización funcional en este contexto. Tampoco se ha estudiado en profundidad cómo se modula la actividad neuronal en estas regiones en momentos críticos como el consumo de la recompensa, su omisión o su devaluación, ni qué ritmos oscilatorios acompañan esas transiciones conductuales.

Frente a este panorama, se vuelve evidente la necesidad de avanzar hacia modelos más integradores que combinen el análisis simultáneo de múltiples regiones, la comparación entre memorias de distinta valencia, y la correspondencia de los datos neurofisiológicos con eventos conductuales claramente definidos. Esta tesis doctoral se inscribe en esa línea de investigación. A partir de registros simultáneos en la BLA, el PL y el IL, y utilizando un enfoque que privilegia la segmentación precisa de eventos conductuales, como el *freezing*, el movimiento espontáneo o aquel dirigido a la obtención de una recompensa, y las entradas al puerto apetitivo, se propone caracterizar los ritmos oscilatorios predominantes, el acoplamiento entre regiones y la modulación de la actividad neuronal durante distintas fases de la memoria emocional, con especial énfasis en el proceso de extinción. Este enfoque no solo busca llenar vacíos empíricos, sino también contribuir al desarrollo de un marco teórico más sólido sobre cómo se organizan los sistemas emocionales en el cerebro.

Hipótesis y objetivos

En concordancia con lo desarrollado en la introducción teórica y con los vacíos del campo previamente identificados, los objetivos e hipótesis que orientan esta tesis son los siguientes:

Objetivo general: Estudiar las bases neurales que subyacen a la evocación y extinción de memorias emocionales, mediante el análisis comparativo de la dinámica oscilatoria, la actividad neuronal en la BLA y la interacción funcional entre la BLA y las subregiones PL e IL de la mPFC, durante la expresión de memorias aversivas y apetitivas.

A partir de este objetivo general, se plantean los siguientes objetivos específicos, cada uno con su correspondiente hipótesis de trabajo, orientados a abordar distintos niveles de análisis:

Objetivo específico 1: Caracterizar la dinámica oscilatoria local en la BLA y en las subregiones PL e IL de la mPFC durante la evocación y extinción de memorias emocionales, tanto aversivas como apetitivas.

Hipótesis 1: La evocación y extinción de memorias emocionales se asocian a patrones oscilatorios específicos que varían en función de la valencia y del estado conductual del animal. Mientras que la evocación del miedo se caracteriza por un predominio de oscilaciones de 4-Hz, las memorias apetitivas y los estados de seguridad presentan un mayor acoplamiento en bandas theta y gamma rápido. Estos patrones difieren entre la BLA, el PL y el IL, reflejando la especialización funcional de cada región.

Objetivo específico 2: Analizar la interacción entre la BLA y las regiones PL e IL a nivel de las oscilaciones, durante la evocación y extinción de memorias aversivas y apetitivas.

Hipótesis 2: Las dinámicas de interacción entre la BLA y el PL o IL se reorganizan de manera sistemática durante la evocación y extinción de las memorias emocionales. Durante la evocación del miedo, predomina un acoplamiento 4-Hz dirigido desde el PL hacia la BLA, mientras que en contextos de extinción y memorias apetitivas se establece una interacción theta más prominente, liderada por el IL. Estos cambios reflejan transiciones funcionales dentro del circuito según el estado emocional.

Objetivo específico 3: Estudiar la actividad neuronal de la BLA en relación con la dinámica oscilatoria del circuito y la expresión conductual de la memoria emocional.

Hipótesis 3: La actividad de una proporción de las neuronas de la BLA se acopla de manera significativa a eventos conductuales, así como a la fase de las oscilaciones lentas dominantes del sistema (4-Hz o theta) y de las oscilaciones gamma, en momentos puntuales que marcan la expresión de la memoria. Este acoplamiento se reorganiza durante la extinción, varía según la valencia de la memoria, y permite identificar subpoblaciones neuronales con respuestas específicas al estado emocional del animal.

Objetivo específico 4: Comparar cualitativamente la organización oscilatoria y neuronal de la red BLA-mPFC entre memorias aversivas y apetitivas, con el fin de identificar regularidades funcionales compartidas y patrones diferenciales de codificación emocional.

Hipótesis 4: Si bien las memorias aversivas y apetitivas comparten una arquitectura oscilatoria general y una organización funcional común en la red BLA-mPFC, presentan diferencias específicas en la expresión de ciertas bandas de frecuencia, en los patrones de acoplamiento entre regiones, y en la participación de subregiones prefrontales. Estas diferencias reflejan mecanismos de codificación diferenciados para cada tipo de valencia emocional.

Materiales y métodos

M.1. Animales

Se utilizaron un total de 20 ratas Long-Evans macho (adultos de 12 a 16 semanas de edad, 300-500 g), provenientes de una colonia establecida en el bioterio del Instituto de Fisiología y Biofísica Bernardo Houssay (IFIBIO), a partir de reproductores provenientes del bioterio de la Universidad de Favaloro. De este total, 10 animales constituyeron la muestra utilizada en esta tesis. Los animales restantes fueron empleados para la puesta a punto de los experimentos o fueron excluidos debido a que no cumplieron con los criterios de calidad en la señal electrofisiológica o los criterios de aprendizaje de la tarea. Inicialmente, los animales fueron alojados en jaulas con un máximo de seis individuos y tuvieron acceso *ad libitum* al alimento hasta alcanzar la edad requerida para los experimentos. Dos semanas antes de la cirugía, los animales fueron trasladados a jaulas de plástico individuales y sometidos a un ciclo luz-oscuridad invertido de 12:12 h (luces encendidas de 19:00 a 07:00 h). Durante este período, se inició un régimen de restricción controlada de alimento y agua, que consistió en proporcionar 8-12 g de alimento en pellets por día y restringir el acceso al agua a 1 hora diaria *ad libitum*, asegurando que mantuvieran entre el 85-90% de su peso corporal previo a la privación. Esta manipulación tuvo como objetivo aumentar la motivación y favorecer una mayor implicación en las tareas conductuales posteriores. Asimismo, fueron sometidos a sesiones diarias de manipulación durante 10 minutos para habituarlos a la presencia y manipulación por parte del experimentador. Tras la cirugía de implantación de electrodos, los animales tuvieron acceso *ad libitum* a alimento y agua durante un período de recuperación de cinco días. Posteriormente, se restableció el régimen de restricción y, una vez que los animales recuperaron un peso corporal de 85-90%, se iniciaron los experimentos. Estos se llevaron a cabo en condiciones de iluminación tenue y exclusivamente durante la fase oscura del ciclo, cuando las ratas son naturalmente activas. El manejo y cuidado de los animales se realizó de acuerdo con las normativas institucionales y gubernamentales para el uso de animales de laboratorio, respetando las pautas establecidas por la Comisión Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL; EX-2024-01618314- -UBA-DMEA#FMED JP). Se tomaron todas las medidas necesarias para minimizar el número de animales utilizados y reducir cualquier posible malestar. La información detallada de los animales utilizados en esta tesis se resume en la siguiente tabla:

Animal	Apetitivo	Aversivo	# Canales	Respiración (EO)	Canales por región	Comentario
R01	✗	✗	-	✗	✗	Puesta a punto de los paradigmas
R02	✗	✗	-	✗	✗	Puesta a punto de los paradigmas
R03	✗	✗	-	✗	✗	Puesta a punto de los paradigmas
R04	✗	✗	-	✗	✗	Puesta a punto de los paradigmas
R05	✗	✗	32	✗	✗	Se salió el implante
R06	✗	✗	32	✗	BLA (0); PL (2); IL (1)	Se salió el implante
R07	✗	✗	32	✗	BLA (8); PL (1); IL (0)	Se salió el implante
R08	✗	✗	32	✗	✗	Puesta a punto de los paradigmas
R09	✗	✗	32	✗	BLA (0); PL (1); IL (1)	Se salió el implante
R10	✓	✗	32	✗	BLA (24); PL (2); IL (1)	Incluído en el análisis
R11	✓	✓	32	✗	BLA (28); PL (1); IL (1)	Incluído en el análisis
R12	✗	✓	32	✗	BLA (12); PL (1); IL (1)	Incluído en el análisis
R13	✓	✓	32	✗	BLA (28); PL (1); IL (1)	Incluído en el análisis
R14	✓	✗	32	✗	BLA (24); PL (3); IL (1)	Incluído en el análisis
R15	✗	✗	64	✗	BLA (0); PL (3); IL (3)	No cumplió el criterio de aprendizaje
R16	✓	✗	64	✓	BLA (56); PL (3); IL (3)	Incluído en el análisis
R17	✓	✓	64	✓	BLA (56); PL (3); IL (3)	Incluído en el análisis
R18	✓	✓	64	✗	BLA (0); PL (4); IL (3)	Incluído en el análisis
R19	✓	✓	64	✗	BLA (0); PL (3); IL (2)	Incluído en el análisis
R20	✗	✓	64	✓	BLA (56); PL (3); IL (2)	Incluído en el análisis

Tabla 1. Animales utilizados e incluidos en el análisis. La tabla resume la información correspondiente a los 20 animales utilizados en esta tesis. Se indica su inclusión en los análisis del paradigma apetitivo y aversivo, la cantidad de canales registrados en cada caso, el registro de respiración (EO), el número de canales por región (BLA, PL, IL) y el motivo de inclusión o exclusión en cada caso.

M.2. Comportamiento

M.2.1. Condicionamiento apetitivo

Para estudiar la dinámica neural involucrada en la evocación y extinción de una memoria asociativa recompensante, implementamos un condicionamiento clásico apetitivo de tipo discriminativo (Burgos Robles et al., 2017; Millan et al., 2021). Este tipo de paradigma es particularmente útil en estudios electrofisiológicos, ya que permite una comparación intrasesión entre la actividad neuronal inducida por el estímulo condicionado (CS+) y un estímulo control (CS-), proporcionando un control interno para diferenciar respuestas específicas de la asociación CS+/US de aquellas generadas por la presentación de estímulos auditivos no asociados (Collins y Paré, 2000; Herry et al., 2008). Además, este diseño experimental facilita la identificación de los patrones neurales subyacentes a los procesos mnésicos asociativos y permite distinguir entre diferentes estrategias de aprendizaje, identificando animales que discriminan con precisión entre los estímulos y aquellos que generalizan la respuesta (Likhtik et al., 2014; Stujenske et al., 2014), lo que aporta información clave sobre la variabilidad en la adquisición y expresión de la memoria. El condicionamiento apetitivo consistió en cuatro tipos de sesiones: *Pre-exposición*, *Habituación*, *Entrenamiento* y *Extinción* (**Fig. 7A**). En el día 1, durante la ***Pre-exposición***, los animales tuvieron acceso en su jaula a una solución de sacarosa al 10% (5 g de sacarosa en 50 ml de agua) durante 30 minutos. En el día 2 durante la ***Habituación***, los animales fueron colocados en la caja de condicionamiento de medidas 30 x 24 x 25 cm (**Fig. 7B**) y permanecieron 2 minutos con la luz ambiente apagada antes de iniciar la sesión. El objetivo de la habituación al contexto fue evitar que adquiriera valor predictivo en la tarea. Sin esta habituación, el contexto podría funcionar como un estímulo condicionado no controlado, introduciendo un componente contextual en la memoria y comprometiendo la especificidad de la asociación entre el tono y la recompensa (Bouton y Bolles, 1985; Bouton y Peck, 1989; Hall y Honey, 1989; Carew y Rudy, 1991; Bouton et al., 1993). Esto permitió que el aprendizaje dependiera exclusivamente de los estímulos presentados, asegurando una mejor interpretación de los resultados. La caja contaba con un *cooler* de ventilación que generaba un ruido ambiente constante de 60 dB. Luego, la luz ambiente (de baja intensidad) se encendió por 1 hora, período en el cual recibieron manualmente pequeñas cantidades de sacarosa (20-30 µl por recompensa) en el puerto, de manera aleatoria y espaciada a lo largo de la sesión, con una frecuencia aproximada de 1 a 2 recompensas por minuto. Al finalizar la sesión, la luz se apagó y los animales fueron retirados. Durante la fase de ***Entrenamiento***, los animales fueron nuevamente colocados en la caja y permanecieron 2 minutos con la luz apagada antes de iniciar la sesión, marcado por el encendido de la luz. Transcurrido 1 minuto, comenzó la presentación de los estímulos condicionados (CS), que consistieron en 60 CS+ y 60 CS- (tono puro de 3,9 kHz o ruido blanco de 5 a 10 kHz, de 80 dB), administrados de forma pseudoaleatoria con una duración de 10 segundos cada uno y un intervalo entre tonos (ITI) variable de 10 a 30 segundos. Las frecuencias utilizadas para el CS+ y el CS- fueron contrabalanceadas entre los animales. Además, se controló la intensidad de los tonos, midiendo el volumen en decibelios (dB) dentro de la caja comportamental utilizando un decibelímetro TENMA RS-232 Sound Level Meter 72-860A (TENMA Test Equipment). El CS+ fue pareado con el estímulo incondicionado (US) que consistió en una recompensa (50 µl de sacarosa) entregada en el puerto durante los últimos 500 ms del CS+. Por otro lado, el CS- no fue pareado con el US y sirvió como control no condicionado. Tras el último CS, la luz se apagó después de 50 seg y los animales fueron retirados. Esta sesión de entrenamiento se repitió diariamente (durante 5 a 7 días) hasta que los animales alcanzaron el criterio de aprendizaje, definido como una respuesta significativamente mayor al CS+ en comparación con el CS- durante dos días consecutivos. Se optó por el uso de una recompensa líquida debido a la experiencia previa del laboratorio del Dr. Belluscio con este tipo de refuerzos y la disponibilidad del equipamiento necesario para su administración (Martínez et al., 2022). Además, la recompensa líquida permite un control más preciso sobre la cantidad dispensada en cada ensayo. El puerto apetitivo utilizado (ver **Fig. 10A**) fue una adaptación de un modelo comercial (Liquid Drop Receptacle, Med Associates Inc.).

Para garantizar su compatibilidad con los animales implantados, se diseñó un modelo personalizado utilizando el software de modelado 3D FreeCAD v0.21.2. La principal modificación consistió en ampliar la entrada del puerto a 5x15 cm, dado que el modelo comercial disponible en el laboratorio (Lickometer w/Photobeam Controller, Med Associates Inc.), de 5x5 cm, resultaba demasiado pequeño para permitir el acceso cómodo de los animales con implantes en la cabeza. La administración de la solución de sacarosa fue controlada mediante un sistema automatizado basado en Arduino, que activaba una válvula solenoide (Parker 003-0683-900 VAC-100PSIG DC24V) a través de un circuito de conmutación con transistor, asegurando una entrega precisa y estandarizada de la recompensa (ver **M.4**). La sacarosa era dispensada en el puerto apetitivo a través de una manguera conectada a una cánula, que dirigía la gota de solución hacia un receptáculo en forma de cuenco con una capacidad máxima de 350 µL, diseñado para facilitar la acumulación y el acceso del animal a la solución dispensada. Finalmente, ambas fases de ***Extinción*** fueron idénticas al entrenamiento, pero sin la administración del US. Inicialmente, diseñamos el experimento con una segunda sesión de extinción ya que no teníamos certeza de que una sola sesión fuera suficiente para reducir por completo la respuesta condicionada. Sin embargo, los resultados comportamentales mostraron que una única sesión era efectiva. Aunque la *Extinción 2* podría haberse planteado como una sesión de testeo más corta, su inclusión sigue siendo útil, ya que permite reforzar la extinción antes de proceder con el condicionamiento aversivo, minimizando cualquier vestigio de la memoria apetitiva. Todas las sesiones se realizaron en días consecutivos, en un mismo contexto (salvo en la pre-exposición), y con 24 hs de separación (**Fig. 7C**). Dado que la estabilidad del implante suele mantenerse por aproximadamente dos semanas, tras las cuales aumenta el riesgo de desprendimiento ante movimientos bruscos, fue crucial minimizar el número total de sesiones y completar ambos paradigmas dentro de esta ventana temporal. Por ello, se decidió no incluir una manipulación de recuperación de la memoria en el paradigma apetitivo, ya que requeriría una sesión adicional. Así, asumimos que el protocolo utilizado induce efectivamente una traza de memoria de extinción.

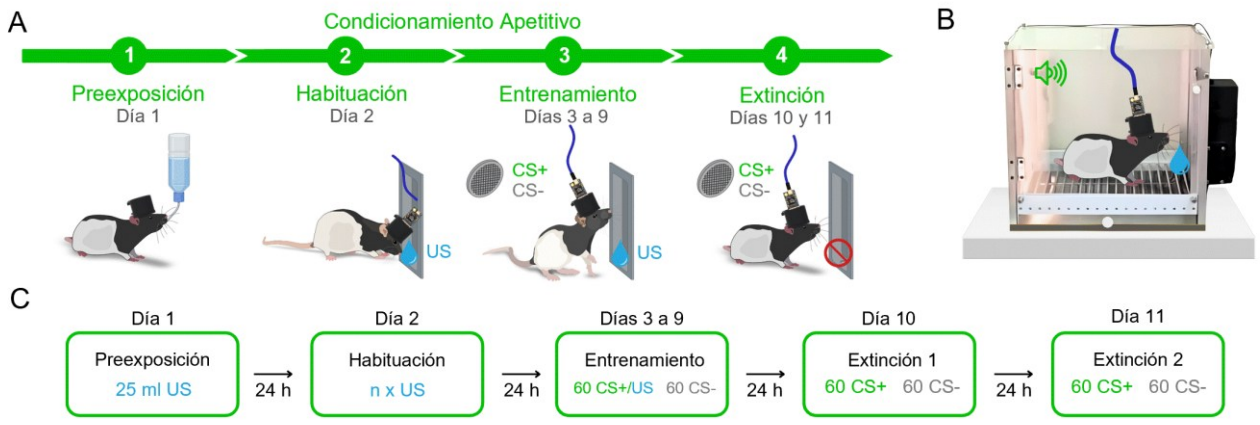


Figura 7. Diseño experimental del paradigma de condicionamiento apetitivo. A. Esquema temporal del protocolo de condicionamiento apetitivo. El paradigma consta de cuatro fases: (1) Día 1, *Pre-exposición* a la solución de sacarosa (US) en la jaula (20 ml) para la familiarización con el refuerzo positivo, (2) Día 2, *Habituación* a la caja experimental con entrega manual de n recompensas, (3) Días 3 a 9, *Entrenamiento* apetitivo con la asociación entre un estímulo condicionado (CS+, tono o ruido blanco) y la administración de la recompensa (US), mientras que el estímulo incondicionado (CS-) no es reforzado, y (4) Días 10 y 11, *Extinción 1* y *Extinción 2*, en la que los CS se presentan sin la recompensa. **B.** Representación de la caja experimental donde se llevan a cabo las sesiones, con el parlante para la presentación de los CS y el puerto en donde se dispensa la solución de sacarosa. **C.** Línea de tiempo del experimento, indicando la duración de cada fase en cantidad de días, la separación entre las distintas fases y el número de estímulos presentados en cada una. Las figuras de las ratas fueron adaptadas del *ratpack* de Ackermann E. (MIT License, Ackermann E., 2015).

En la puesta a punto de este paradigma, se utilizaron cuatro ratas macho de la cepa Wistar. Sin embargo, estos animales no mostraron un desempeño adecuado, ya que en muchos ensayos no ingresaban al puerto, no evidenciaban aprendizaje del condicionamiento y permanecían inactivos o dormidos durante gran parte de la sesión. Por este motivo, se decidió continuar la puesta a punto con la cepa Long Evans. Para el diseño del paradigma apetitivo, se realizó una revisión bibliográfica de los principales estudios sobre condicionamiento apetitivo (Delamater et al., 1995; Fitzpatrick et al., 2016, 2019; Bacharach et al., 2018; Holland et al., 2000; Keefer et al., 2020; Kochli et al., 2020; Brooks et al., 2021; Mayer et al., 2021; Millan et al., 2021; Sangarapillai et al., 2021), con el objetivo de establecer un punto de partida para las pruebas. A partir de esta revisión, se definieron parámetros clave como el número de sesiones de entrenamiento, la cantidad de ensayos por sesión, la duración de los estímulos y los intervalos entre ellos. El primer paso del protocolo fue una pre-exposición en la jaula a la recompensa (US). El objetivo fue que los animales se familiarizaran con la solución de sacarosa, ya que era la primera vez que se enfrentaban a este estímulo recompensante. Esta práctica es común en estudios de condicionamiento apetitivo y, por lo general, implica exposiciones de entre 20 minutos y 1 hora de duración (Holland et al., 2000; Keefer et al., 2020; Millan et al., 2021; Sangarapillai et al., 2021). Si bien los estudios centrados en el análisis comportamental o farmacológico del condicionamiento apetitivo suelen emplear un número reducido de ensayos por sesión (aproximadamente 25 ensayos en la mayoría de los casos; Bacharach et al., 2018; Keefer et al., 2020; Kochli et al., 2020; Mayer et al., 2021; Sangarapillai et al., 2021), en este trabajo fue necesario adaptar dichos paradigmas a una aproximación electrofisiológica. Para ello, se aumentó la cantidad de ensayos con el objetivo de optimizar la relación señal/ruido y mejorar la calidad de los análisis. Después de varias pruebas, el número final de presentación de tonos por sesión y su duración, resultó de un compromiso entre administrar la mayor cantidad de tonos posibles, manteniendo a los animales activos en el transcurso de toda la sesión y evitando que la misma sea muy extensa y no exceda 1 hora para que los animales no pierdan interés en la tarea y los registros no se vuelvan tan extensos, ya que generan archivos de gran tamaño (varios GB por sesión). Tras varias evaluaciones con diferentes parámetros, se definió un número fijo de presentaciones de tono por sesión de 60 CS+ y 60 CS-, como también se fijaron los otros parámetros del protocolo.

En cuanto a la concentración de la solución de sacarosa, la puesta a punto se inició con una concentración al 30% (Burgos-Robles et al., 2017). Sin embargo, esta resultó ser excesivamente nutritiva para los animales, quienes mostraron signos de saciedad durante la sesión y posteriormente no consumían su alimento habitual en la jaula. Tras reducir la concentración al 10%, se evaluaron volúmenes entre 10 y 200 µl. Volúmenes menores a 20 µl no resultaron suficientemente motivadores, mientras que volúmenes mayores a 100 µl generaban saciedad hacia el final de la sesión. Finalmente, se optó por utilizar un volumen de 50 µl, que mantenía a los animales comprometidos con la tarea a lo largo de toda la sesión sin signos de saciedad. Bajo el régimen de restricción controlada de alimento y agua, los animales consumieron entre 20 y 50 ml de agua por día durante la hora en la que el bebedero estaba disponible en la jaula, mostrando signos de saciedad hacia el final de este período. De manera similar, en la sesión de pre-exposición a la solución de sacarosa al 10% en la jaula, los animales ingirieron un volumen equivalente (20-50 ml), también evidenciando saciedad al final de la sesión. En contraste, en las sesiones de entrenamiento del condicionamiento apetitivo, los animales recibieron un total de 60 recompensas de 50 µl cada una, lo que representa un consumo total de 3 ml de solución por sesión. Este volumen no resultó suficiente para inducir saciedad. De hecho, incluso una hora después del entrenamiento, los animales continuaban consumiendo su ración diaria de 20-50 ml de agua y 8-12 g de alimento en la jaula, lo que sugiere que la cantidad de sacarosa administrada durante la tarea no modificó sustancialmente su estado de saciedad ni modificó su peso corporal.

M.2.2. Condicionamiento aversivo

El condicionamiento aversivo se llevó a cabo 48 hs después de finalizado el condicionamiento apetitivo, utilizando la misma caja empleada para el condicionamiento apetitivo. Se utilizó un paradigma de condicionamiento de miedo auditivo de tipo discriminativo que constó de cinco sesiones en el mismo contexto: *Entrenamiento*, *Extinción 1*, *Extinción 2*, *Reinstalación* y *Testeo* (**Fig. 8A**). Para prevenir el acceso al puerto apetitivo durante estas sesiones, se colocó una tapa rectangular plástica delante del mismo. En el día 1, los animales fueron expuestos a una sesión de ***Entrenamiento*** en la que se presentaron los CS, asociados o no a un US. Tras 2 minutos en la caja con la luz apagada, esta se encendió y transcurrieron 10 minutos antes de la presentación del primer CS. Se presentaron 3 CS+ y 3 CS- de manera alternada (tono puro e intermitente de 5 kHz o tono puro y constante de 2,4 kHz, de 80 dB), cada uno con una duración de 60 segundos y un ITI de 4 a 6 minutos. Las frecuencias utilizadas para el CS+ y el CS- fueron contrabalanceadas entre los animales, y se controló la intensidad de los tonos utilizando un decibelímetro. El CS+ fue emparejado con un US (shock eléctrico de 0,8 mA, 1 seg) aplicado durante el último segundo del CS+. La estimulación eléctrica fue administrada mediante un módulo de estimulación aversiva (Aversive Stimulator/Scrambler ENV-414S, Med Associates, Inc.), conectado a un sistema de barras metálicas en el piso (**Fig. 8B**; Grid Floor VFC-005, Med Associates, Inc.). La entrega del shock eléctrico en las patas de los animales fue controlada por un sistema de automatización basado en Arduino, asegurando una aplicación precisa del estímulo. Mientras tanto, el CS- nunca se asoció con el US y sirvió como control no condicionado. Tras el último tono, la luz se apagó después de 50 segundos y se retiró al animal. Las sesiones de ***Extinción*** se realizaron en el mismo contexto, comenzando 24 horas después del entrenamiento y en días consecutivos (días 2 y 3). Los animales permanecieron 2 minutos en la caja con la luz apagada antes de iniciar la sesión. Luego, la luz se encendió y, tras 1 minuto, se presentaron 20 CS+ y 20 CS- de 60 segundos en orden pseudoaleatorio, con un ITI de 20 a 40 segundos, sin presentación del US. Tras el último CS, la luz se apagó después de 50 segundos y se retiró al animal. Dado que la extinción consiste en la adquisición de una nueva memoria que no elimina la traza original, sino que la suprime temporalmente y compite por el control comportamental del animal (Haubrich et al., 2017; Takahiro et al., 2017), es importante, después de una sesión de extinción, realizar alguna manipulación para evaluar si la memoria original sigue presente, como la recuperación espontánea, la renovación o la reinstalación (Brooks y Bouton, 1993; García, 2002; Quirk et al., 2002; Duvarci y Nader, 2004; Rossato et al., 2006; Schiller et al., 2008; Monfils et al., 2009; Xue et al., 2012; Haubrich et al., 2017). La reinstalación, que fue la manipulación utilizada en el paradigma aversivo de esta tesis, reactiva la expresión de la memoria original al reexponer al animal al US, lo que reactiva la traza original a nivel molecular y celular (Rescorla y Heth, 1975). Para inducir la ***Reinstalación*** del miedo, 2 horas después de la *Extinción 2* (día 3), los animales fueron expuestos al contexto sin CS. Tras 2 minutos con la luz apagada, esta se encendió y, luego de otros 2 minutos, se administraron dos US (0,8 mA, 1 seg), separados por 4 a 6 minutos. La luz se apagó 50 segundos después del segundo shock y los animales fueron retirados. La sesión de ***Testeo***, realizada para evaluar la evocación del miedo 24 hs después de la reinstalación (día 4), comenzó con 2 minutos en la caja con la luz apagada. Luego, la luz se encendió y, tras 5 minutos, se presentaron 5 CS+ y 5 CS- de 60 segundos en orden pseudorrandom, con un ITI de 20 a 40 segundos, sin presentación del US. Tras el último tono, la luz se apagó después de 50 segundos y los animales fueron retirados. Todas las sesiones, salvo la de reinstalación, se realizaron en días consecutivos y con 24 hs de separación (**Fig. 8C**).

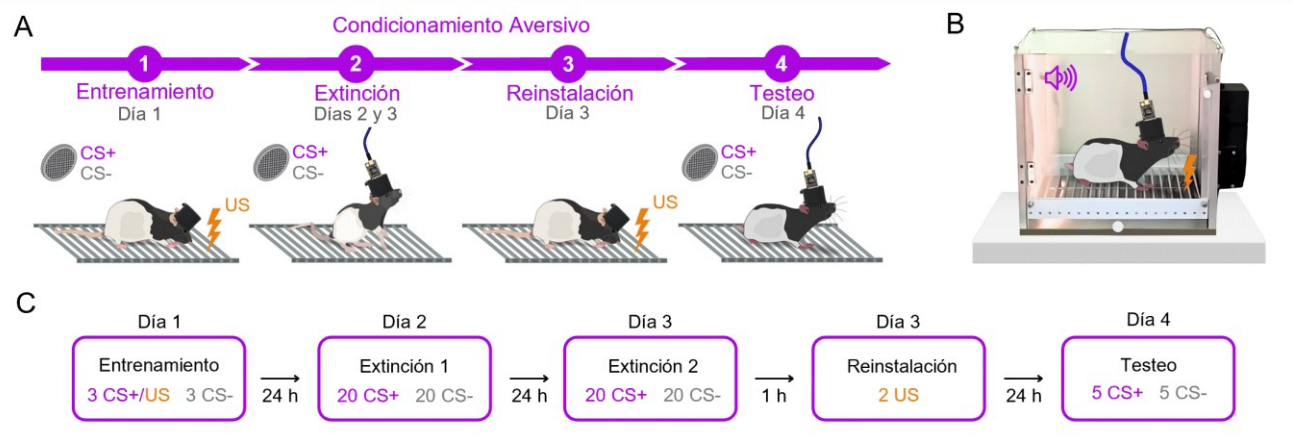


Figura 8. Diseño experimental del paradigma de condicionamiento aversivo. A. Esquema temporal del protocolo de condicionamiento aversivo. El paradigma consta de cuatro fases: (1) Día 1, *Entrenamiento* donde los animales reciben 3 presentaciones del estímulo condicionado (CS+), seguido de un shock eléctrico (US), y 3 presentaciones del estímulo incondicionado (CS-) sin US; (2) Días 2 y 3, *Extinción 1 y 2* en la que se presentan 20 CS+ y 20 CS- sin el US; (3) Día 3, *Reinstalación* donde los animales reciben 2 shocks eléctricos sin la presentación de los CS para generar la recuperación de la respuesta aversiva; y (4) Día 4, *Testeo* en el que se presentan 5 CS+ y 5 CS- sin shock eléctrico para evaluar la reinstalación de la asociación aversiva. **B.** Representación de la caja experimental utilizada para el protocolo, con un parlante para la presentación de los estímulos y un piso de barras metálicas para la administración del shock. **C.** Línea de tiempo del experimento, detallando la duración de cada fase, la separación entre las distintas fases, y el número de estímulos presentados en cada una. Las figuras de las ratas fueron adaptadas del ratpack de Ackermann E. (MIT License, Ackermann E., 2015).

Los parámetros de duración e intensidad de los estímulos fueron inicialmente definidos a partir de protocolos utilizados en estudios previos de condicionamiento de miedo en ratas (Baldi et al., 2004; Maren y Chang, 2006; Merlo et al., 2014). No obstante, dichos parámetros fueron posteriormente ajustados para inducir una memoria aversiva más robusta y extender el proceso de extinción a un mayor número de ensayos. En este sentido, durante la etapa de puesta a punto se testearon distintas intensidades del shock eléctrico (entre 0,5 mA y 1,0 mA), distinto número de presentaciones del par CS-US durante el entrenamiento (de 1 a 4) y de presentaciones de los CSs durante la extinción y variaciones en la duración de los estímulos. Esta estrategia, permitió definir los parámetros óptimos (ver **M.2.2**) para maximizar la cantidad de ensayos sin comprometer el nivel de implicación conductual de los animales durante la sesión. Así, se mejoró la relación señal/ruido de los registros y se fortaleció la robustez estadística de los análisis, manteniendo al mismo tiempo una duración de sesión adecuada. Al finalizar la sesión de *Extinción 2*, se incorporó una manipulación de *Reinstalación* con el fin de evaluar si la memoria de miedo seguía presente tras el proceso de extinción. Esta estrategia permite confirmar que el animal adquirió efectivamente una memoria de extinción, y que la ausencia de respuesta no se debe a fallas en la evocación ni a una degradación de la traza de la memoria original. De hecho, la reinstalación permite que la memoria del condicionamiento vuelva a controlar el comportamiento. La reinstalación fue posible en este caso ya que los animales no iban a ser utilizados en sesiones de registro posteriores, por lo que no había restricciones vinculadas a la durabilidad del implante.

M.3. Cuantificación y análisis del comportamiento

M.3.1. Respuesta condicionada, memoria y discriminación

Se definió la entrada al puerto como la respuesta condicionada en el condicionamiento apetitivo, y el porcentaje de tiempo dentro del puerto durante el CS como la medida operativa de memoria en este

paradigma. En este contexto, se considera que los animales están evocando la memoria apetitiva cuando el tiempo dentro del puerto durante el CS+ es significativamente mayor que durante el CS-. En el paradigma aversivo, el *freezing* fue considerado como la respuesta condicionada y se definió como la ausencia de movimiento, exceptuando los movimientos respiratorios (Fanselow, 1980). Como medida operativa de la memoria aversiva, se utilizó el porcentaje de tiempo en *freezing* durante el CS, asumiendo que los animales evocan la memoria cuando dicho porcentaje es significativamente mayor durante el CS+ que durante el CS-. Se definieron etapas tempranas y tardías dentro de cada fase del experimento, en base a los períodos en los que los animales evocaron las distintas memorias. En el paradigma aversivo, el *Entrenamiento Temprano* consistió en el primer ensayo (CS1) mientras que el *Entrenamiento Tardío* se definió como el último ensayo (CS3). La *Extinción Temprana* incluyó los primeros cuatro ensayos (CS1-4), la *Extinción Tardía* los últimos cuatro (CS17-20), y el Testeo de la reinstalación los primeros dos ensayos (CS1-2). En el paradigma apetitivo, el *Entrenamiento Temprano* abarcó las dos primeras sesiones de entrenamiento, y el *Entrenamiento Tardío* las dos últimas. La *Extinción Temprana* se definió como los primeros 20 ensayos de la sesión de extinción (CS1-20), y la *Extinción Tardía* como los últimos 20 ensayos de dicha sesión (CS41-60). El criterio de aprendizaje en el paradigma aversivo se estableció como una diferencia significativa entre el CS+ y el CS- durante la Extinción 1 Temprana, mientras que, en el paradigma apetitivo, se definió como la presencia de diferencias significativas entre CS+ y CS- durante dos sesiones consecutivas de entrenamiento, al promediar toda la sesión. En ambos paradigmas, el índice de respuesta al CS+ o CS- se definió como la diferencia entre la respuesta durante el CS y la respuesta durante el periodo previo (Pre: 5 seg. en el apetitivo, 20 seg. en el aversivo). A su vez, el índice de discriminación se calculó como la diferencia entre la respuesta al CS+ y la respuesta al CS-. Para los análisis que evaluaron la progresión del comportamiento, el cambio en el índice de respuesta o en el índice de discriminación se calculó como la diferencia entre el valor final y el valor inicial dentro de la fase correspondiente (por ejemplo, *Entrenamiento Tardío* - *Entrenamiento Temprano*). Es importante señalar que, en todos los casos, las respuestas durante el Pre fueron normalizadas según la duración de este período, garantizando así comparaciones equitativas entre condiciones. El período post CS en el paradigma apetitivo fue definido como los 5 segundos inmediatamente posteriores al final del estímulo condicionado.

M.3.2. Aceleración y detección del *freezing* o movimiento

Como se mencionó anteriormente, el *freezing* se definió como la ausencia de movimiento, exceptuando por los movimientos respiratorios. La inmovilidad se detectó analizando la aceleración de los animales. Esto se logró mediante un acelerómetro triaxial (**Fig. 9A**; ADXL335, Analog Devices) que es parte del circuito integrado del amplificador de señal electrofisiológica (RHD2132, Intan Technologies; **Fig. 9B**). El acelerómetro mide la aceleración en los ejes XYZ y genera una señal de voltaje proporcional, registrada a una tasa de 30 kHz en simultáneo con la señal electrofisiológica. Para su calibración, la señal se registró en dos posiciones por cada eje: una con el eje alineado con la gravedad (+1 g) y otra con el dispositivo invertido (-1 g). A partir de estas mediciones, se calculó la sensibilidad del sensor y el nivel de referencia (0 g) para convertir posteriormente los valores de voltaje en valores de aceleración. A partir de estos valores de aceleración en cada eje, se calculó la **magnitud de la aceleración** (**Fig. 9C**) como la norma del vector de aceleración en los tres ejes, utilizando la fórmula:

$$|a| = \sqrt{a_x^2 + a_y^2 + a_z^2}$$

Con el fin de detectar los eventos de ***freezing***, primero se detectaron períodos de inmovilidad a partir de la magnitud de la aceleración. La señal de aceleración fue filtrada entre 0,25 y 6 Hz para suavizarla

y eliminar componentes de alta frecuencia. Dado que los cambios en la aceleración están relacionados con la actividad locomotora del animal, se calculó el desvío estándar en ventanas de 100 ms, estableciendo un umbral arbitrario de 0,004, por debajo del cual se definieron los eventos de inmovilidad (Fig. 9D). Solo se consideraron aquellos con una duración mayor o igual a 1 segundo (10 ventanas consecutivas), y se incluyeron dentro de la inmovilidad los períodos de duración menor a 500 ms entre dos eventos de inmovilidad consecutivos. Para diferenciar los eventos de *freezing* de entre los eventos de inmovilidad, se analizó la actividad en mPFC en la banda de 0 a 1,5 Hz, característica del sueño lento (Steriade et al., 1993; Achermann y Borbely, 1997). Se clasificó como evento de *freezing* a aquellos episodios de inmovilidad que no presentaban actividad en la banda de ondas lentas (0-1,5 Hz), mientras que aquellos con un patrón compatible con sueño fueron descartados. Para ello, se promediaron previamente las señales LFP de las regiones PL e IL, y a partir de esta señal combinada se calculó la potencia promedio en la banda de 0-1,5 Hz para cada instante de tiempo, se normalizó mediante z-score y se estableció un umbral de 0,5. Se consideró que existía activación significativa en esta banda cuando la potencia superaba dicho umbral. La detección de eventos de **movimiento** se realizó mediante un procedimiento similar. Se estableció un umbral de 0,05 en el desvío estándar, por encima del cual se definieron los eventos de movimiento. Sólo se incluyeron aquellos eventos con una duración mínima de 1 segundo. Se incorporaron como parte del evento de movimiento a aquellos intervalos menores a 500 ms entre dos eventos consecutivos, salvo en los casos en que dicho intervalo incluyera un evento de *freezing*.

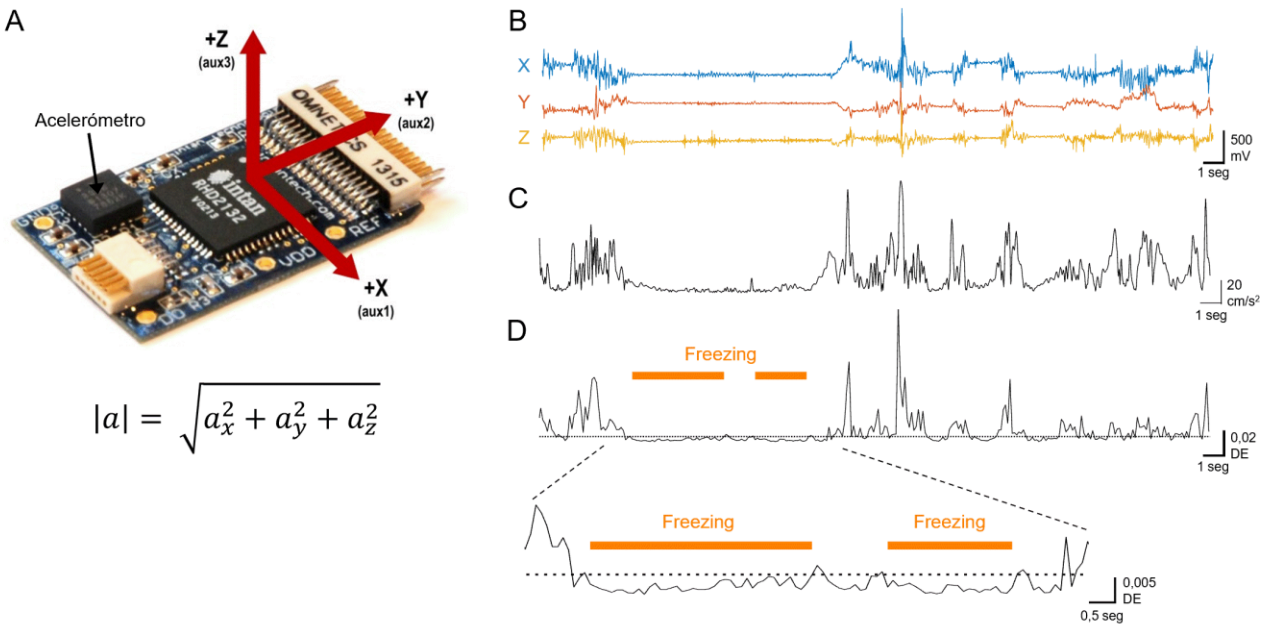


Figura 9. Registro y análisis de acelerómetro para la detección del *freezing* y movimiento. A. Imagen del amplificador Intan RHD2132 utilizado en los experimentos que integra un acelerómetro triaxial ADXL335 en el circuito, con sus ejes de referencia (+X, +Y, +Z). La magnitud del vector de aceleración total se calculó utilizando la ecuación mostrada. **B.** Señales de aceleración registradas en los ejes X (azul), Y (naranja) y Z (amarillo) a modo de ejemplo, durante la exploración libre del animal. **C.** Magnitud del vector de aceleración total a lo largo del tiempo para la señal de ejemplo. **D.** Identificación de eventos de *freezing* (segmentos naranjas) mediante la aplicación de un umbral (línea punteada) en el desvío estándar del vector de aceleración total. Se muestra también una ampliación del momento en el que ocurren los eventos de *freezing*. La figura del amplificador fue adaptada del datasheet del mismo (Intan Tech.).

M.3.3. Registros de video y detección del *freezing*

La actividad de los animales fue registrada mediante una cámara cenital (Libercam Rec-80) con iluminación infrarroja. Los datos de la cámara fueron transferidos a la computadora de registro y adquiridos en tiempo real a 30 fps mediante un algoritmo personalizado basado en el software Bonsai (Lopes et al., 2015). Posteriormente, el video fue preprocesado para estimar el movimiento del animal mediante el cálculo de la variación en la intensidad de cada píxel entre fotogramas consecutivos. La suma de estas diferencias para cada fotograma permitió obtener una señal unidimensional que refleja el nivel de movimiento cuadro a cuadro. Esta señal resultó ser un buen indicador del estado conductual del animal. Esta señal fue estandarizada (z-score) y se estableció un umbral manual de 0,02, por debajo del cual se definieron los eventos de *freezing*. Solo se consideraron aquellos con una duración mayor o igual a 1 segundo. La detección automática de *freezing* mediante video, y la cuantificación manual en un subconjunto de animales, permitieron validar el método con acelerómetro. Este análisis por video representa el método más utilizado en la literatura para detectar *freezing* en estudios conductuales. La ventaja de este método es que posibilitó la cuantificación del *freezing* durante las sesiones de entrenamiento aversivo, en las cuales solo se registró el video, evitando posibles daños en los dispositivos de registro electrofisiológico por parte del sistema de estimulación eléctrica. Por otro lado, la desventaja de este método es que tiene una menor resolución temporal, razón por la que se decidió utilizar el método del acelerómetro.

M.3.4. Detección automática de eventos

Los distintos eventos de la tarea generados por el circuito de control de Arduino, incluyendo la presentación de tonos, la entrega de refuerzos positivos y negativos, el inicio y fin de la sesión y un evento rítmico de sincronización (200 ms prendido, 500 ms apagado), fueron enviados mediante señales TTL (pulsos de 5V) al sistema de adquisición electrofisiológica y registrados en tiempo real y de manera simultánea. Estos TTL fueron incorporados al sistema a través de una placa de entradas y salidas con conectores BNC (Input/Output Board, OpenEphys). El evento rítmico de sincronización, junto con la presentación de los tonos, también fueron visibles en el video a través del encendido de LEDs infrarrojos (LEDs 5mm de 940 nm), perceptibles para el experimentador, pero no para el animal. La adquisición de este evento tanto en el video como en la señal electrofisiológica permitió ubicar temporalmente los fotogramas del video en los tiempos del registro y sincronizar de forma precisa ambas fuentes de información. Además, durante el condicionamiento apetitivo se detectó la entrada del animal al puerto y el consumo de la recompensa mediante haces de luz infrarroja (**Fig. 10B**). La interrupción de estos haces generaba señales TTL, las cuales eran también registradas junto con la adquisición electrofisiológica.

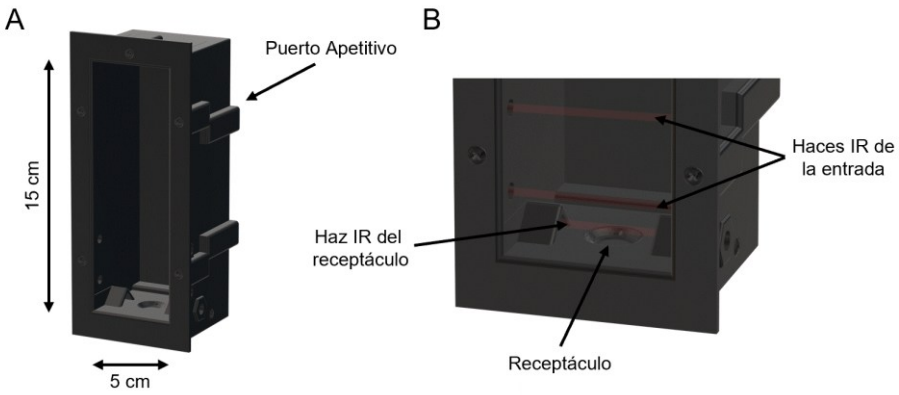


Figura 10. Puerto apetitivo utilizado en el paradigma de condicionamiento apetitivo. A. Vista general del puerto apetitivo. Se observa el acceso frontal de 5x15 cm, diseñado para permitir la entrada de los animales implantados. **B.** Detalle del receptáculo y de los haces infrarrojos (IR) para la detección automática de las entradas y del consumo de sacarosa.

M.4. Sistema de automatización y control con Arduino

Para la automatización y el control de los distintos estímulos y sensores del experimento, se utilizó un sistema basado en Arduino Uno (Arduino SA), una plataforma de hardware libre que permitió desarrollar un circuito (**Fig. 11B**) para controlar estímulos como la luz ambiente, tonos auditivos, el shock eléctrico y un solenoide para la administración de la solución de sacarosa mediante el uso de circuitos de conmutación con transistor. Asimismo, permitió registrar eventos de comportamiento a través de sensores infrarrojos (par de LEDs 5mm infrarrojos emisor/receptor de 940 nm) ubicados en el puerto apetitivo (ver **Fig. 10**), cuyos datos fueron procesados como entradas digitales. Además, Arduino facilitó la sincronización de señales con el sistema de adquisición neurofisiológica mediante la emisión de pulsos TTL. Se empleó una placa Arduino Uno (**Fig. 11A**), programada en su entorno de desarrollo con rutinas que se fueron diseñadas específicamente para estos experimentos.

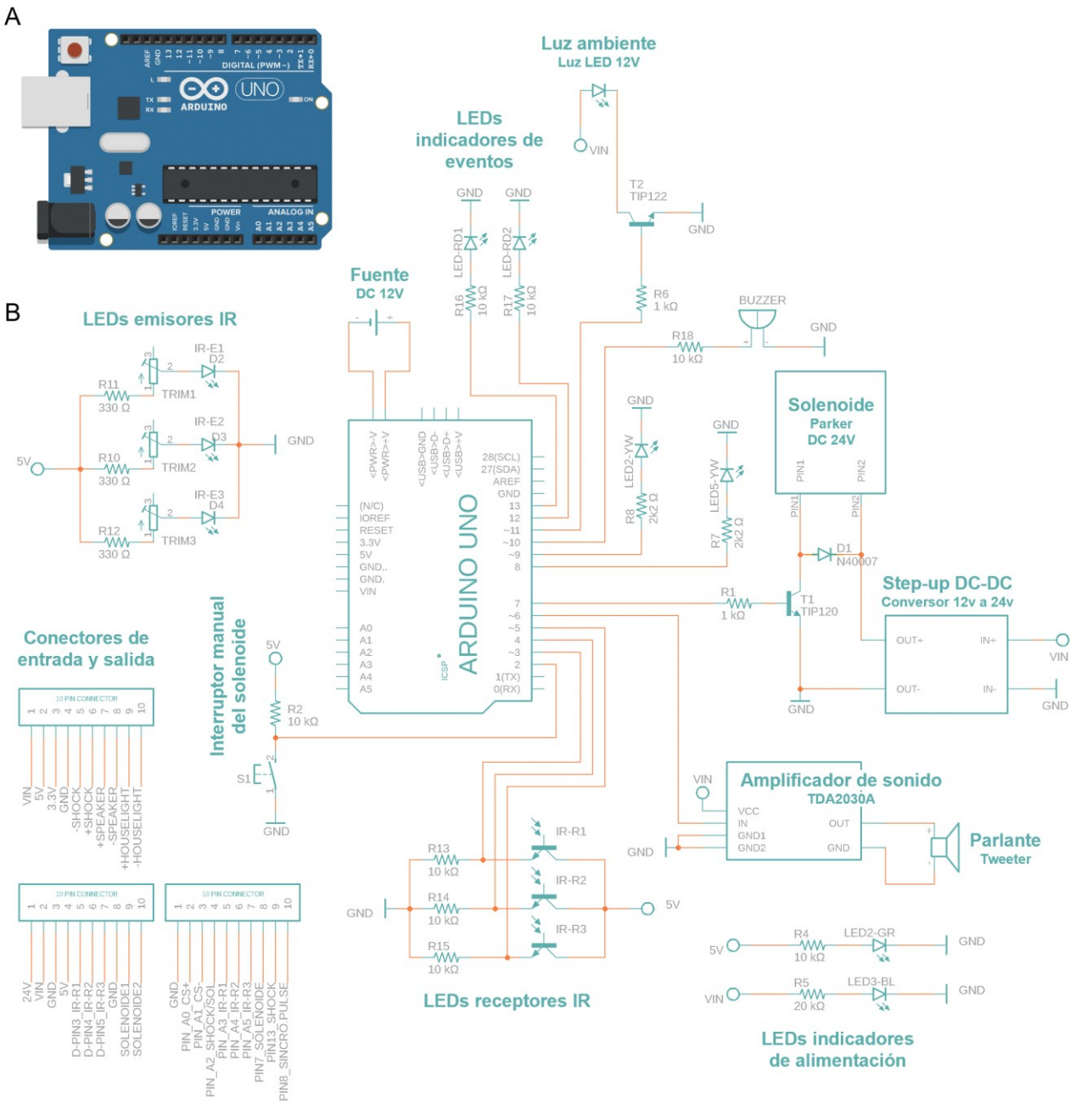


Figura 11. Diagrama de circuito del sistema de control basado en Arduino. A. Placa Arduino Uno, en donde se pueden observar los distintos pines de conexión digital y analógica, como de alimentación. Imagen extraída de Thinkercad (Autodesk Thinkercad). **B.** Esquema del circuito de conexión de los distintos dispositivos: LEDs emisores y receptores IR, LEDs indicadores de alimentación, interruptor manual del solenoide, solenoide para la administración de la sacarosa, amplificador de sonido, parlante para la administración de los tonos, conversor DC-DC para la alimentación del solenoide a 24V, y los conectores de entrada y salida para el control del sistema. Esquema desarrollado en EAGLE (Autodesk EAGLE).

M.5. Electrodos de registro

Los electrodos de registro para la mPFC consistieron en un arreglo de 7 electrodos individuales (7 canales), fabricados con alambre de tungsteno 99,95% con aislación de teflón (PTFE) (California Fine Wire Company, USA) con un diámetro de 50 µm (Fig. 12G). Estos alambres fueron pegados entre sí con cianoacrilato, manteniendo una separación de ~0,1 mm entre ellos, y posteriormente

adheridos a una cánula metálica de 36G para proporcionar rigidez estructural (**Fig. 12D**). Los electrodos fueron cortados a diferentes longitudes con una separación de 0,3-0,5 mm, siendo el más largo de 11,5 mm, para poder alcanzar ambas regiones de la mPFC (PL e IL) simultáneamente (**Fig. 12G**). Para la BLA, se utilizó un arreglo de 14 tetrodos (56 canales). Cada uno construido trenzando 4 alambres de tungsteno 99,95% con aislación de teflón (PTFE) con un diámetro de 12 µm (California Fine Wire Company, USA, **Fig. 12E**). Cada tetrodo fue enhebrado en tubos de poliamida de 75 µm de diámetro interno, las cuales a su vez fueron pegadas entre sí con cianoacrilato y adheridas a una cánula metálica de 36G para proporcionar rigidez estructural (**Fig. 12D**). Los tetrodos se dispusieron con una separación de 0,2 mm y fueron cortados a una longitud uniforme de 9 mm. El arreglo final adoptó una configuración 7x2, donde el eje más ancho se orientó en la dirección medial-lateral dentro de la BLA, mientras que el eje más angosto se alineó en la dirección anteroposterior (**Fig. 12E**). Los electrodos y tetrodos fueron conectados a una placa perforada mediante pines de oro (EIB Pins Small; Neuralynx; **Fig. 12D**) y, posteriormente, al amplificador a través de dos conectores Omnetics macho (**Fig. 12C**; A79030-001 NPD-36-DD-GS, Omnetics Connector Corp.). Para optimizar la conductividad y equiparar la impedancia de los electrodos, el día previo a la cirugía se realizó un recubrimiento con partículas de oro mediante electrodeposición, hasta alcanzar una impedancia de 150-200 kΩ. Posteriormente, los electrodos fueron sumergidos en solución fisiológica (NaC 0,9%, B. Braun SE) para eliminar posibles impurezas, y se verificó nuevamente la impedancia en la misma solución. El día de la cirugía, cada electrodo fue embebido en un colorante fluorescente (DiI o DiO: fluorescent lipophilic cationic indocarbocyanine dye, Thermo-Fisher, EE.UU.). Debido a su naturaleza lipofílica, este colorante tiñe las membranas celulares, lo que mejora la visualización de la trayectoria del electrodo y facilita la identificación del sitio de registro al finalizar el experimento (Vandecasteele et al., 2012). Los electrodos de la mPFC fueron teñidos con el mismo dye (DiI estándar), mientras que para los electrodos de la BLA se utilizaron dos variantes de dye: una para los tetrodos ubicados en la parte anterior del arreglo (DiI estándar) y otra para los tetrodos más posteriores (DiO), (ver **Fig. 13D-E**). Estos arreglos de electrodos fueron fijados a dos micromanipuladores (**Fig. 12B**; metal microdrive v9, Vöröslakos et al., 2021), los cuales permitieron el descenso controlado de los electrodos (282 µm por vuelta de tornillo) a lo largo del eje dorsoventral durante los distintos días de la tarea, facilitando así el registro de diferentes neuronas en cada sesión. Para el registro del ritmo respiratorio (Ottoson, 1955; Ottoson, 1960), se utilizó un electrodo de tungsteno de 50 µm, con los últimos 700 µm desprovistos de aislación y la punta doblada 1 mm en forma de L para facilitar una inserción estable. El electrodo se conectó al mismo conector Omnetics que el resto de los electrodos. El implante fue protegido mediante la colocación de un cabezal de plástico PLA impreso en 3D (**Fig. 12C**; rat cap v8; Voroslakos et al., 2021). Este cabezal contaba con una malla de cobre en sus paredes internas, las cuales estaban conectadas a tierra, funcionando como una caja de Faraday para minimizar interferencias electromagnéticas y mejorar la calidad del registro neuronal.

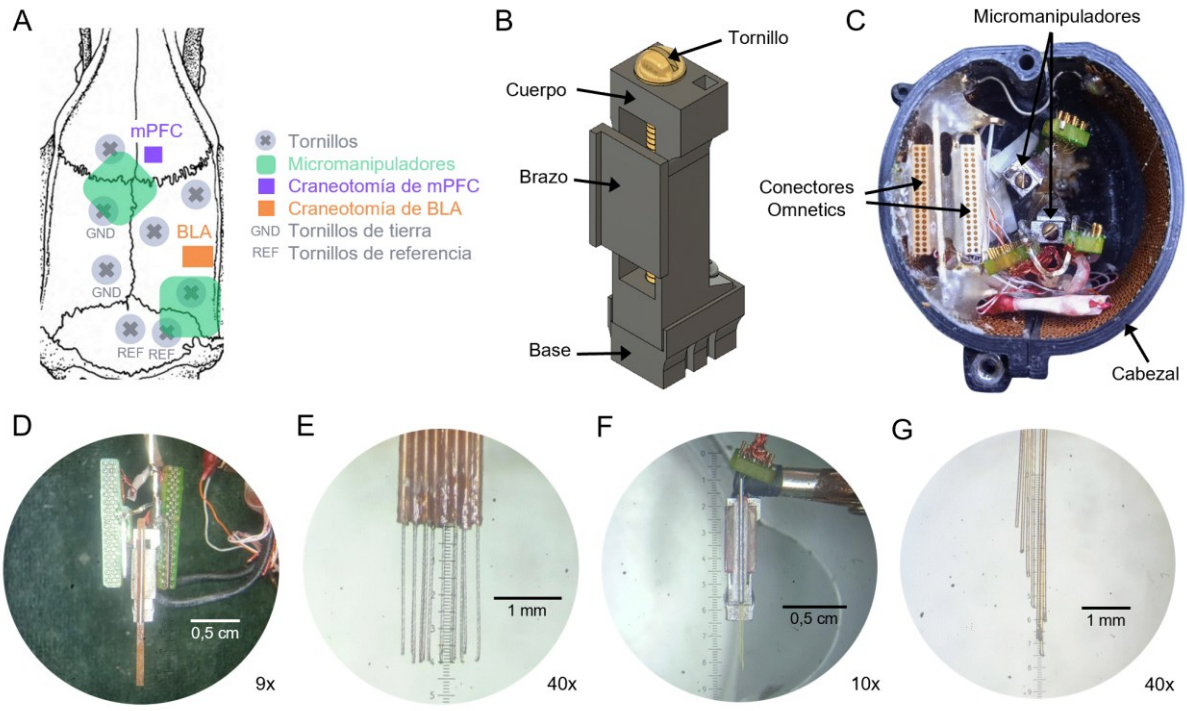


Figura 12. Configuración del implante. A. Esquema que muestra la ubicación con relación al cráneo de los micromanipuladores (verde) y las craneotomías en mPFC (violeta) y BLA (naranja), con la ubicación de los tornillos de referencia (REF), de tierra (GND) y de soporte. **B.** Modelo 3D de los micromanipuladores, donde se puede observar las distintas partes que lo componen como el tornillo, el cuerpo, el brazo y la base. **C.** Vista superior del implante, donde se puede observar la posición final de los conectores Omnetics y de los Micromanipuladores. **D-G.** Imágenes de los distintos arreglos de electrodos bajo diferentes aumentos: **D**. Implante de BLA en donde se puede observar las placas de conexión y las poliamidas que llevan los electrodos, adheridos al brazo del micromanipulador, **E.** Vista detallada del arreglo de 7x2 tetrodos para BLA. **F.** Implante de mPFC en donde se puede ver los electrodos y la cánula de soporte adheridas al brazo del micromanipulador. **G.** Vista detallada del arreglo de 7 electrodos de mPFC. La línea en las imágenes indica la escala.

M.6. Cirugías e implantación de electrodos

Se implantaron dos micromanipuladores, uno dirigido a la mPFC (Fig. 12F) y otro a la BLA (Fig. 12D). La anestesia se indujo con isoflurano (flujo de aire: 0,8-1,0 l/min, 4% en O_2 durante 3 minutos para la inducción y 0,5-1% para el mantenimiento, ajustado según las condiciones fisiológicas). Al inicio de la intervención, se administró una inyección subcutánea de dexametasona (0,5-2 mg/kg) como antiinflamatorio, lidocaína (0,2 mg/kg) como anestésico local en la parte superior de la cabeza y una inyección intraperitoneal de atropina (1 mg/ml) para reducir secreciones. Tras la inducción de la anestesia, los animales fueron fijados en un marco estereotáxico (David Kopf Instruments, Tujunga, CA) y su estado físico se monitoreó visualmente durante toda la cirugía, asegurando una temperatura corporal de 37°C (± 0,5) mediante una manta térmica con retroalimentación (Fine Science Tools, Vancouver, Canadá) y humectando sus ojos con Artelac para prevenir resequedad. Se colocaron ocho tornillos (#00-80 x 1/8"; Small Parts Inc.) en el cráneo (Fig. 12A) para soporte y anclaje. De estos, dos fueron utilizados de referencia (en contacto con el cerebelo, REF) y dos como tierra (sin contacto con el líquido cefalorraquídeo, GND); se conectó un tornillo de referencia y uno de tierra, dejando el par extra como respaldo en caso de problemas en la señal. Los tornillos fueron conectados al conector Omnetics mediante cables de 36 AWG 7/44 (Phoenix Wire Inc.) y adheridos al cráneo mediante cemento de resina adhesiva de curado dual (High-Q-Bond SE, BJM Lab). Se realizaron craneotomías para la implantación de los electrodos dirigidos a mPFC (AP: 2,8; ML: 1,4; DV: -4,8) y BLA (AP: -2,8; ML: 5,0; DV: -7,8), siendo la craneotomía de mPFC de 1,5 x 1,5 mm y la de BLA de 2,5 x 1,5 mm (Fig. 12A). Los tetrodos se bajaron hasta posicionar la punta de estos 1 mm por encima

de las estructuras objetivo, según las referencias estereotáxicas. Estas coordenadas fueron calculadas según Paxinos y Watson, 2006, tomando como referencia bregma para la posición anteroposterior (AP), la línea media para la posición mediolateral (ML) y la superficie de la corteza para la posición dorsoventral (DV). La coordenada de mPFC fue seleccionada para que la punta del electrodo más largo alcanzara la región IL, de modo que los demás electrodos se ubicaran tanto en el IL como en el PL (Fig. 13A). Para el registro del ritmo respiratorio, se realizó una craneotomía en la porción anterior del hueso nasal (AP: 3,5 mm desde la sutura frontonasal, ML: 0,7 mm desde la línea media) hasta exponer el epitelio olfatorio. El electrodo se insertó en el tejido epitelial blando y se fijó al cráneo con cianoacrilato para garantizar su estabilidad. Se utilizó acrílico dental para fijar al cráneo tanto los micromanipuladores como la base del cabezal. Al finalizar la cirugía, se cerraron las tapas laterales y superior del cabezal, se administró una inyección intraperitoneal de meloxicam (1 mg/kg) como analgésico para reducir el dolor postoperatorio y una inyección intraperitoneal de enrofloxacina (1 mg/ml) como antibiótico para prevenir infecciones. Se trasladó al animal a su jaula hasta su recuperación, administrando enrofloxacina en el agua de bebida (0,1 ml/100 ml) durante 5 días para prevenir infecciones. Se monitoreó el estado general del animal, su peso y movilidad diariamente, asegurando una recuperación adecuada y la estabilidad del implante a largo plazo. Luego de este período y previo a los experimentos, los electrodos de mPFC y BLA se descendieron gradualmente hasta alcanzar las estructuras deseadas (Fig. 13A-E).

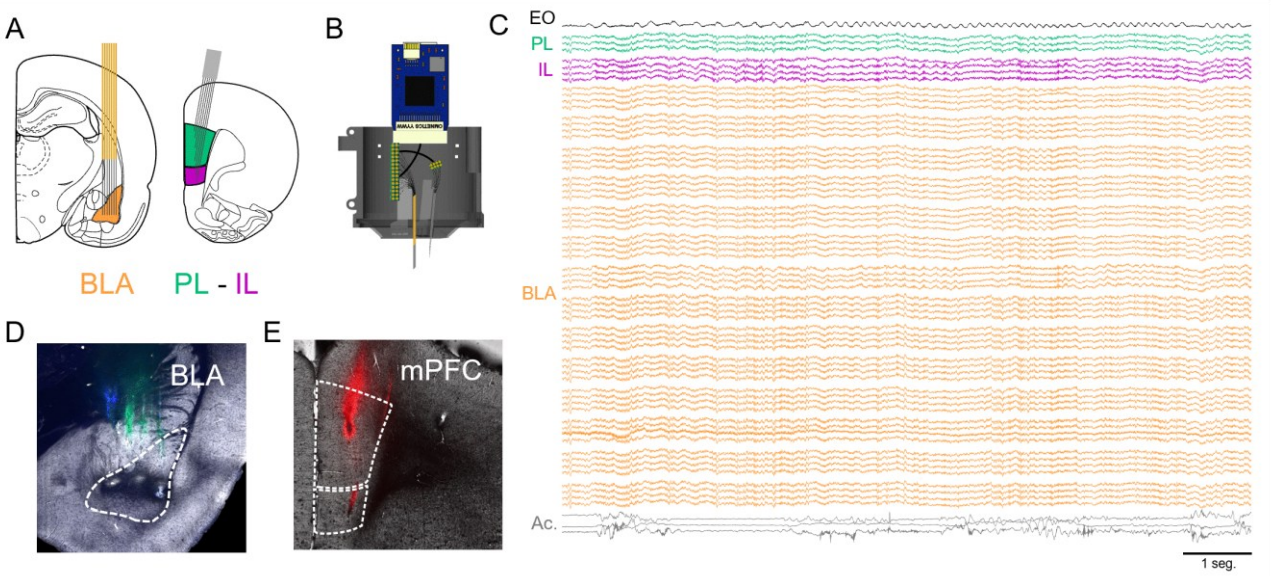


Figura 13. Registros electrofisiológicos en BLA y mPFC. A. Esquema de la implantación del arreglo de 14 tetrodos en la BLA (naranja) y 7 electrodos en la mPFC (PL-IL, en verde y violeta respectivamente). **B.** Esquema del implante utilizado, donde se muestra el amplificador Intan RHD2132 conectado a la placa perforada a través del conector Omnetics. En la placa, los electrodos están conectados mediante pines de oro. Además, se muestran el cabezal utilizado y ambos micromanipuladores. **C.** Señales de LFP de un animal de ejemplo registradas simultáneamente en EO, en la mPFC (PL e IL) y en la BLA, así como también la señal de los tres ejes de acelerómetro (Ac.). **D-E.** Imágenes de los cortes histológicos bajo el microscopio de fluorescencia mediante los cuales se realizó la confirmación histológica de los sitios de implantación de electrodos en la BLA y la mPFC. La señal coloreada corresponde a la señal de fluorescencia del Dil estándar (señal roja en mPFC o verde en BLA) y del DiO (señal azul en BLA).

M.7. Adquisición de las señales electrofisiológicas

Los registros electrofisiológicos fueron realizados en las diferentes estructuras cerebrales (Fig. 13A). Para la adquisición de las señales, los electrodos fueron conectados diariamente a dos amplificadores RHD2132 de 32 canales cada uno (Fig. 13B; Intan Technologies) mediante dos

conectores Omnetics macho (**Fig. 12C**; A79030-001 NPD-36-DD-GS, Omnetics Connector Corp.). Las señales de banda ancha (0,1 Hz - 9,8 kHz) fueron adquiridas a una frecuencia de muestreo de 30 kHz (**Fig. 13C**). La señal fue digitalizada y multiplexada en el amplificador, y posteriormente transmitida al sistema de adquisición OpenEphys (Siegle et al., 2017) a través de un cable Litz de 12 hilos (diámetro externo del cable: 0,63 mm). El sistema de adquisición fue conectado a tierra, permitiendo reducir el ruido de línea (50 Hz) y optimizando así la relación señal-ruido y minimizando artefactos eléctricos. Mediante el software de adquisición de OpenEphys, se registró la señal electrofisiológica de banda ancha, junto con la señal de los eventos TTL. Se registró en todos los ensayos, con excepción de la fase de entrenamiento aversivo, para evitar dañar el equipo de registro durante la estimulación eléctrica. Para maximizar la detección de actividad neuronal en la BLA, los electrodos implantados en esta región fueron desplazados entre 20 y 100 µm al finalizar cada sesión o 1-2 horas antes del inicio de una nueva sesión de registro. De este modo, se garantizó la captura de nuevas neuronas en cada sesión. Las unidades registradas en distintas sesiones comportamentales fueron consideradas independientes.

M.8. Análisis del potencial de campo local (LFP)

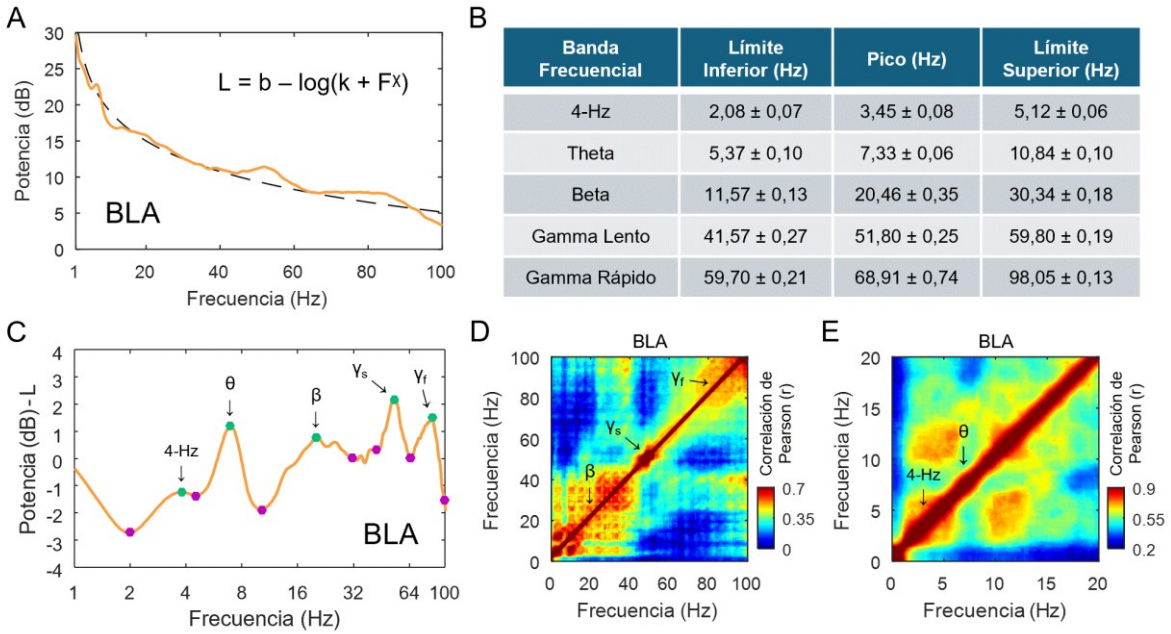
M.8.1. Preprocesamiento de la señal y análisis espectral

Para el análisis de LFP, se seleccionó un canal representativo de cada estructura (BLA, PL, IL y EO), asegurando que la señal no presentara ruido o artefactos y verificando que estuviera dentro de la estructura de interés. Los datos en bruto, almacenados en formato binario, fueron filtrados en MATLAB con un filtro pasabanda Butterworth de 4° orden sin distorsión de fase (0,1-300 Hz) y submuestreados a 1250 Hz (Nyquist, 1928, 1924; Whittaker, 1935; Shannon, 1948, 1949) para extraer la componente de potencial de campo local (LFP). En todos los análisis posteriores donde fue necesario filtrar la señal en un rango específico de frecuencias, se utilizó este mismo método de filtrado. La visualización y el análisis exploratorio de los datos de LFP se realizaron utilizando Neuroscope (https://neurosuite.sourceforge.net/; Hazan et al., 2006). El análisis espectral se realizó mediante el método de estimación espectral directa multitaper de Thompson (Thomson, 1982) e implementado la función mtspecgramc.m del toolbox de Chronux (http://chronux.org/, Mitra, 2007). Este método emplea múltiples funciones ventana, conocidas como "tapers" de Slepian, que permiten reducir la variabilidad en la estimación espectral. Al aplicar estas múltiples ventanas, se obtiene una representación más precisa y confiable de cómo se distribuye la potencia de la señal a lo largo de las distintas frecuencias. Los espectrogramas fueron calculados con una ventana móvil de 3 seg desplazada cada 0,5 seg (*overlap* del 83%), un producto tiempo-ancho de banda (TW) de 3 y 5 tapers, analizando en un rango de 1-100 Hz. Para el análisis del EO, el rango de frecuencia se restringió a 1-12 Hz. Los espectrogramas fueron almacenados en matrices (frecuencia x tiempo) para su posterior análisis. Para el análisis espectral, tanto en la estimación de los espectros de potencia (PSD) como en la representación de los espectrogramas, la potencia fue normalizada dividiendo cada ventana temporal por un espectro de referencia o línea de base, calculado como la mediana del espectro de potencia a lo largo de toda la sesión. Este procedimiento eliminó sesgos por variaciones absolutas en la amplitud de la señal entre animales y resaltó los cambios relativos en la actividad oscilatoria. Los límites de las bandas frecuenciales fueron determinados a partir del espectro de potencias promedio de BLA, PL e IL, ajustando la siguiente función de Lorentz para modelar el componente aperiódico de la señal y aislar el componente periódico, asociado a las oscilaciones neuronales (**Fig. 14A**; Donoghue et al., 2020):

$$L = b - \log(k + F^{x})$$

Donde L representa el componente aperiódico del espectro, b es un parámetro de desplazamiento vertical que ajusta la posición del modelo en el eje y, k es un parámetro que controla la curvatura de

la función, F es la frecuencia en Hz y x un exponente que determina la pendiente del decaimiento espectral. A partir del espectro residual, se identificaron los máximos y mínimos locales de cada registro, lo que permitió definir los límites de cada banda y sus respectivas frecuencias pico, incluyendo 4-Hz, theta, beta, gamma lento y gamma rápido (**Fig. 14C**). Los valores promedio de estos límites y sus respectivos intervalos de confianza del 95% empleados en los análisis (obtenidos a partir del análisis de todas las sesiones y animales empleados en esta tesis, incluyendo tanto el paradigma aversivo como el apetitivo) se presentan en la Tabla de la **Fig. 14B**. Para complementar este análisis, se evaluó la relación entre frecuencias dentro de una misma región cerebral mediante autocomodulogramas, calculados como la media de la autocorrelación de los espectrogramas para cada sesión (**Fig. 14D-E**). Se empleó el coeficiente de correlación de Pearson, que mide la relación lineal entre dos variables, donde r = 1 indica una correlación perfecta, r ≈ 0 la ausencia de relación y r = -1 correlación inversa. En la **Fig. 14D-E**, la matriz de correlación en la BLA revela tanto la interacción entre las frecuencias dentro de una misma banda como la relación entre diferentes bandas frecuenciales, confirmando la precisión de los límites establecidos previamente. A partir de este análisis, se fijaron los límites de las bandas frecuenciales en los siguientes rangos: 4-Hz (2-5 Hz), theta (5-11 Hz), beta (12-30 Hz), gamma lento (42-60 Hz) y gamma rápido (60-100 Hz). Estos rangos fueron utilizados de forma consistente en todos los análisis posteriores. Para la cuantificación de la potencia durante eventos específicos de la tarea, se utilizó una normalización basada en z-score, pero calculada a partir de la mediana (z-score modificado; Iglewicz et al., 1993), donde cada frecuencia del espectrograma fue expresada en función de su mediana a lo largo de toda la sesión y de su desvío absoluto de la mediana (MAD). Este enfoque fue elegido por su robustez frente a valores atípicos y ruidos en la señal, en contraste con la normalización mediante un z-score tradicional, que es más susceptible a la presencia de artefactos. Luego, se obtuvo una única serie temporal de potencia por banda de frecuencia, calculando la mediana de la potencia en todas las frecuencias que componen cada banda. Finalmente, para cada evento de la tarea, se extrajo la mediana de la potencia dentro de la ventana temporal correspondiente. En los análisis de potencia, tanto durante la presentación de los tonos como en los eventos comportamentales, la cuantificación se realizó considerando la totalidad del evento, desde su inicio hasta su finalización. Se excluyeron del análisis aquellos eventos que presentaban artefactos en la señal, identificados como momentos en los que el voltaje del LFP excedía en más de 10 MAD respecto a la mediana de la señal.



Banda Frecuencial	Límite Inferior (Hz)	Pico (Hz)	Límite Superior (Hz)
4-Hz	2,08 ± 0,07	3,45 ± 0,08	5,12 ± 0,06
Theta	5,37 ± 0,10	7,33 ± 0,06	10,84 ± 0,10
Beta	11,57 ± 0,13	20,46 ± 0,35	30,34 ± 0,18
Gamma Lento	41,57 ± 0,27	51,80 ± 0,25	59,80 ± 0,19
Gamma Rápido	59,70 ± 0,21	68,91 ± 0,74	98,05 ± 0,13

Figura 14. Determinación de los límites de las bandas frecuenciales. A. Ajuste del espectro de potencia mediante una función de Lorentz (línea discontinua negra) para modelar el componente aperiódico de la señal. El trazo naranja representa el PSD sin corregir. **B**. Tabla con los valores de límites inferiores, picos de frecuencia y límites superiores de las distintas bandas frecuenciales, calculados a partir del espectro de potencias. **C.** Espectro de potencia en un animal de ejemplo, con el componente aperiódico sustraído, mostrando los picos (verde) y los límites (violeta) calculados para cada banda. **D.** Autocomodulograma promedio de la BLA, representando la correlación entre frecuencias dentro de la misma región. Se observan correlaciones significativas dentro de las bandas frecuenciales calculadas, y diferentes relaciones entre bandas de frecuencias distintas. **E.** Detalle del autocomodulograma en el rango de las frecuencias bajas, resaltando la relación entre las oscilaciones de 4-Hz y Theta.

M.8.2. Clasificación de eventos *freezing* 4-Hz y *freezing* theta

Para clasificar los eventos de *freezing* como enriquecidos en 4 Hz o en theta, se analizó la potencia de estas bandas en BLA, PL e IL durante cada evento. A partir de los espectrogramas, la potencia en cada frecuencia fue normalizada dividiéndola por la mediana de potencia de toda la sesión para esa frecuencia, según el método previamente descrito para la potencia normalizada. Luego, la potencia de cada banda se obtuvo calculando la mediana de las frecuencias que la componen y, posteriormente, la mediana dentro de la ventana temporal del evento. Para cada evento y región, se determinó la relación entre la potencia en 4 Hz y en theta, y el promedio de estas relaciones en las tres regiones se utilizó para la clasificación: los eventos con un valor superior a 1 fueron categorizados como *freezing* 4-Hz, mientras que aquellos con un valor menor o igual a 1 fueron clasificados como *freezing* theta.

M.8.3. Sincronización entre estructuras

Para estudiar la sincronización entre estructuras (BLA, PL e IL), se emplearon distintos métodos que permiten evaluar diferentes aspectos de la relación funcional entre regiones. Se calculó el **espectro cruzado**, una medida que permite cuantificar la covarianza en frecuencia entre señales de distintas regiones cerebrales, proporcionando información sobre cómo varían conjuntamente a lo largo del espectro. Este se obtiene a partir de la transformada de Fourier de la función de correlación cruzada en el dominio del tiempo, permitiendo evaluar la interdependencia espectral entre ambas señales

(Mitra, 2007). En la práctica, el espectro cruzado en función del tiempo (espectrograma cruzado) se estimó mediante el método multitaper, utilizando la función cohgramc del *toolbox* de Chronux, con los mismos parámetros empleados para el cálculo del espectro de una sola señal, incluyendo el tamaño de ventana, solapamiento, producto tiempo-ancho de banda (TW) y número de tapers previamente descriptos (ver **M.8.1**). La **coherencia** $\hat{C}_{12}(f)$, por otro lado, es una medida normalizada que cuantifica la correlación entre dos señales en función de la frecuencia (Mitra, 2007), tomando valores entre 0 y 1. Se calcula como:

$$\hat{C}_{12}(f) = \frac{\hat{S}_{12}(f)}{\sqrt{\hat{S}_1(f)\,\hat{S}_2(f)}}$$

donde $\hat{S}_{12}(f)$ es el espectro cruzado entre las dos señales, y $\hat{S}_1(f)$, $\hat{S}_2(f)$ son los espectros de potencia de cada señal. Este análisis tiene la limitación de que si una de las señales tiene muy poca potencia en una frecuencia dada (es decir, $\hat{S}_1(f)$ o $\hat{S}_2(f)$ cercano a cero), la coherencia puede dar valores artificialmente altos, aun cuando no exista una correlación real en esa frecuencia. Por ello, se tuvo en cuenta que ambas señales tengan un componente relevante en la frecuencia analizada al momento de calcular la coherencia. Dado que se basa en el espectro cruzado, esta métrica permite evaluar la relación entre señales a lo largo del espectro de frecuencias, reflejando el grado de sincronización oscilatoria tanto en amplitud como en fase. Una coherencia cercana a 1 indica una fuerte relación en una frecuencia específica, mientras que un valor cercano a 0 sugiere independencia entre las señales en esa banda. También se calculó el **acoplamiento de fase** (*Phase-Locking Value*, PLV) para evaluar la consistencia de la diferencia de fase entre pares de señales en distintas bandas de frecuencia, utilizando la fase instantánea de cada banda de frecuencias. El PLV cuantifica qué tan sincronizadas permanecen dos señales en términos de fase a lo largo del tiempo, proporcionando una medida de la estabilidad de la diferencia de fase entre ellas (Lachaux et al., 1999; González et al., 2020). Para calcularlo, se filtró cada señal en una banda de frecuencia específica, se extrajo la fase instantánea de cada señal mediante la transformada de Hilbert y luego se evaluó la relación de fase entre las señales con la siguiente fórmula:

$$PLV_t = \frac{1}{N}\left|\sum_{n=1}^{N} \exp(j\theta(t,n))\right|$$

donde $\theta(t,n)$ es la diferencia de fase entre las dos señales. Si la diferencia de fase varía poco a lo largo de los ensayos, el PLV toma valores cercanos a 1, mientras que, si esta varía mucho, el PLV toma valores cercanos a 0. Finalmente, se calculó la **causalidad de Granger**, que estima la influencia direccional entre estructuras al determinar si la información de una señal puede predecir la información de la otra, ajustando un modelo autorregresivo (VAR) y comparando la varianza del error de predicción cuando al modelo se le incluye la información de la segunda señal ($Var[\in]$), o cuando no se la incluye ($Var[e]$):

$$GC = log\left(\frac{Var[e]}{Var[\in]}\right)$$

Para este análisis, se utilizó el *toolbox* de causalidad de Granger multivariada (MVGC Toolbox; Barnett y Seth, 2014). Antes del análisis, la señal fue submuestreada a 250 Hz con el objetivo de reducir la complejidad computacional en la estimación del modelo. Un muestreo excesivamente alto podría requerir un orden VAR demasiado elevado, lo que aumentaría la cantidad de parámetros a estimar y podría generar un sobreajuste de los datos. El submuestreo a 250 Hz preserva la información relevante para este análisis sin comprometer la estimación del modelo. El orden del modelo se determinó después de comparar varios modelos con distinto número de orden (de 1 a 30), evaluando el ajuste de cada uno mediante el criterio de información de Akaike (AIC). El orden que

resultó en el menor valor de AIC fue 8, por lo que se lo fijó en este valor. Para determinar la direccionalidad predominante de la influencia entre las señales, se calculó la causalidad en ambas direcciones (es decir, de la región A→B y de B→A) y se compararon estadísticamente. Si una de las direcciones mostraba una causalidad estadísticamente más alta, se consideraba como la dirección causal predominante. En caso de que ambas direcciones no fueran estadísticamente significativas, se consideró que no había un predominio claro en la direccionalidad entre las señales. Estos análisis complementarios permiten una caracterización integral de la interacción entre la BLA, el PL y el IL, abordando tanto la sincronización en frecuencia como la dinámica temporal y la direccionalidad de la información entre las distintas regiones. La validez de estos análisis depende críticamente de la presencia de una oscilación definida en la señal de ambas regiones. En caso contrario, la estimación de parámetros derivados de la fase y de la dinámica oscilatoria se vuelve inherentemente ruidosa e inestable. En consecuencia, métricas como la coherencia, el acoplamiento de fase o la causalidad de Granger pueden volverse poco fiables en esas condiciones. Por este motivo, se consideraron únicamente aquellas bandas de frecuencia que presentaban una potencia definida y consistente en ambas estructuras, para cada estado comportamental. Esta condición se verificó mediante los espectros cruzados entre señales, lo que permitió identificar bandas con oscilaciones compartidas entre regiones.

M.8.4. Acoplamiento de fase-amplitud

Para estudiar la relación entre las oscilaciones de baja y alta frecuencia en una determinada región cerebral, se calcularon **comodulogramas de fase-amplitud** y se calculó el índice de modulación (MI) para cada par de fase y amplitud (Tort et al., 2008; Tort et al., 2010). La frecuencia de donde se obtiene la fase se evaluó en el rango de 1-30 Hz con un ancho de banda de 1 Hz y un paso de 1 Hz, mientras que la frecuencia de donde se obtiene la amplitud se evaluó en el rango de 1-100 Hz, con un ancho de banda de 5 Hz y un paso de 5 Hz. Se utilizó un filtro pasabanda y se calculó posteriormente la fase y amplitud de cada señal mediante la transformada de Hilbert. Este cálculo se realizó restringiendo la señal a los momentos específicos de cada evento de interés (por ejemplo, eventos *freezing*) y a aquellos momentos con amplitud significativa de la oscilación característica del tipo de evento analizado. Para identificar los momentos de amplitud significativa, se calculó la transformada de Hilbert de la señal filtrada en la banda de frecuencia de interés, se aplicó un z-score modificado (basado en la mediana; Iglewicz et al., 1993) y se estableció un umbral de 1 MAD (desvío absoluto de la mediana), por encima del cual se seleccionaron los momentos con amplitud significativa dentro de los eventos de interés. Se utilizaron datos agrupados, concatenando los segmentos de señal detectados previamente, debido a la sensibilidad del método al tamaño mínimo de la muestra. Además, se calculó un surrogado o *shift predictor* para cada evento, que sirvió como control. Este surrogado se construyó desplazando circularmente la fase de la señal, que actúa como predictor, en relación con la amplitud de la señal. Este cálculo se repitió 100 veces, variando el desplazamiento de la fase de manera aleatoria entre 1 y 20 segundos, y los resultados se promediaron en una sola matriz. Se consideró que una modulación era significativa cuando su valor superaba en más de 2 desviaciones estándar (DE) el promedio del *shift predictor*. Para investigar la relación entre la fase de una banda frecuencial fija y la amplitud de distintas frecuencias en una determinada región cerebral, se generaron comodulogramas de fase-amplitud como se describió previamente (Belluscio et al., 2012). La fase se extrajo mediante la transformada de Hilbert después de filtrar la señal con un filtro pasabanda. Se evaluaron varias bandas de amplitud (30-110 Hz) y se compararon los resultados con el surrogado.

M.9. Análisis de la actividad neuronal

M.9.1. Aislamiento y clasificación de las unidades

Para la detección de los potenciales de acción de las neuronas (PA) en los registros electrofisiológicos, se utilizó el algoritmo Kilosort2 en MATLAB, una herramienta avanzada de *spike sorting* diseñada específicamente para procesar datos obtenidos con electrodos de alta densidad (Pachitariu et al., 2016; Pachitaru et al., 2024). Se aplicó un filtro pasabanda en el rango de 300 Hz a 8 kHz (ops.fshigh = 300; ops.fslow = 8000) para aislar las frecuencias relevantes en la detección de PA neuronales y eliminar componentes no deseados. Este filtrado permitió eliminar la actividad de campo local (LFP) y los artefactos de movimiento en las bajas frecuencias (< 300 Hz), así como eliminar artefactos electrónicos y otras interferencias en las altas frecuencias (> 8 kHz). Tras el preprocesamiento, Kilosort2 detectó los posibles PA aplicando un umbral de amplitud, identificando aquellos eventos que superaban -4 desviaciones estándar en la señal bruta (ops.spkTh = -4). Luego, el algoritmo de Kilosort2 extrajo las formas de onda de los PA detectados y ajustó un modelo basado en plantillas representativas (*templates*) para representar cada unidad. A partir de esas plantillas, el algoritmo asignó cada evento a la plantilla que mejor explicaba su forma de onda mediante un procedimiento iterativo de coincidencia (*template matching*). Dado que, en los registros, múltiples neuronas pueden disparar simultáneamente y sus PA pueden solaparse temporalmente o tener formas de onda similares, Kilosort2 empleó un siguiente paso de deconvolución de plantillas (*template deconvolution*) que mejora la separación de PA superpuestos. Este proceso aplica un algoritmo de búsqueda de coincidencias recursiva (*matching pursuit*), en el que ajusta iterativamente las plantillas a los PA detectados, descomponiendo señales ruidosas o solapadas y corrigiendo interferencias entre eventos detectados en los mismos electrodos. Este procedimiento permite mejorar la precisión en la clasificación de los PA, asegurando que cada unidad neuronal identificada represente con fidelidad la actividad de una sola neurona. Una vez realizada la deconvolución, Kilosort2 utiliza un algoritmo de agrupamiento basado en optimización recursiva para separar los PA en grupos o clústeres que representan posibles neuronas individuales. El proceso de agrupamiento se basa en las características de las formas de onda y la sincronización temporal de los PA, ajustando la clasificación a medida que el algoritmo procesa más datos. Para refinar aún más los resultados, se realizó una curación manual utilizando la interfaz gráfica Phy, que permitió revisar y corregir los clústeres obtenidos por el algoritmo automático de Kilosort2. Durante la curación manual, se evaluaron distintos parámetros que permitieron fusionar clústeres con características similares, descartar clústeres ruidosos, y separar clústeres que contenían la actividad combinada de múltiples unidades. En primer lugar, se evaluó la amplitud y forma del PA para determinar la calidad de los clústeres y diferenciar entre unidades neuronales genuinas y artefactos (**Fig. 15A**). Se analizó la consistencia de la forma de onda a lo largo del tiempo de registro, asegurando que no presentara variaciones abruptas que pudieran indicar errores de clasificación. Asimismo, se examinó la estabilidad de la amplitud, dado que fluctuaciones excesivas pueden sugerir la mezcla de múltiples fuentes o la pérdida de señal (**Fig. 15D**). Se analizaron los clústeres con amplitudes extremadamente bajas, cercanas al umbral de detección, así como a aquellos con formas atípicas, que podrían corresponder a ruido, unidades neuronales mal aisladas o errores en la detección de los PA. Se analizaron las proyecciones en espacios de reducción dimensional, o componentes principales (PCA), para evaluar la cohesión de dentro de un mismo clúster y la separación entre distintos clústeres (**Fig. 15E**). Se verificó que los PA dentro de un mismo clúster formaran un grupo compacto, sin dispersiones excesivas que sugirieran la mezcla de múltiples unidades o la presencia de artefactos. También se examinó el grado de solapamiento entre clústeres, ya que una separación insuficiente indicaría una clasificación inadecuada o la necesidad de fusionar unidades. Se analizó mediante un autocorrelograma (ACG) la independencia temporal de cada unidad neuronal (**Fig. 15C**), verificando la presencia de un valle alrededor del tiempo cero (±1-2 ms) que refleja el período refractario e indica que los PA dentro de un clúster provienen de una única neurona. Además, se

examinó la distribución del ACG, ya que patrones atípicos podrían sugerir la presencia de ruido o una clasificación incorrecta del clúster. Por otro lado, se evaluó mediante correlogramas cruzados (CCG) la presencia de un pico pronunciado a tiempo cero (**Fig. 15C**), lo que indica una correlación alta entre dos clústeres. Esto podría sugerir que pertenecen a una misma unidad y, por lo tanto, deberían fusionarse. En contraste, clústeres que muestran una distribución dispersa y sin correlaciones respaldan la independencia de las unidades identificadas. También se evaluó el intervalo entre los PA (ISI, *Inter-Spike Interval*) como criterio para validar la correcta clasificación de los clústeres (**Fig. 15B**). Se verificó la ausencia de ISIs anormalmente cortos (<1-2 ms), ya que la presencia de valores en esta ventana temporal de periodo refractario podría indicar la fusión errónea de dos neuronas en un mismo clúster o la presencia de PA espurios. El curado manual permitió mejorar la clasificación de los clústeres, aumentando la probabilidad de que cada unidad neuronal identificada correspondiera a una fuente neuronal real. Los distintos criterios evaluados facilitaron la fusión de clústeres redundantes, la separación de clústeres que contenían múltiples unidades y la eliminación de aquellos que correspondían a ruido o artefactos. Como resultado, los clústeres fueron clasificados en tres categorías: (1) aquellos con actividad de unidad única (*single-unit activity*, SUA), (2) aquellos con actividad de unidades múltiples (*multi-unit activity*, MUA), los cuales no pudieron separarse en unidades individuales de manera manual debido a su solapamiento en el espacio de características, y (3) clústeres ruidosos, que no cumplían con los criterios de una señal neuronal clara. A lo largo de todas las sesiones registradas, se aislaron un total de 3056 clústeres de la BLA que cumplieron con los criterios de calidad adecuados para su análisis, de los cuales 993 (32,5% SUA) correspondieron a unidades únicas y 2063 (67,5% MUA) a unidades múltiples.

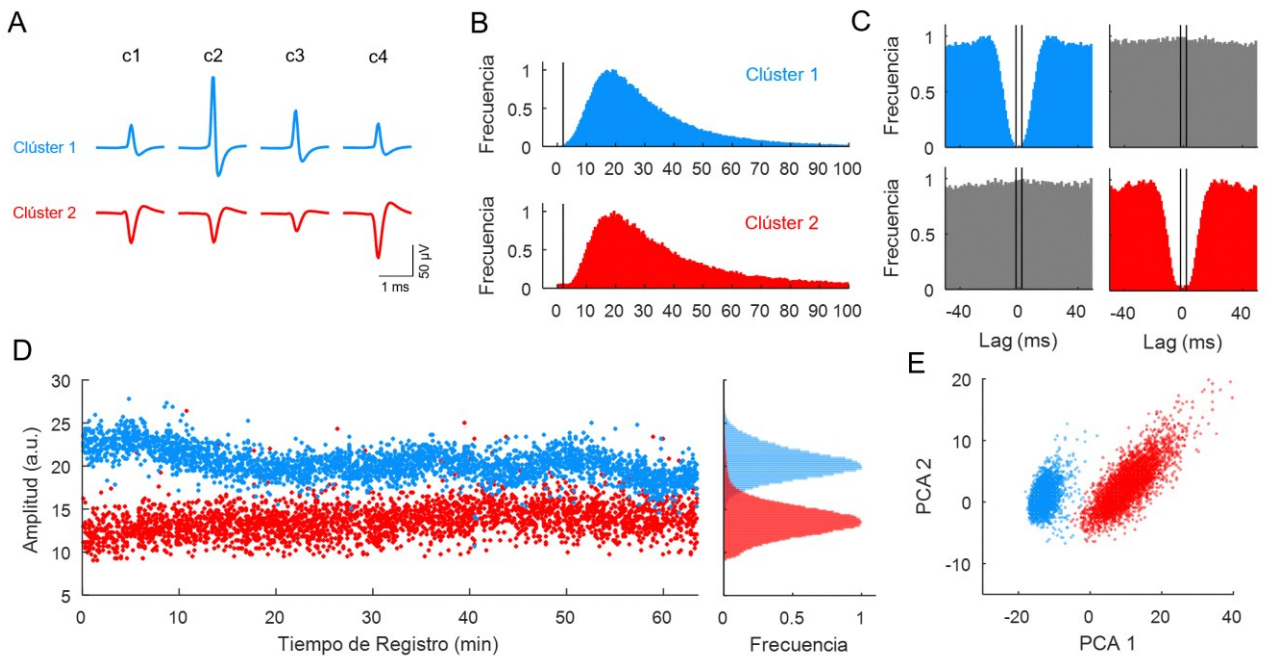


Figura 15. Curado manual de los clústeres de neuronas utilizando Phy. A. Formas de onda promedio de cada cluster en los cuatro canales de un mismo tetrodo, donde cada color representa un cluster distinto. **B.** Histograma de intervalos entre PA, que muestra la distribución de los tiempos entre eventos consecutivos en milisegundos. La línea vertical en 2 ms indica el período refractario utilizado como criterio para evaluar la calidad del clúster. **C.** Autocorrelogramas (en color) y crosscorrelogramas (en gris), que representan la frecuencia de ocurrencia de PA en función del tiempo relativo a un PA de referencia, tanto dentro de cada clúster (autocorrelogramas) como entre clústeres distintos (crosscorrelogramas). Las líneas verticales en ±2 ms permiten identificar el período refractario y posibles contaminaciones entre unidades. **D.** Evolución de la amplitud de los PA (valor absoluto del pico negativo) a lo largo del tiempo de registro, donde cada punto representa un PA. Para mejorar la visualización, se submuestrearon 2000 PA por clúster. A la derecha, se presentan histogramas de la distribución de amplitudes para cada clúster. **E.** Representación de los clústeres en un espacio de componentes principales

(PCA) aplicado a una serie de características de los PA, mostrando la separación entre clústeres distintos y la cohesión dentro de cada clúster. En todos los histogramas, la cantidad de PA se expresa como frecuencia relativa, normalizada al máximo de cada distribución.

M.9.2. Análisis de la respuesta neuronal a eventos

Para analizar la actividad de las neuronas de la amígdala basolateral (BLA) en relación con distintos eventos, se consideraron exclusivamente las unidades únicas (*single-unit activity*, SUA). A partir del vector de tiempos de disparo de cada neurona, se calcularon histogramas peri-evento (PETH, ver **R.2.7** y **R.4.5**) de los PA alineados a distintos eventos, utilizando la función mpsth del *toolbox* MLIB (Stüttgen, 2025) en MATLAB. Los PETH se generaron en una ventana temporal de -2000 a 2000 ms con respecto al inicio del evento, usando un tamaño de bin de 200 ms para la estimación de la tasa de disparo. Para normalizar los valores de tasa de disparo (FR), se calculó un z-score tomando como periodo de referencia una ventana de -5000 a -500 ms previa al evento. Solo se consideraron para el análisis aquellas neuronas cuya tasa de disparo promedio superara los 0,4 Hz y con al menos 150 PA totales. La clasificación de las neuronas en función de su respuesta a cada evento se realizó en base a la actividad registrada en una ventana de 800 ms desde el inicio del evento. Se calculó el valor medio del z-score en dicho intervalo y, en función de este, las neuronas fueron categorizadas como excitadas si el valor medio era mayor o igual a 1, inhibidas si era menor o igual a -1, y no respondientes si no cumplían con ninguno de estos criterios. Finalmente, se generó una base de datos que incluyó todas las neuronas analizadas y su clasificación para cada evento, representada mediante valores de 1, 0 o -1 según correspondiera a una respuesta excitatoria, ausencia de respuesta o inhibición, respectivamente. Esta base de datos se utilizó en los análisis posteriores para calcular el porcentaje de neuronas que respondieron en cada condición experimental.

M.9.3. Acople de la actividad neuronal a los ritmos oscilatorios

Para evaluar el acoplamiento de la actividad neuronal a los distintos ritmos oscilatorios, se analizó la relación de las neuronas de la BLA con las oscilaciones presentes en la mPFC, específicamente en las regiones PL e IL. Para este análisis se usó como referencia al LFP de PL e IL ya que el objetivo es el de evaluar cómo es la comunicación entre estructuras. Además, de esta manera, se evita cualquier contaminación de los potenciales de acción sobre la fase de la oscilación del mismo electrodo. Para obtener la fase de la oscilación, la señal de LFP fue filtrada en la banda de frecuencia de interés, luego de lo cual se aplicó la transformada de Hilbert para obtener la fase y la amplitud. Con el fin de restringir el análisis a los momentos en los que la oscilación estuviera presente, se seleccionaron únicamente aquellos PA que coincidían con segmentos del LFP en los que la amplitud de la oscilación superaba en al menos una desviación absoluta mediana (MAD) a la mediana. Estos segmentos también se limitaron a los períodos correspondientes al comportamiento analizado en cada caso. Para cada PA, se determinó la fase de la oscilación en el momento del disparo, y se evaluó la preferencia de fase utilizando el test de Rayleigh, implementado mediante la función circ_rtest del *Circular Statistics Toolbox* en MATLAB (Berens, 2025, ver **R.2.7** y **R.4.5**). La fase se segmentó en 20 bines dentro del intervalo de $-\pi$ a π, y se consideró que una neurona estaba significativamente acoplada a la oscilación cuando cumplía con dos criterios: haber registrado al menos 20 PA y presentar un valor de $p < 0,05$ en el test de Rayleigh. Para analizar el acoplamiento a nivel poblacional, se empleó la misma metodología, pero utilizando la dirección del vector de preferencia de fase de cada neurona.

M.10. Detección del ritmo respiratorio

Para calcular el espectro de potencia (PSD) de los ritmos respiratorios durante cada tipo de evento comportamental, así como los valores de los picos en dichos ritmos, se utilizaron los datos de los espectrogramas del EO correspondientes a cada sesión experimental (ver **M.8.1**). A continuación, se calculó la mediana de las ventanas de tiempo asociadas a cada evento comportamental, lo que permitió obtener una estimación robusta del PSD para cada evento. Posteriormente, se calculó la mediana de todos los PSD de cada tipo de evento y se aplicó un suavizado mediante una ventana móvil de 5 puntos, lo que resultó en el PSD final para cada tipo de evento comportamental, junto con los valores de desvío absoluto de la mediana (MAD). Para determinar el pico en los ritmos respiratorios, se identificó el valor máximo dentro del PSD calculado, lo cual representó la frecuencia respiratoria principal de cada tipo de evento comportamental.

M.11. Análisis estadístico

Para analizar los datos comportamentales se utilizó el software Graphpad Prism 8 en donde se comprobó la normalidad y homocedasticidad de los datos y se aplicó un ANOVA de una o dos vías de medidas repetidas, dependiendo de la estructura del experimento y las variables evaluadas. En caso de detectar diferencias significativas, se realizaron comparaciones post-hoc utilizando el test de múltiples comparaciones, según las hipótesis planteadas. En el análisis de correlaciones de la respuesta comportamental, se empleó un ajuste lineal para explorar la relación entre las variables estudiadas. Este ajuste se realizó utilizando un modelo de regresión lineal. En el análisis de la actividad oscilatoria, se utilizó un modelo lineal generalizado mixto (GLMM) para modelar la relación entre las variables de interés. El modelo fue ajustado utilizando la función fitglme en MATLAB, en donde la fórmula utilizada para el modelo fue Vr ~ Ve + (1|Rata), donde Vr representa la variable respuesta a modelar, Ve indica la variable explicatoria, y el término (1|Rat) especifica el efecto aleatorio asociado a las ratas, modelando así la variabilidad intersujeto. Esto permite tener en cuenta las diferencias individuales entre los sujetos, lo que es crucial para controlar la variabilidad no explicada por el modelo y mejorar la precisión de las estimaciones de los efectos fijos. Dado que los datos de actividad oscilatoria no seguían una distribución normal, se optó por usar una distribución gamma con una función de enlace log. La distribución gamma es adecuada para modelar datos que son positivos y sesgados, y la función de enlace log es una función que relaciona la distribución de los datos con la predicción lineal del modelo. A los valores de potencia, se les sumó una constante mínima para garantizar que fueran estrictamente positivos, condición necesaria para aplicar modelos con distribución gamma. La elección de la distribución gamma se realizó después de comparar varios modelos utilizando diferentes distribuciones, evaluando el ajuste de cada uno mediante el criterio de AIC. La distribución que resultó en el menor valor de AIC fue la gamma, lo que sugiere que este modelo describe de manera más eficiente la naturaleza de los datos. El método de ajuste de Laplace fue seleccionado para optimizar el modelo, ya que es particularmente eficaz cuando se trabaja con modelos complejos y distribuciones no normales. Para evaluar si la potencia difiere significativamente de la línea de base, se realizó una prueba no paramétrica de rangos con signo de Wilcoxon contra un valor fijo, en este caso, cero. En los casos en que se compararon proporciones, se utilizó la prueba de chi cuadrado mediante la función chi2test en MATLAB, la cual evalúa si existe una diferencia significativa entre las frecuencias observadas y las frecuencias esperadas bajo una hipótesis nula de que las frecuencias están distribuidas por azar. Para analizar la preferencia de fase de la actividad neuronal, se utilizó el test de Rayleigh mediante la función circ_rtest del *Circular Statistics Toolbox* en MATLAB (Berens, 2025). Esta prueba estadística se emplea para determinar si la distribución de las preferencias de fase de las neuronas en un ciclo de oscilación sigue una distribución no uniforme, es decir, si existe una preferencia significativa por alguna fase dentro del ciclo. En los casos de neuronas acopladas significativamente a la fase, se reportaron el valor del estadístico Z, el p-valor,

la fase de preferencia y el tamaño del vector medio resultante de la distribución de fases a nivel poblacional. El test de Rayleigh calcula un vector medio de preferencia y evalúa la significancia estadística de dicha preferencia. En todos los casos en los que se realizaron comparaciones múltiples y para poder controlar el error de tipo I, se aplicó una corrección de Bonferroni para ajustar los p-valores. En todos los análisis, el nivel de significancia se estableció en 0,05 para el p-valor. Dado que el p-valor representa únicamente la probabilidad de obtener un resultado igual o más extremo bajo la hipótesis nula, pero no es proporcional al tamaño del efecto observado (Wasserstein et al., 2016), y considerando que algunos análisis incluyen un tamaño muestral elevado, lo que incrementa la sensibilidad de las pruebas estadísticas a efectos pequeños, decidimos complementar esta información con una medida de magnitud del efecto. Para ello, se calculó el índice de Cohen's d, que es una medida de diferencia entre dos grupos pesada por el desvío estándar de ambos grupos (Cohen, 1988). En el caso de los análisis de varianza (ANOVA), se utilizó eta cuadrado (η^2) como medida del tamaño del efecto, que indica la proporción de la varianza total (SS_{total}) explicada por el factor de interés (SS_{factor}) mediante la fórmula (1). Para facilitar la comparación con otras medidas reportadas en escala de d, los valores de η^2 fueron transformados a la escala de Cohen's (Fritz et al., 2012) utilizando la fórmula (2):

$$(1)\ \eta^2 = \frac{SS_{factor}}{SS_{total}} \qquad (2)\ d = \frac{2\sqrt{\eta^2}}{\sqrt{1-\eta^2}}$$

Cohen (1988) propone un criterio orientativo para clasificar el tamaño del efecto: valores de d inferiores a 0,2 indican un efecto nulo o marginal, valores entre 0,2 y 0,5 indican un efecto pequeño, valores entre 0,5 y 0,7 sugieren un efecto mediano, y valores mayores que 0,8 indican un efecto grande. En las figuras donde se presentan boxplots, estos muestran la mediana (línea horizontal dentro de la caja), el rango intercuartílico (caja) y los percentiles 10 y 90 (extremos de los bigotes). Además, los valores individuales se representan como puntos superpuestos. En esos casos, se reportó el p-valor y el tamaño del efecto para las comparaciones entre grupos, y solo el tamaño del efecto para las comparaciones contra la línea de base, a fin de evitar una sobrecarga en la figura, dado que la mayoría de los p-valores contra la línea de base resultaron significativos. En los análisis espectrales de densidad de potencia (PSD), se representó la mediana de la señal como línea central, y el desvío absoluto mediano (MAD) como área sombreada alrededor de dicha línea. En todos los casos en los que se reportó una comparación estadística, se informó de forma completa el estadístico, los grados de libertad, el p-valor y el tamaño del efecto de cada una. En cambio, cuando se describieron más de una comparación, y con el fin de evitar una sobrecarga de información en el texto y facilitar la lectura, se optó por agrupar los resultados, reportando un único p-valor y un único tamaño del efecto. Cuando las comparaciones no fueron significativas o presentaron tamaños del efecto despreciables, se reportó el menor p-valor y el mayor tamaño del efecto. En cambio, cuando se observaron efectos significativos o un efecto considerable, se reportó el mayor p-valor y el menor tamaño del efecto.

M.12. Histología

Una vez finalizados los experimentos, se realizaron lesiones electrolíticas en las regiones correspondientes a la ubicación de los electrodos, bajo anestesia profunda con isofluorano (1% en O_2). Para ello, se aplicó una corriente catódica de 30 µA (polo negativo en el electrodo) durante 10 segundos a través de cada electrodo del mPFC o de un canal de cada tetrodo en la BLA. Posteriormente, se monitoreó al animal hasta su completa recuperación. Al día siguiente de la lesión electrolítica, los animales fueron anestesiados mediante inyección intraperitoneal de uretano (1,4 gr/kg) y se procedió a la perfusión. El animal fue colocado en decúbito supino, se expuso la cavidad torácica y se inyectó 0,1 ml de heparina en el ventrículo izquierdo para evitar la coagulación. Luego,

se realizó una incisión en el ventrículo izquierdo para insertar la cánula de perfusión, junto con una incisión en la aurícula derecha para permitir el drenaje de los fluidos. Se realizó la perfusión con 200 ml de solución fisiológica para drenar la sangre circulante, seguida de 200 ml de paraformaldehído (PFA) al 4% para la fijación del tejido. La velocidad de inyección se controló mediante un sistema de goteo por gravedad. Una vez finalizado el procedimiento, se extrajo el cerebro y se almacenó durante 24 horas sumergido en PFA al 4% para su postfijación y conservación a 4°C. Posteriormente, se trasladó a una solución de sacarosa al 30% en PBS 0,1M a 4°C durante un período de 48 a 72 horas. Luego de este período, se procedió a cortar los cerebros con micrótomo (Leica SM2010R) en secciones coronales de 70 µm. Por último, se montaron los cortes coronales que contenían las regiones de la mPFC y la BLA en portaobjetos. Las imágenes de los cortes que contenían los trazos de los electrodos en las regiones de interés se adquirieron con un microscopio Zeiss Axio Imager M2 con software Neurolucida de MFBBioscience (con objetivos de 20X y 40X) utilizando luz transmitida y de fluorescencia. Mediante el empleo del atlas de cerebro de rata (Paxinos y Watson, 2006) se realizó la reconstrucción de la posición final de los electrodos en la mPFC y la BLA (**Fig. 16A-B**). Para ello se consideró la configuración geométrica de cada arreglo de electrodos y el trazo dejado por los dyes en los cortes. A partir de la posición final de los electrodos y del registro de los desplazamientos realizados en cada sesión, se reconstruyó la posición de los electrodos para cada día de registro. Sólo se tuvo en cuenta la actividad registrada por electrodos que se encontraban dentro de las áreas de interés. Se consideraron dentro de la BLA aquellos electrodos localizados en las subregiones basolateral anterior (BLa), basolateral posterior (BLP), basomedial posterior (BMP), lateral ventrolateral (LaVL), basolateral ventral (BLV) y lateral ventromedial (LaVM), que conforman el complejo basolateral de la amígdala (BLA). Por último, los cortes fueron teñidos con Safranina. El procedimiento consistió en sumergir los portaobjetos en una secuencia de 70% EtOH, Safranina, H_2O destilada, y una deshidratación progresiva con EtOH al 70%, 96%, 100%, seguida de Xilol. Luego se aplicó bálsamo sintético y se colocó un cubreobjetos, dejando secar durante 24 horas.

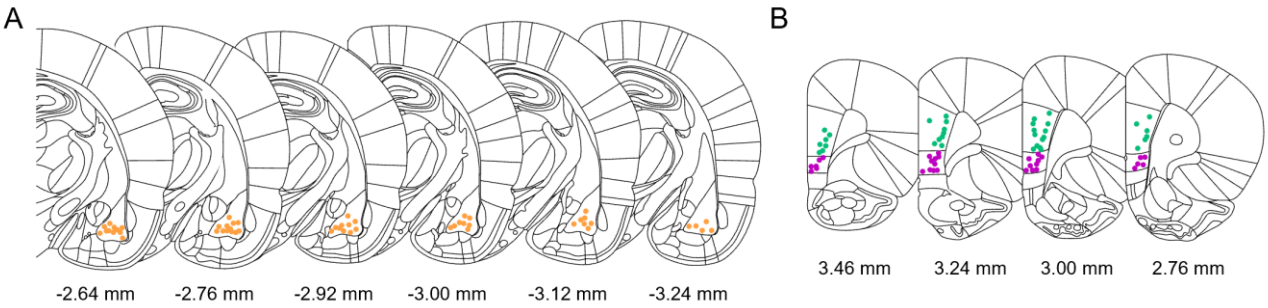


Figura 16. Ubicación de los sitios de registro en BLA y mPFC. A-B. Ubicación de la posición final de los electrodos en la BLA (**A**) y la mPFC (**B**) en los distintos cortes coronales del atlas de Paxinos y Watson (2006). Los valores corresponden a la coordenada anteroposterior del corte. Los puntos representan la posición final de los electrodos incluidos en el análisis, seleccionados por encontrarse dentro de las estructuras de interés: BLA (naranja), PL (verde) e IL (violeta).

Resultados

R.1. Condicionamiento aversivo: caracterización conductual de la memoria asociativa de miedo

R.1.1. Evolución de la memoria aversiva durante el protocolo

Para estudiar la dinámica neural involucrada en la evocación y extinción de una memoria asociativa aversiva, se implementó un paradigma de condicionamiento aversivo de tipo discriminativo. Durante el paradigma aversivo, se evaluó la evolución de la respuesta condicionada de *freezing* ante la presentación del estímulo condicionado reforzado (CS+), en comparación con un estímulo no reforzado (CS-) y el período previo a cada estímulo (Pre), a lo largo de cuatro fases: *Entrenamiento*, *Extinción 1*, *Extinción 2* y *Testeo* de la reinstalación (**Fig. 17A**). Durante el *Entrenamiento*, se observó un aumento progresivo del *freezing* a lo largo de los ensayos (**Fig. 17A**). El análisis mostró un efecto significativo de los ensayos ($F_{(2, 24)}$ = 5,45, p = 0,01), lo que indica que el nivel de *freezing* varió con las presentaciones sucesivas de los tonos. No se encontró un efecto principal del tipo de estímulo (CS+ vs. CS-; $F_{(1, 12)}$ = 0,004, p = 0,95), pero si una interacción ($F_{(2, 24)}$ = 3,44, p = 0,049), indicando que la evolución del *freezing* a lo largo de los ensayos fue diferente según el estímulo presentado. Durante el CS+ se observó un aumento significativo del *freezing* entre los primeros dos ensayos con respecto al último (ambos: p < 0,001). Por el contrario, para el CS- no se encontraron diferencias significativas entre ensayos (todas: p > 0,99), lo que sugiere que la respuesta condicionada aumentó gradualmente para el CS+, pero permaneció estable para el CS-. La respuesta no específica observada ante el CS- podría interpretarse como reflejo de la alta carga emocional durante el entrenamiento, en la que los animales tienden a responder de manera generalizada, independientemente del estímulo auditivo presentado. No obstante, esto no excluye que los animales estén aprendiendo la asociación específica entre el CS+ y el US, aunque esa discriminación no se manifieste plenamente durante el entrenamiento.

Durante la sesión de *Extinción 1*, los animales mostraron niveles elevados de *freezing* ante la presentación del CS+ al inicio de la sesión y una disminución progresiva, indicando un aprendizaje de que dicho estímulo ya no predice la ocurrencia del US (**Fig. 17A**). Se observó un efecto del tipo de estímulo (CS+ vs. CS-; $F_{(1,12)}$ = 12,21, p = 0,004), de los ensayos ($F_{(19,228)}$ = 3,13, p < 0,001), y una interacción significativa ($F_{(19,228)}$ = 2,57, p < 0,001). La presentación del CS+ evocó mayores niveles de *freezing* en comparación con el CS-, durante los tres primeros ensayos de la *Extinción 1* (todos: p < 0,001). En el ensayo 4, la diferencia ya no alcanzó significación estadística ($t_{(240)}$ = 2,97, p = 0,07), aunque el valor estuvo cercano al umbral de significancia. A partir del ensayo 5, las diferencias entre CS+ y CS- fueron sistemáticamente no significativas (todos: p > 0,13), lo que indica que el *freezing* al CS+ continuó disminuyendo progresivamente hasta igualarse con el del CS-. En conjunto, estos resultados muestran que, durante los primeros ensayos de la *Extinción 1*, los animales expresaron la memoria aprendida, mientras que en los ensayos posteriores la ausencia de respuesta sugiere la adquisición de una nueva memoria de extinción.

Durante la sesión de *Extinción 2*, los niveles de *freezing* se mantuvieron bajos para ambos estímulos (**Fig. 17A**). El análisis estadístico no reveló un efecto principal del tipo de estímulo ($F_{(1,12)}$ = 3,67, p = 0,08), ni de los ensayos ($F_{(19,228)}$ = 0,77, p = 0,74), ni una interacción significativa entre ambos factores ($F_{(19,228)}$ = 0,70, p = 0,82). Estos resultados indican que, en esta fase, la respuesta fue baja y similar entre condiciones a lo largo de toda la sesión. La ausencia de diferencias sugiere que los animales evocaron exitosamente la memoria de extinción adquirida previamente, suprimiendo la respuesta al CS+ durante los primeros ensayos y manteniendo niveles bajos de *freezing* durante el resto de la sesión. Durante la fase de *Testeo* de la reinstalación, se buscó confirmar que la memoria de miedo seguía presente en forma latente luego del proceso de extinción, mediante una manipulación diseñada para desencadenar la reaparición de la respuesta condicionada (**Fig. 17A**). El análisis

estadístico reveló un efecto significativo del tipo de estímulo ($F_{(1,10)}$ = 4,97, p = 0,049) y del número de ensayos ($F_{(4,40)}$ = 3,12, p = 0,026), mientras que la interacción no fue significativa ($F_{(4,40)}$ = 1,36, p = 0,27). Estos resultados indican que, en promedio, el *freezing* fue mayor ante el CS+ que ante el CS-, y que dicha respuesta cambió a lo largo de los ensayos, aunque sin una evolución diferencial clara entre estímulos. La diferencia entre CS+ y CS- fue significativa únicamente en el primer ensayo ($t_{(50)}$ = 2,74, p = 0,042), mientras que en los ensayos siguientes no se observaron diferencias significativas (todas: p > 0,36). Estos datos sugieren que la memoria aversiva fue efectivamente reinstalada, pero su expresión fue transitoria y se extinguió rápidamente en los ensayos posteriores. Esta dinámica contrasta con lo observado durante la *Extinción 1*, donde la reducción de la respuesta condicionada se produjo de forma más gradual. En este sentido, el *Testeo* de reinstalación funciona también como una nueva sesión de extinción, pero partiendo de una traza de memoria de extinción ya consolidada, lo cual probablemente facilita una supresión más rápida de la respuesta condicionada.

Dado que en cada fase del paradigma aversivo se observó un cambio progresivo en la expresión del *freezing*, se definieron etapas tempranas y tardías dentro de cada sesión con el objetivo de caracterizar etapas específicas del aprendizaje, evocación y extinción de la memoria (ver **M.3.1**). Esta división permite evaluar, por un lado, la evocación de memorias previamente consolidadas (en los primeros ensayos de cada fase) y, por otro, la adquisición de nuevos aprendizajes o ajustes comportamentales (en los ensayos finales). Con esta aproximación, se analizó la evolución del *freezing* durante las distintas etapas dentro de cada fase experimental. Durante el *Entrenamiento Temprano* (CS1; **Fig. 17B**), se observó un efecto significativo del tipo de estímulo ($F_{(2,12)}$ = 6,63, p = 0,01), aunque luego no se encontraron diferencias significativas entre CS+ y CS- o Pre (ambos: p > 0,27). Durante el *Entrenamiento Tardío* (CS3; **Fig. 17B**), el análisis reveló un efecto significativo del tipo de estímulo ($F_{(2,12)}$ = 11,29, p = 0,002), lo que indica que los animales discriminaron entre los estímulos en este ensayo. La respuesta al CS+ fue significativamente mayor que al período Pre ($t_{(12)}$ = 4,74, p = 0,001), mientras que no se observaron diferencias significativas entre CS- y Pre ni entre CS+ y CS- (ambos: p > 0,06). Esto sugiere que, hacia el final del entrenamiento, los animales comenzaron a responder selectivamente al CS+, aunque todavía persiste cierto *freezing* inespecífico ante el CS-, posiblemente debido a la alta carga emocional del contexto de entrenamiento. Durante la *Extinción 1 Temprana* (**Fig. 17B**), los animales mostraron una fuerte respuesta al CS+, en línea con la evocación de la memoria de miedo previamente adquirida. El análisis mostró un efecto significativo del tipo de estímulo ($F_{(2,12)}$ = 26,74, p < 0,0001), donde el *freezing* al CS+ fue significativamente mayor que al CS- y al Pre (ambos: p < 0,001), confirmando que la respuesta fue específica al estímulo previamente asociado con el US. Durante la *Extinción 1 Tardía* (**Fig. 17B**), hubo una marcada atenuación de la respuesta condicionada. Se observó un efecto significativo del estímulo ($F_{(2,12)}$ = 4,67, p = 0,03), donde el *freezing* al CS+ fue levemente superior al período Pre ($t_{(12)}$ = 2,97, p = 0,04), sin diferencias significativas ni entre CS- y Pre, ni entre CS+ y CS- (ambos: p > 0,17). Estos resultados muestran que hacia el final de la *Extinción 1* la respuesta al CS+ todavía superaba levemente los niveles basales, pero ya no se diferenciaba de la respuesta al CS-, evidenciando una pérdida de especificidad de la memoria original y una generalización de la supresión del *freezing* a ambos estímulos. Durante la *Extinción 2 Temprana* (**Fig. 17B**), las respuestas fueron reducidas y similares entre condiciones ($F_{(2,12)}$ = 2,91, p = 0,09). De forma equivalente, en la *Extinción 2 Tardía* (**Fig. 17B**) tampoco hubo diferencias significativas entre condiciones ($F_{(2,12)}$ = 2,25, p = 0,15). Estos resultados indican que la memoria de extinción consolidada previamente fue evocada de forma efectiva durante la *Extinción 2*, permitiendo una supresión sostenida y generalizada de la respuesta condicionada durante toda la sesión. Durante la sesión de *Testeo* de la reinstalación (**Fig. 17B**) volvió a verse un efecto significativo del estímulo ($F_{(2,10)}$ = 5,23, p = 0,03), donde los animales exhibieron niveles más altos de *freezing* en respuesta al CS+ en comparación con el CS- y con el Pre (ambos: p < 0,05). Estos resultados sugieren que la manipulación fue efectiva en reinstalar la memoria aversiva previamente adquirida, generando

nuevamente una respuesta específica al CS+. En conjunto, estos resultados muestran una progresión clara desde la adquisición de la memoria aversiva, su evocación y posterior extinción, hasta la reinstalación de la respuesta condicionada. Además, esta dinámica se manifiesta de manera clara y consistente en la conducta de *freezing*.

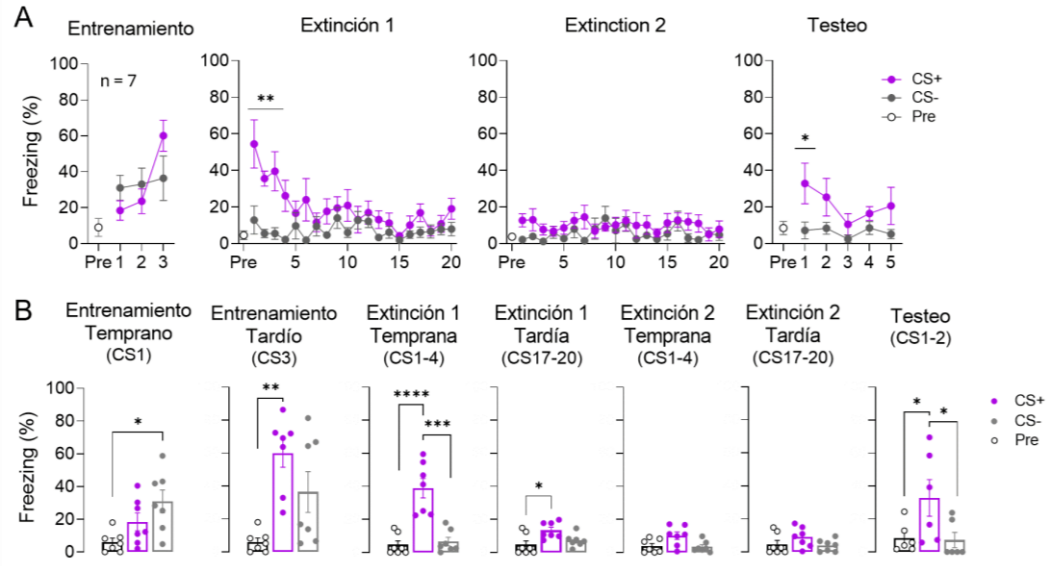


Figura 17. Evolución de la respuesta condicionada aversiva a lo largo del entrenamiento, la evocación, la extinción y el testeo de la reinstalación. A. Porcentaje de *freezing* durante la presentación del CS+ (violeta), CS- (gris) y el período previo (Pre, blanco) a lo largo de las diferentes fases del experimento: *Entrenamiento*, *Extinción 1*, *Extinción 2* y *Testeo* de reinstalación. Cada punto representa la respuesta media de los animales en cada ensayo. **B.** Comparación del *freezing* en distintas fases del experimento, considerando períodos tempranos y tardíos dentro de cada fase. En cada gráfico, los puntos individuales corresponden a cada animal. En todas las figuras, los datos representan la media ± error estándar de la media (SEM). Los asteriscos indican diferencias significativas en la comparación post hoc entre condiciones ($p < 0,05$: *, $p < 0,01$: **, $p < 0,001$: ***, $p < 0,0001$: ****).

R.1.2. Dinámica temporal de la conducta y evolución de la respuesta de miedo

Si analizamos la dinámica del *freezing* y de la aceleración de los animales durante la *Extinción 1 Temprana*, los animales, que evocaron de manera robusta la memoria aversiva, mostraron una alta probabilidad de *freezing* específica ante la presentación del CS+ (Fig. 18). Esta respuesta estuvo claramente acotada al período del tono, ya que pocos segundos después su probabilidad descendió, alcanzando niveles similares a los del CS-. Esta dinámica fue consistente a nivel individual, como se mostró en los eventos de *freezing* alineados por animal (Fig. 18A), y se acompañó de una marcada disminución en la aceleración (Fig. 18B). En contraste, el CS- no provocó *freezing* sostenido ni reducciones significativas en la aceleración; por el contrario, se observó una leve tendencia a un aumento en la aceleración durante su presentación (Fig. 18B), lo que refuerza la idea de una discriminación clara entre los estímulos. Hacia el final de la sesión, durante la *Extinción 1 Tardía*, la expresión del *freezing* disminuyó ante el CS+ (Fig. 18B), tanto a nivel grupal como en los eventos individuales (Fig. 18A). Además, los niveles de aceleración durante el CS+ y el CS- fueron similares (Fig. 18B). Aunque algunos animales continuaron mostrando eventos de *freezing*, estos fueron menos frecuentes y sostenidos que al inicio de la sesión. Durante la *Extinción 2*, tanto en su fase más *Temprana* como en la *Tardía*, los animales ya no respondieron de forma distinta al CS+ (Fig. 18). La probabilidad de *freezing* fue baja y no difirió de la observada ante el CS-. En paralelo, la aceleración se mantuvo relativamente estable y no se detectaron cambios abruptos al momento de

presentación de los estímulos. Luego de la manipulación de reinstalación, se observó una clara reaparición de la respuesta de *freezing* ante el CS+ (**Fig. 18B**). Esta respuesta no se presentó ante el CS- y se acompañó de una nueva caída en la aceleración, replicando el patrón observado al inicio de la *Extinción 1*.

En conjunto, estos resultados revelan una dinámica temporal bien definida: el *freezing* se expresó de forma específica durante el CS+ en la *Extinción 1 Temprana*, disminuyó progresivamente con la extinción y desapareció en fases tardías. La reinstalación reactivó este patrón, lo que confirma que la memoria aversiva persiste tras las sesiones de extinción.

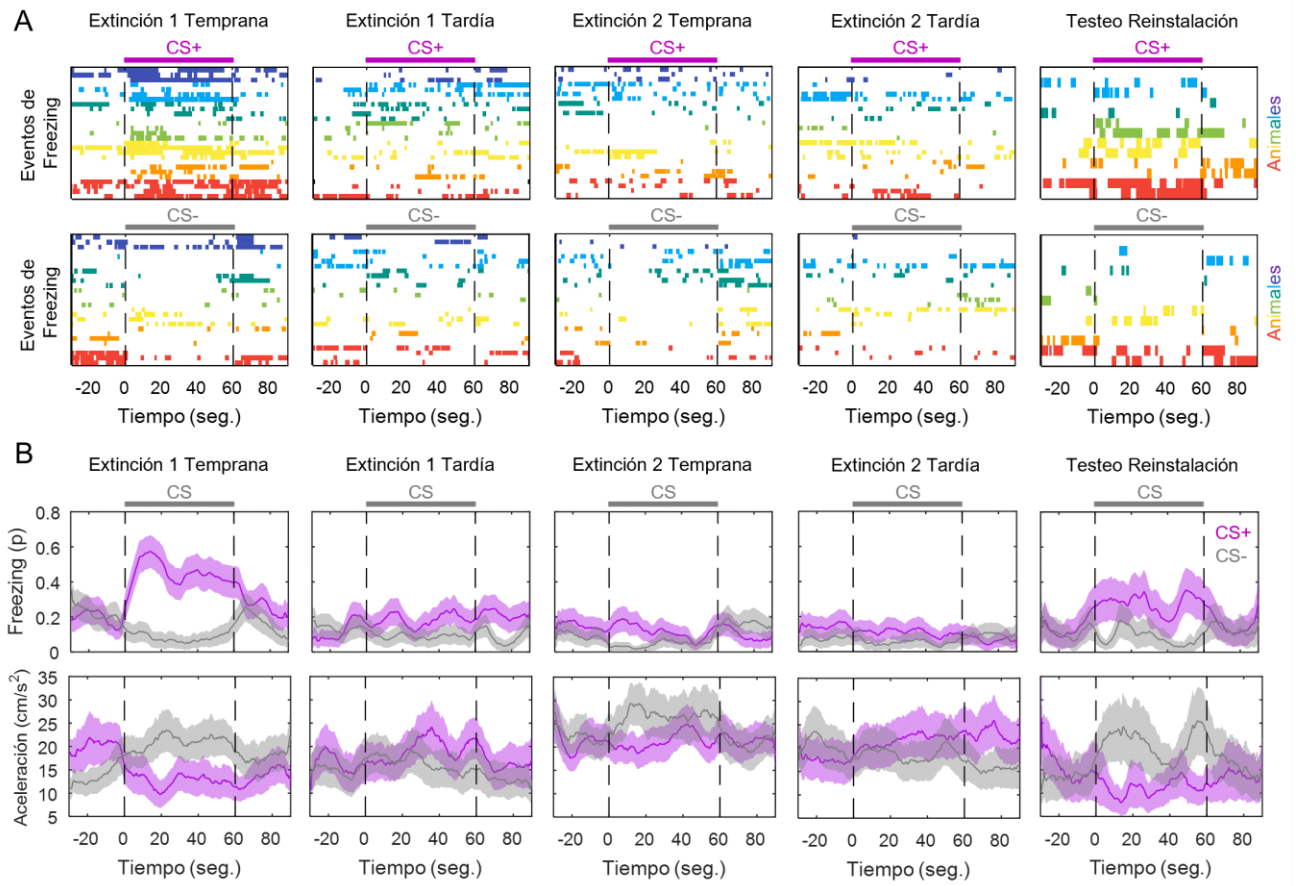


Figura 18. Dinámica del comportamiento durante la evocación, la extinción y la reinstalación de la memoria aversiva. A. Representación rasterizada de los eventos de *freezing* para cada animal (un color distinto por animal), alineados al inicio del estímulo condicionado (CS+ arriba y CS- abajo) durante distintas fases del experimento: *Extinción 1 Temprana*, *Extinción 1 Tardía*, *Extinción 2 Temprana*, *Extinción 2 Tardía* y *Testeo Reinstalación*. La línea horizontal encima de cada gráfico indica el período de presentación del CS. Cada línea horizontal dentro de las figuras representa un evento de *freezing*. **B.** Análisis promedio del comportamiento durante las distintas fases del experimento. Fila superior: probabilidad de *freezing* durante el CS+ (violeta) y el CS- (gris). Fila inferior: aceleración media durante los ensayos. Las curvas representan la media de la respuesta y las bandas sombreadas el error estándar de la media (SEM).

R.1.3. Diferencias interindividuales en la dinámica de expresión o inhibición de la memoria aversiva

Durante el *Entrenamiento Tardío* (CS3), los animales exhibieron una alta variabilidad interindividual en su capacidad para discriminar entre los estímulos. Algunos evidenciaron una clara discriminación, con mayor *freezing* ante el CS+ que ante el CS-, mientras que otros generalizaron, mostrando niveles

similares de *freezing* ante ambos estímulos (**Fig. 19A**). Sin embargo, durante la *Extinción 1 Temprana*, todos los animales evocaron de forma robusta la memoria aversiva: se observó una discriminación consistente, con una respuesta elevada y específica al CS+, y niveles bajos de *freezing* al CS-, incluso en aquellos que anteriormente habían generalizado (**Fig. 19A**). Estos resultados indican que no parecería haber una relación entre la magnitud de la respuesta a los tonos o el grado de discriminación durante el *Entrenamiento Tardío* y la *Extinción 1 Temprana*. Se observó más bien un patrón conductual variable, probablemente influido por el estado interno del animal al momento de expresar esa memoria.

Al evocar la memoria de extinción, se evidenció una disminución generalizada del *freezing* tanto al CS+ como al CS- (**Fig. 19A**). En esta fase, los animales ya no respondieron de manera diferencial a los estímulos, y tampoco se observó una relación clara entre el nivel de reducción del *freezing* y el desempeño en otras fases de la tarea. Finalmente, tras la manipulación de reinstalación, algunos animales presentaron una reinstalación exitosa de la memoria aversiva, con *freezing* nuevamente específico al CS+, es decir, una recuperación de la discriminación. En otros casos, no se evidenció recuperación de la memoria. En particular, el animal R20 no fue incluido en esta fase debido a que se le desprendió el implante antes de completar el testeo (**Fig. 19A**). La reinstalación fallida en algunos animales podría estar relacionada con la realización de dos sesiones consecutivas de extinción, lo que posiblemente fortaleció la memoria de extinción. En esos casos, la ausencia de reinstalación podría reflejar una inhibición duradera, que tal vez habría podido revertirse con una manipulación más intensa, como un mayor número de presentaciones del US, u otra forma de reversión de la memoria original, como la recuperación espontánea.

Al explorar posibles relaciones entre las distintas fases del experimento, no se encontraron correlaciones significativas entre los índices de discriminación ni entre las respuestas al CS+ evaluadas en diferentes días (todos: $p > 0,23$; **Fig. 19B**). Es posible que la expresión de la memoria esté más fuertemente modulada por el estado interno del animal en el momento de la prueba, lo que podría introducir una variabilidad conductual que enmascare las relaciones entre el aprendizaje inicial y su expresión posterior. Esta variabilidad podría explicar la disociación observada entre fases y la baja predictibilidad de las respuestas individuales a lo largo del tiempo.

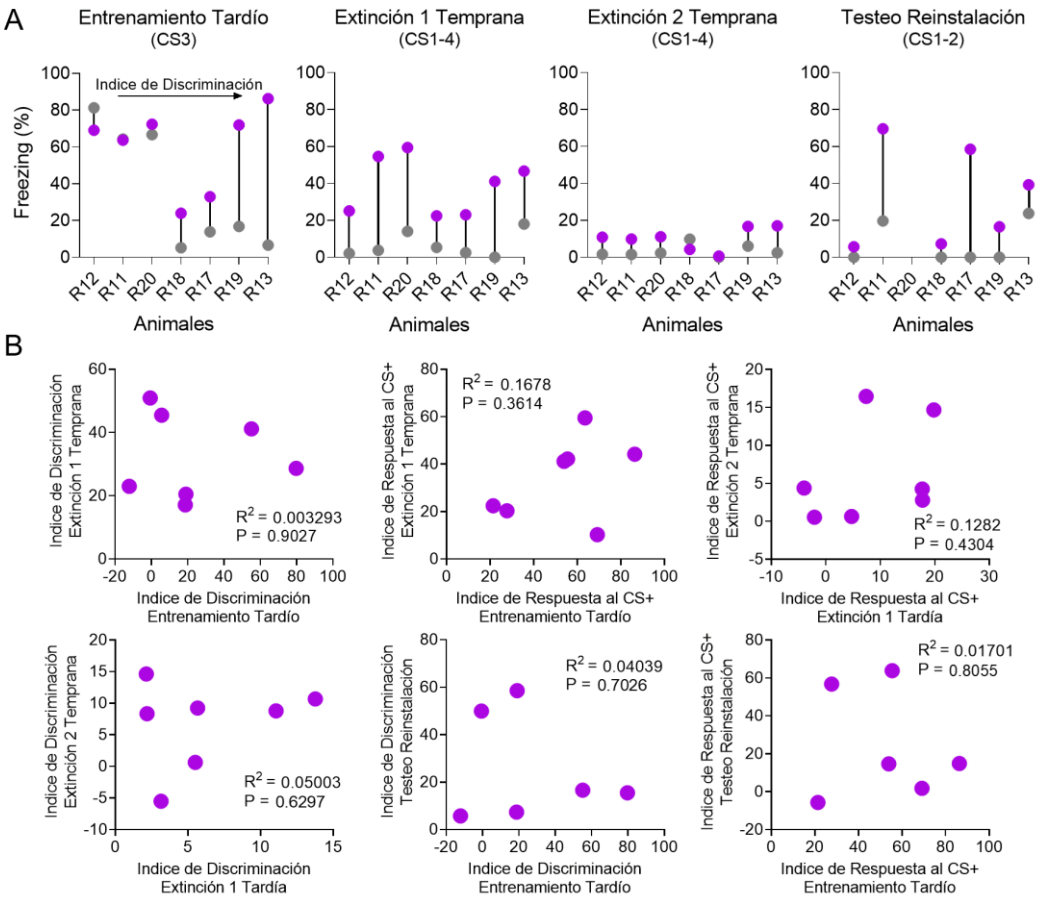


Figura 19. Variabilidad individual en la adquisición, evocación, extinción y reinstalación de la memoria aversiva. A. Porcentaje de tiempo realizando *freezing* durante la presentación del CS+ (violeta) y del CS- (gris) para cada animal individual en distintas fases del experimento. Los animales están ordenados de izquierda a derecha según su índice de discriminación en el *Entrenamiento Tardío*. La línea vertical entre los puntos violetas y grises representa el índice de discriminación, calculado como la diferencia entre el porcentaje de *freezing* al CS+ y al CS-. **B.** Correlaciones lineales entre diferentes medidas comportamentales individuales, como el índice de discriminación o el índice de respuesta al CS+. Cada punto representa un animal. En cada gráfico se indican los valores de R^2 y *p* correspondientes.

En conjunto, los resultados obtenidos en este paradigma de condicionamiento clásico aversivo demuestran que los animales fueron capaces de adquirir, evocar, extinguir y, en algunos casos, reinstalar una memoria de miedo, mostrando una evolución clara a lo largo de las distintas fases. El pasaje desde una respuesta generalizada durante el entrenamiento hacia una discriminación específica durante la evocación, seguido por la supresión conductual en etapas posteriores y su recuperación parcial tras la reinstalación, confirma la utilidad del protocolo para estudiar la dinámica temporal de la memoria aversiva. Que no se detectaran correlaciones significativas entre fases, sugiere que la expresión de la memoria aversiva podría estar más influida por el estado interno del animal en el momento de la prueba, generando una mayor variabilidad interindividual. Esta diversidad en los patrones de respuesta refleja diferencias en los procesos de expresión e inhibición de la memoria, y constituye un punto de partida sólido para el análisis de sus correlatos neuronales.

R.2. Dinámica oscilatoria y neuronal en el paradigma aversivo

R.2.1. Dinámica oscilatoria durante la presentación de los tonos CS+ y CS-

Las oscilaciones cerebrales reflejan estados dinámicos de la actividad de la red y cumplen un rol clave tanto en la organización de la actividad neuronal local como en la coordinación funcional entre regiones implicadas en la codificación y recuperación de memorias emocionales (Womelsdorf y Fries, 2007; Nyhus & Curran, 2010; Klimesch et al., 2011; Headley & Paré, 2013, 2017). Distintas bandas de frecuencia, entre ellas 4-Hz (2-5 Hz), theta (5-11 Hz), beta (12-30 Hz), gamma lento (42-60 Hz) y gamma rápido (60-100 Hz), se expresan de manera diferencial según el contexto emocional y el estado conductual del animal. En particular, se ha descrito que las oscilaciones a 4-Hz sincronizan la actividad entre la mPFC y la BLA durante la evocación del miedo (Likhtik et al., 2014). Estas oscilaciones no solo predicen el inicio y el fin del *freezing*, sino que su inducción artificial en la mPFC es suficiente para evocar esta conducta (Karalis et al., 2016), por lo que el fortalecimiento de dicha oscilación tras el aprendizaje actuaría como una firma resonante de la memoria emocional adquirida (Ozawa et al., 2020). Luego de la extinción del miedo, o en contextos de seguridad, la dinámica oscilatoria dominante parecería estar mediada por las oscilaciones theta. Se ha observado que, durante la presentación de una señal segura, aumenta el acoplamiento entre theta de la mPFC y gamma en la BLA (Stujenske et al., 2014), acompañado por un incremento en la coherencia theta entre ambas regiones y una direccionalidad funcional desde la mPFC hacia la BLA, lo que reflejaría una interacción funcional orientada a la inhibición del miedo (Likhtik et al., 2014). Además, la potencia de theta en mPFC también se incrementa en contextos que exploración espacial, donde se sincroniza con el hipocampo (O'Neill et al., 2013). Asimismo, se ha observado que la transición entre distintos comportamientos defensivos (por ejemplo, del *freezing* al escape) está acompañada por un cambio dinámico entre 4-Hz y theta en el circuito mPFC-BLA (Han et al., 2023). En paralelo, las oscilaciones gamma también muestran una modulación sensible al contexto. En la BLA, se han identificado dos bandas de gamma, una lenta y otra rápida (Stujenske et al., 2014), donde la potencia de la gamma rápido aumenta significativamente tanto en la BLA como en la mPFC a medida que el animal extingue su memoria aversiva y este aumento persiste luego de la extinción, lo cual sugiere que podría ser un marcador de seguridad consolidada (Stujenske et al., 2014).

A pesar de estos avances, la mayoría de los trabajos examinan la mPFC como una unidad funcional sin distinguir entre sus principales subregiones: la corteza prelimbica (PL), asociada con la expresión del miedo, y la infralímbica (IL), relacionada con la extinción. Esta aproximación podría estar ocultando patrones específicos de actividad oscilatoria que reflejen funciones diferenciadas dentro del circuito prefrontal. Por ello, en esta sección analizaremos de manera sistemática la potencia de distintas bandas de frecuencia en la BLA, el PL y el IL, con el objetivo de identificar firmas específicas asociadas a la discriminación de señales emocionales, la evocación de la memoria aversiva y la extinción de dicha memoria, evaluando además la contribución diferencial de cada región en estos procesos. Dado que la evocación de la memoria se manifiesta cuando el animal ejecuta la respuesta condicionada, comenzaremos examinando la dinámica oscilatoria durante la presentación de los estímulos CS+ y CS-, tal como es habitual en los enfoques tradicionales, para luego focalizarnos en los eventos conductuales.

Para ello, comenzamos analizando la potencia en distintas bandas de frecuencia durante la fase de *Extinción 1 Temprana* (ver **R.1.1-3**), específicamente durante la presentación de los estímulos CS+ y CS-. Al observar las señales durante la *Extinción 1 Temprana* (**Fig. 20A**), se puede ver, tal como se describió previamente (ver **R.1.1**), que la presentación del CS+ está acompañada por una mayor ocurrencia de episodios de *freezing*, mientras que durante el CS- predominan los períodos de movimiento. En el espectrograma de BLA (**Fig. 20A**) se observa que, en el momento en que se presenta el CS+, hay un aumento de episodios de mayor intensidad en la potencia de 4-Hz coincidentes temporalmente con los eventos de *freezing* marcados sobre el espectrograma. Durante

la presentación del CS+, se observó un aumento de la potencia en la banda de 4-Hz en comparación con el CS-, tanto en BLA como en PL e IL (**Fig. 21A-F**; BLA: $F_{(1,38)}$ = 5,32, p = 0,03, d = -0,31; PL: $F_{(1,46)}$ = 5,01, p = 0,03, d = -0,32; IL: $F_{(1,33)}$ = 6,57, p = 0,02, d = -0,43). La potencia en la banda theta, por su parte, mostró un patrón opuesto. Durante el CS- la potencia de theta fue mayor que durante el CS+ (**Fig. 21A-F**; todos: p > 0,001, d > 0,35), explicado por una disminución durante el CS+ en relación con la línea de base (todos: p < 0,001, d < -1,25), y no a un aumento durante el CS-. Esto se puede observar en el espectrograma de BLA (**Fig. 20A**), donde se evidencia una actividad theta interrumpida con la presentación del CS+, mientras que durante el CS- retorna esa actividad theta y el animal realiza predominantemente eventos de movimiento (**Fig. 20C**).

Al analizar la actividad en la banda beta, no se observaron diferencias significativas entre CS+ y CS- en ninguna de las tres regiones (**Fig. 21D-F**, todos: p > 0,19); sin embargo, ambas condiciones presentaron una reducción de potencia en comparación con la línea de base (todos: p < 0,05, d < -0,43), lo que sugiere que la presentación de los tonos, independientemente de su valencia, se asocia con una supresión general de la actividad beta respecto a los niveles registrados durante el resto de la sesión. La potencia en gamma lento mostró una tendencia al aumento durante el CS- (**Fig. 21D-F**), aunque el efecto no fue consistente y solo se manifestó en algunas comparaciones específicas. En BLA, se registró un incremento significativo de la potencia durante el CS- en comparación con el CS+ ($F_{(1,38)}$ = 4,51, p = 0,04, d = 0,28), mientras que en el PL se evidenció un aumento de la potencia durante el CS- respecto a la línea de base ($z_{(23)}$ = 2,29, p = 0,045, d = 0,56). En contraste, gamma rápido mostró diferencias más marcadas entre condiciones, con un incremento general durante el CS- (**Fig. 21D-F;** todos: p < 0,001, d > 0,47), debido principalmente a una disminución de la potencia durante el CS+ en la BLA y el IL (ambos: p < 0,03, d < -0,62) y un aumento durante el CS- con respecto a la línea de base en el PL ($z_{(23)}$ = 2,29, p = 0,04, d = 0,48).

Estos resultados indican que durante la presentación del CS+ se observa un patrón oscilatorio distintivo que difiere al presente durante el CS-. En particular, la actividad de 4-Hz, presente en la BLA, el PL y el IL durante el CS+, se acompaña de una supresión de theta, lo que sugiere una relación funcional antagónica entre ambos ritmos oscilatorios. Por último, las oscilaciones gamma tendieron a incrementarse durante el CS- en comparación con el CS+, con un efecto más robusto en la banda de gamma rápido.

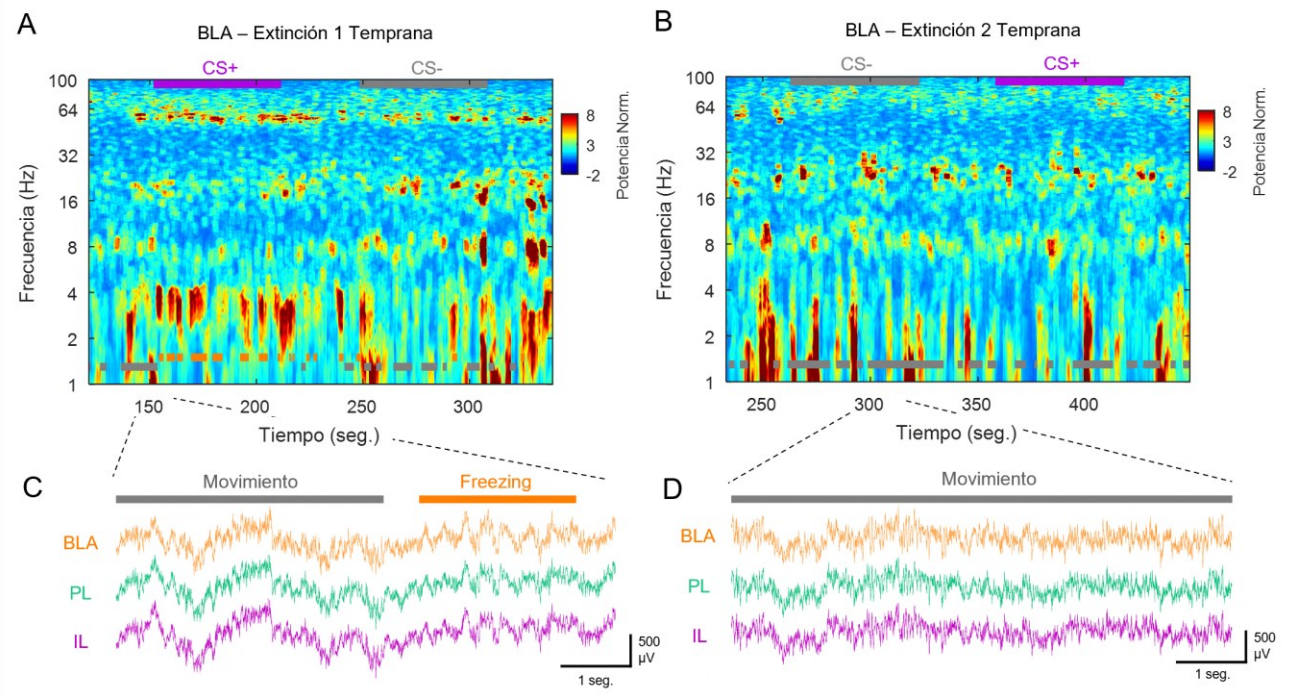


Figura 20. Dinámica oscilatoria durante la presentación de los tonos en el paradigma aversivo. A. Espectrograma representativos de la actividad oscilatoria en la BLA durante la fase de *Extinción 1 Temprana*, asociados a la presentación de los tonos CS+ (en violeta) y CS- (en gris). Se muestra la potencia normalizada en función del tiempo para cada frecuencia. En la parte inferior de los espectrogramas se indican los eventos de *freezing* (en naranja) y de movimiento (en gris). **B**. Igual que en A, pero correspondiente a la fase de *Extinción 2 Temprana*. **C-D**. Ejemplos de señales LFP extraídas de segmentos representativos de los registros mostrados arriba, correspondientes a la BLA (naranja), PL (verde) e IL (violeta). Los eventos de *freezing* (naranja) o movimiento (gris) se representan con una línea horizontal alineada arriba de los trazos.

Durante la fase de la *Extinción 2 Temprana*, los animales dejaron de exhibir una respuesta condicionada diferencial frente al CS+, lo que sugiere una adquisición efectiva del aprendizaje de extinción, como se describió previamente (ver **R.1.1**). Esto permitió investigar la dinámica oscilatoria asociada a las etapas finales del proceso de adquisición de la memoria de extinción. Una vez extinguida la respuesta condicionada, se observa un patrón oscilatorio marcadamente distinto. En esta fase, la potencia en las bandas de 4-Hz y theta durante el CS+ no difiere significativamente de la potencia observada durante el CS- ni respecto de la línea de base en ninguna de las tres regiones analizadas (**Fig. 21G-L**, todos: $p > 0,12$, $|d| < 0,20$). Estos cambios en la dinámica oscilatoria se acompañan de una disminución en la expresión de *freezing*, tal como fue descripto previamente (ver **R.1.1**). De manera similar, la potencia en la banda beta no mostró diferencias significativas entre CS+ y CS- en ninguna de las tres regiones analizadas (**Fig. 21G-L**, todos: $p > 0,14$, $d > 0,07$) ni diferencias significativas respecto de la línea de base en general (todos: $p > 0,18$, $|d| < 0,17$), salvo en el PL durante el CS+ ($z_{(27)} = -2,67$, $p = 0,02$, $d = -0,30$). Con respecto a las oscilaciones gamma, si bien no se observaron diferencias significativas en la potencia entre CS+ y CS- en ninguna de las regiones (todos: $p > 0,07$, $|d| < 0,28$), se evidencia un aumento significativo de la potencia respecto a la línea de base en las bandas gamma lento y gamma rápido en el PL y el IL durante la presentación de ambos estímulos (todos: $p < 0,01$, $d > 0,11$). La excepción fue gamma lento en el IL durante el CS- ($z_{(19)} = 1.69$, $p = 0,18$, $d = 0,17$) y gamma rápido durante CS+, también en el IL, donde la potencia mostró una tendencia al aumento, aunque sin alcanzar significancia estadística ($z_{(25)} = 2,11$, $p = 0,07$, $d = 0,12$). Al comparar las dos fases de la *Extinción 1*, se evidencia un cambio cualitativo en la dinámica de las bandas gamma lento y gamma rápido. Durante la *Extinción 1 Temprana*, ambas bandas se encuentran suprimidas durante la presentación del CS+, con potencias inferiores tanto a

la línea de base como a las registradas durante el CS- (Fig. 21A-F). En contraste, en la *Extinción 1 Tardía*, se observa un incremento en la potencia de ambas bandas, alcanzando niveles comparables a los del CS- y, en algunos casos, particularmente en PL e IL, superando incluso la línea de base (Fig. 21G-L). Este cambio sugiere una recuperación progresiva de la actividad gamma a medida que avanza el proceso de extinción.

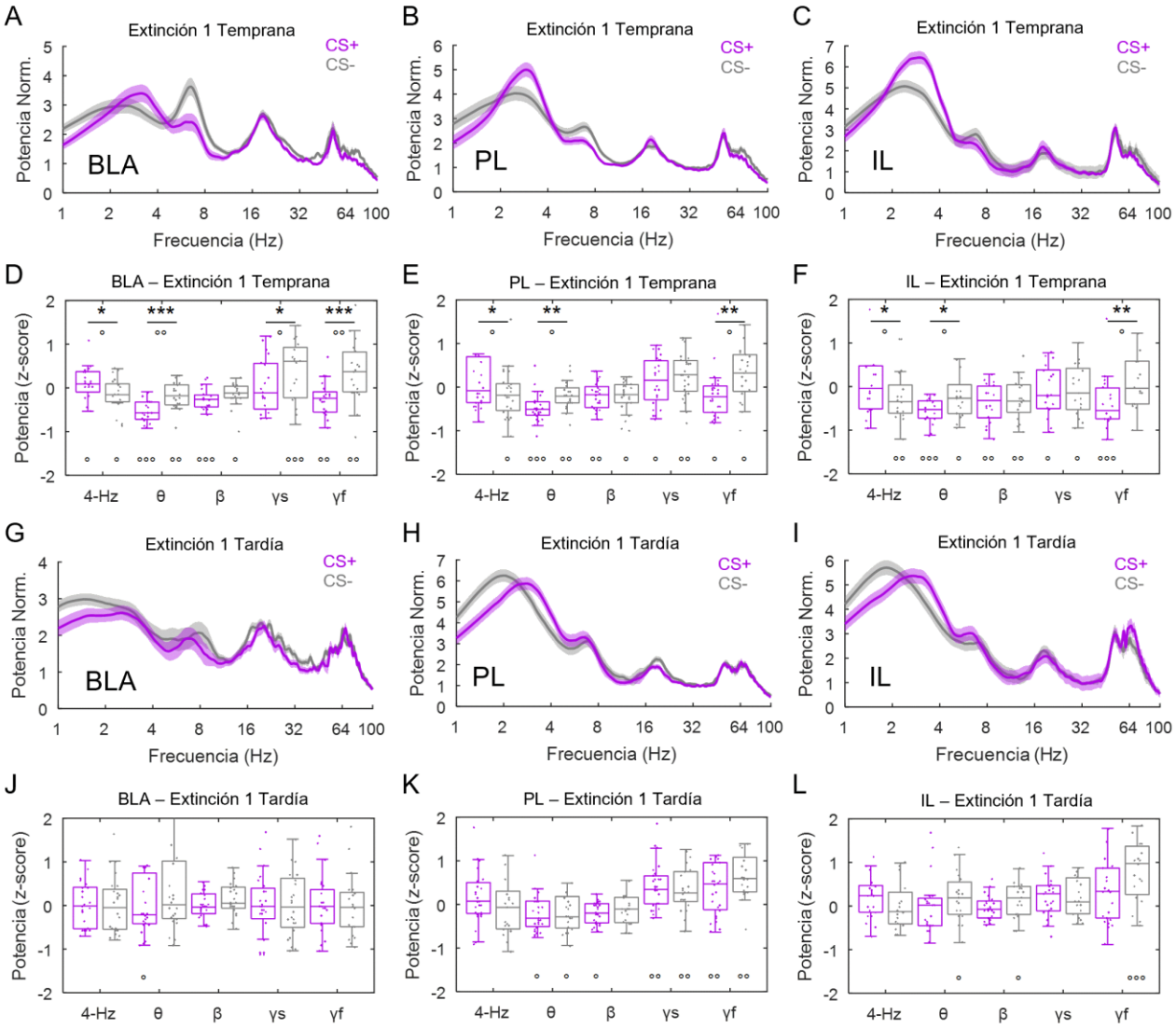


Figura 21. Análisis espectral y cuantificación de la potencia oscilatoria durante la *Extinción 1*. A-C. Espectros de potencia (PSD) promedio por región cerebral para los tonos CS+ (violeta) y CS- (gris) durante la *Extinción 1 Temprana*, representando la potencia normalizada en función de la frecuencia. **D-F**. Cuantificación de la potencia oscilatoria en distintas bandas de frecuencia (4 Hz, θ: theta; β: beta; γ_s: gamma lento; γ_f: gamma rápido) por región cerebral, comparando las respuestas al CS+ y CS- durante la *Extinción 1 Temprana*. **G-I**. Igual que en A-C, pero correspondiente a la fase de *Extinción 1 Tardía*. **J-L**. Igual que en D-F, pero correspondiente a la *Extinción 1 Tardía*. En los PSD, las líneas indican la mediana y las áreas sombreadas el desvío absoluto de la mediana (MAD). Los boxplots muestran la mediana (línea horizontal), el rango intercuartílico (caja) y los percentiles 10 y 90 (extremos de los bigotes). Los valores individuales se representan como puntos superpuestos. Los asteriscos en la parte superior de cada comparación indican diferencias significativas entre CS+ y CS-. Los asteriscos en la parte inferior indican diferencias significativas con respecto a la línea de base (valor cero). ($p < 0,05$: *; $p < 0,01$: **; $p < 0,001$: ***; N: 4 ensayos por animal).

Durante la fase de *Extinción 2 Temprana*, correspondiente al momento de evocación de la memoria de extinción, los animales no exhibieron niveles elevados de *freezing* frente al CS+ ni al CS- (ver **R.1.1-3**). Esta condición experimental permitió analizar la dinámica oscilatoria en un contexto en el cual se espera la evocación de la memoria de extinción. En estas condiciones, no se registraron diferencias significativas en la potencia oscilatoria entre CS+ y CS- en ninguna de las bandas de frecuencia evaluadas, ni en ninguna de las tres regiones analizadas (**Fig. 22A-F**, todos: $p > 0,11$, $|d| < 0,36$). Del mismo modo, la presentación de los estímulos no generó modulaciones significativas de la potencia respecto de la línea de base en ninguna condición (todos: $p > 0,09$, $|d| < 0,62$). Estos resultados muestran que, al momento de la evocación de la memoria de extinción, al igual que no se observan diferencias en la respuesta comportamental (ver **R.1.1-3**), tampoco se observa una modulación de la actividad oscilatoria de las frecuencias analizadas, inducida por los estímulos CS+ y CS- en BLA, PL o IL. Hacia el final de la *Extinción 2*, la ausencia de diferencias significativas en la potencia entre CS+ y CS- se mantiene en todas las bandas de frecuencia y regiones analizadas (todos: $p > 0,06$, $|d| < 0,31$).

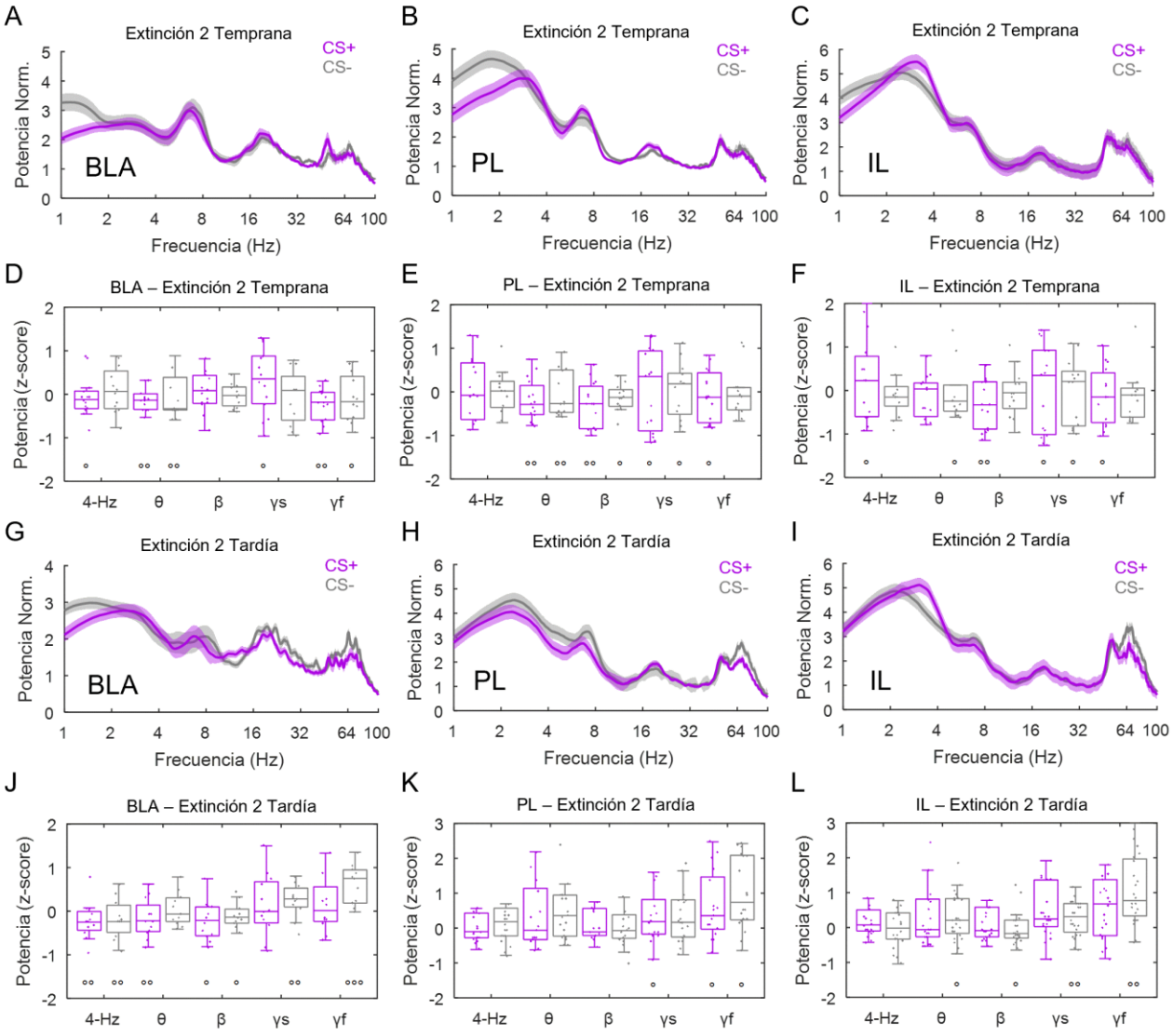


Figura 22. Análisis espectral y cuantificación de la potencia oscilatoria durante la *Extinción 2*. A-C. Espectros de potencia (PSD) promedio por región cerebral para los tonos CS+ (violeta) y CS- (gris) durante la *Extinción 2 Temprana*, representando la potencia normalizada en función de la frecuencia. **D-F**. Cuantificación de la potencia oscilatoria en distintas bandas de frecuencia (4 Hz, θ: theta; β: beta; γ_s: gamma lento; γ_f: gamma rápido) por región cerebral, comparando las

respuestas al CS+ y CS- durante la *Extinción 2 Temprana*. **G-I**. Igual que en A-C, pero correspondiente a la fase de *Extinción 2 Tardía*. **J-L**. Igual que en D-F, pero correspondiente a la *Extinción 2 Tardía*. En los PSD, las líneas indican la mediana y las áreas sombreadas el desvío absoluto de la mediana (MAD). Los boxplots muestran la mediana (línea horizontal), el rango intercuartílico (caja) y los percentiles 10 y 90 (extremos de los bigotes). Los valores individuales se representan como puntos superpuestos. Los asteriscos en la parte superior de cada comparación indican diferencias significativas entre CS+ y CS-. Los asteriscos en la parte inferior indican diferencias significativas con respecto a la línea de base (valor cero). ($p < 0,05$: *; $p < 0,01$: **; $p < 0,001$: ***). N: 4 ensayos por animal.

Dado que las oscilaciones de 4-Hz y theta presentan dinámicas en general antagónicas, tanto funcional como estadísticamente, se calculó la relación de potencia 4-Hz/theta como un índice para evaluar su evolución a lo largo del proceso de extinción (**Fig. 23A-C**), específicamente durante la presentación del CS+ en las distintas fases: *Extinción 1 Temprana* (E1A), *Extinción 1 Tardía* (E1B), *Extinción 2 Temprana* (E2A) y *Extinción 2 Tardía* (E2B). En la BLA (**Fig. 23A**), se observó una disminución de esta relación a lo largo de las fases de extinción ($F_{(3,16)} = 8,15$, $p = 0,002$, $d = -0,60$). Las comparaciones contra la condición inicial de evocación de la memoria aversiva (E1A) mostraron diferencias significativas en *Extinción 1 Tardía* ($z_{(6)} = 2,41$, $p = 0,02$, $d = -1,10$) y en ambas fases de *Extinción 2* (ambos: $p < 0,03$, $d < -1,00$), lo que sugiere una caída sostenida de la dominancia de 4-Hz sobre theta a medida que avanza la extinción. Un patrón similar se observó en PL (**Fig. 23B**), con un efecto significativo de la extinción sobre la relación 4-Hz/theta ($F_{(3,24)} = 3,24$, $p = 0,04$, $d = -0,29$). La comparación con la *Extinción 1 Temprana* mostró una diferencia significativa solo en la fase de *Extinción 2 Tardía* (E2B: $z_{(27)} = 2,22$, $p = 0,03$, $d = -0,85$), con una tendencia en *Extinción 2 Temprana* ($z_{(27)} = 1,8$, $p = 0,07$, $d = -0,55$). En IL (**Fig. 23C**), también se observó una disminución de la relación 4-Hz/theta, con un efecto significativo de la extinción ($F_{(3,24)} = 3,28$, $p = 0,04$, $d = -0,29$), y una diferencia estadísticamente significativa entre *Extinción 1 Temprana* y *Extinción 2 Tardía* ($z_{(6)} = 2,54$, $p = 0,01$, $d = -0,90$). Estos resultados, en conjunto, indican una caída progresiva de la relación 4-Hz/theta con la extinción, en paralelo con la reducción del *freezing* (ver **R.1.1-3**).

En contraste, la potencia en la banda beta no mostró cambios significativos a lo largo de las fases de extinción en ninguna de las regiones evaluadas (todos: $p > 0,11$, $d < 0,15$), indicando que esta banda frecuencial no se ve modulada durante el CS+ con la evolución de la extinción. Asimismo, la banda gamma lento tampoco presentó efectos significativos de la extinción en BLA en ninguna de las tres regiones (todos: $p > 0,20$, $d < 0,12$). Por otro lado, la banda gamma rápido mostró un aumento progresivo durante la presentación del CS+ a lo largo de las distintas fases de extinción (**Fig. 23D-F**). Este incremento, sin embargo, no alcanzó significación estadística en la BLA ni en PL (ambos: $p > 0,30$, $d < 0,20$). En cambio, en IL, sí se observó un efecto significativo de la extinción ($F_{(3,24)} = 3,25$, $p = 0,039$, $d = 0,29$), acompañado de un aumento significativo en *Extinción 1 Tardía* comparado con *Extinción 1 Temprana* ($z_{(6)} = 2,38$, $p = 0,02$, $d = 0,95$), aunque las comparaciones con ambas fases de *Extinción 2* no fueron significativas (ambas: $p > 0,13$, $d < 0,55$). Este patrón sugiere que la actividad gamma rápido en IL, a diferencia de las demás regiones, podría estar modulada de forma más sensible por la evocación de la memoria de extinción.

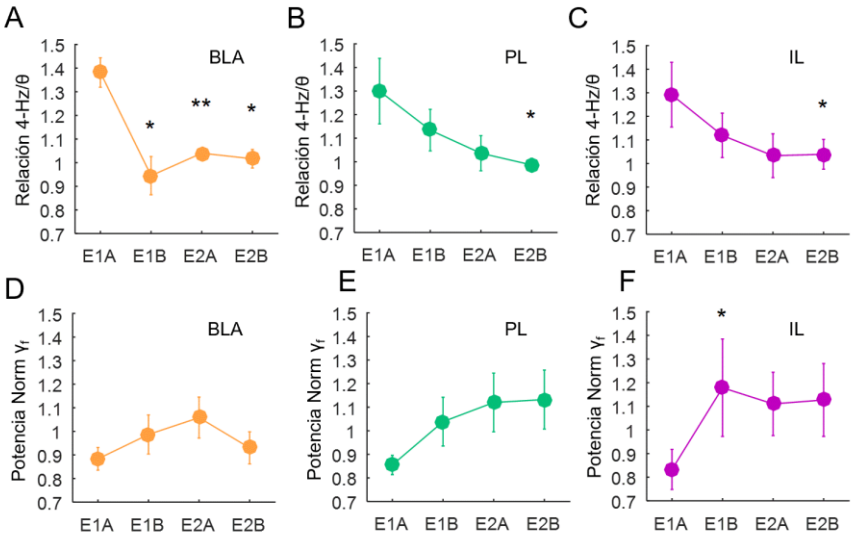


Figura 23. Evolución de la potencia oscilatoria durante el tono CS+ en las distintas fases de la *Extinción 1* y 2. A-C. Evolución de la relación 4 Hz/θ durante el CS+ en las fases de *Extinción 1 Temprana* (E1A), *Extinción 1 Tardía* (E1B), *Extinción 2 Temprana* (E2A) y *Extinción 2 Tardía* (E2B), en las distintas regiones cerebrales (BLA, PL e IL), para todos los animales. **D-F**. Igual que en A-C, pero para la potencia normalizada en la banda de gamma rápido (γ_f). Los puntos corresponden a la mediana y los bigotes al desvío absoluto de la mediana (MAD). Los asteriscos indican diferencias significativas con respecto a la fase E1A. ($p < 0,05$: *; $p < 0,01$: **). N: 4 ensayos por animal.

En conjunto, los resultados muestran que la presentación del CS+ durante la extinción se asocia con una transición progresiva en el perfil oscilatorio, que acompaña la disminución del *freezing* y la adquisición de la memoria de extinción. En fases tempranas, cuando hay una mayor evocación de la memoria aversiva, el CS+ induce una dominancia de 4-Hz asociada con altos grados de *freezing*, junto con una supresión de theta y gamma, particularmente gamma rápido. A medida que avanza la extinción, se observa una caída sostenida en la relación 4-Hz/theta en BLA, PL e IL, producto de la reducción de 4-Hz y una recuperación relativa de theta, coincidentes con una reducción del *freezing*. Paralelamente, gamma rápido muestra un aumento, con efectos más robustos en IL, mientras que beta y gamma lento no presentan modulaciones sistemáticas. Este cambio general sugiere una reorganización oscilatoria desde un estado dominado por el miedo hacia uno asociado a la seguridad y el comportamiento activo. A pesar de que los animales presentaron cierta variabilidad interindividual en el grado de discriminación entre estímulos durante el entrenamiento, así como en la evocación y extinción de la memoria aversiva a lo largo de las distintas fases del experimento (ver **R.1.3**), esta variabilidad no se tradujo en una relación con los patrones de actividad oscilatoria. Si bien se exploraron posibles asociaciones entre los índices conductuales de discriminación y las respuestas al CS+ y al CS- con la potencia oscilatoria en las distintas bandas de frecuencia, no se encontraron correlaciones significativas en ninguna de las condiciones analizadas, por lo que dichos resultados no fueron incluidos.

Estos resultados son coherentes con estudios previos que muestran que la señal de seguridad se relaciona con el aumento de la potencia gamma rápido en la BLA y en la mPFC, donde se ha propuesto que este ritmo puede representar una oscilación vinculada a la inhibición del miedo y a la expresión de memorias de extinción (Stujenske et al., 2014). Además, las oscilaciones de 4-Hz sincronizan los circuitos BLA-mPFC durante el comportamiento de miedo, particularmente durante episodios de *freezing*, y tanto como 4-Hz presentan perfiles opuestos en este contexto (Karalis et al., 2016; Ozawa et al., 2020; Toty et al., 2023). Las oscilaciones de 4-Hz parecen ser distintas de las oscilaciones theta del hipocampo descriptas durante la locomoción, ya que no ocurren durante el movimiento (Seidenbecher et al., 2003; Han et al., 2023) y no se ven afectadas por la inactivación

del septum medial (Karalis et al., 2016). La predominancia de theta, por su parte, se ha vinculado con el movimiento voluntario y la exploración activa, como se describe en distintos estudios que reportan aumentos de theta en mPFC y BLA durante la actividad motora (O'Neill et al., 2013; Han et al., 2023). Las diferencias en la dinámica oscilatoria observadas entre CS+ y CS- no necesariamente reflejan una codificación específica de la memoria, sino más bien diferencias en el estado comportamental del animal. Es importante destacar que, dado que el comportamiento del animal durante la presentación de los CS no es homogéneo, los resultados observados en ese período no reflejan un estado conductual único, lo que dificulta interpretar estos cambios en la actividad oscilatoria como representativos de los procesos de memoria. En este sentido, el CS modula la probabilidad de que se exprese un comportamiento particular, como el *freezing*, y es a través de esa expresión conductual que se manifiesta la evocación de la memoria. Así, las oscilaciones de 4-Hz se relacionan con el *freezing* y se suprimen a lo largo del proceso de extinción, mientras que las señales de theta y gamma aparecen durante el movimiento y en contextos de seguridad. A continuación, se exploraron con mayor detalle los estados de *freezing* y movimiento para evaluar cómo estas dinámicas oscilatorias se relacionan con el comportamiento expresado por el animal durante la tarea.

R.2.2. Dinámica oscilatoria durante los distintos estados comportamentales

Con el objetivo de caracterizar la dinámica oscilatoria asociada a distintos estados comportamentales, comparamos los eventos de *freezing* con los de movimiento registrados durante las sesiones de *Extinción 1* y *Extinción 2*, independientemente del momento específico en que ocurren dentro de cada sesión. Durante los eventos de *freezing* se observa una marcada reducción en la aceleración del animal (**Fig. 24A-B**, ver **M.3.2**). Al alinear la actividad neuronal al comienzo de los eventos de *freezing*, se observó un aumento en la potencia de las oscilaciones en torno a los 4-Hz en las tres regiones (**Fig. 24A y C**). En contraste, durante los eventos de movimiento se observa un patrón oscilatorio marcadamente opuesto, caracterizados por un incremento en la aceleración del animal (**Fig. 24A-B**) y por el aumento en la potencia de theta en la BLA, el PL y el IL (**Fig. 24A y C**).

Si se compara el contenido frecuencial entre los eventos de *freezing* y los de movimiento, se observan diferencias sistemáticas en varias bandas de frecuencia y en todas las regiones analizadas (BLA, PL e IL) (**Fig. 24D-G**). En primer lugar, la potencia en la banda de 4-Hz fue significativamente mayor durante los eventos de *freezing* en comparación con los de movimiento en las tres regiones analizadas (**Fig. 24A y D-G**), aunque los tamaños del efecto fueron marginales (todos: $p < 0,001$, $d > -0,15$). Además, se encontró un aumento significativo de la potencia respecto a la línea de base en el IL durante el *freezing* ($z_{(613)} = 9,12$, $p < 0,001$, $d = 0,37$) y una disminución significativa en BLA durante el movimiento ($z_{(1309)} = -6,20$, $p < 0,001$, $d = -0,29$). En la banda theta se observó un patrón opuesto, con un incremento en la potencia durante el movimiento respecto al *freezing* en las tres regiones analizadas (**Fig. 24A y D-G**), con tamaños del efecto pequeños (todos: $p < 0,001$, $d > 0,29$). El *freezing* también se encontró asociado a una disminución significativa en la potencia theta en las tres áreas (todos: $p < 0,001$, $d < -0,58$), mientras que, durante los eventos de movimiento, la potencia en esta banda no mostró un efecto considerable con respecto a la línea de base (todos: $d < 0,19$). Es importante destacar que esto no implica la ausencia de oscilaciones theta durante el movimiento, sino que, por cómo se normalizaron los datos (ver **M.8.1**), probablemente exista una actividad theta sostenida durante toda la sesión, que si se evidencia con una disminución de la potencia durante los eventos de *freezing*. Respecto a la banda beta, se observó una mayor potencia durante el *freezing* en comparación con el movimiento en las tres regiones analizadas (todos: $p < 0,001$, $d < -0,10$; **Fig. 24A y D-G**), aunque el tamaño del efecto fue considerable únicamente en IL (IL: $F_{(1,1192)} = 83,80$, $p < 0,001$, $d = -0,26$). Esta diferencia se explica principalmente por una reducción de la potencia en la banda beta durante los eventos de movimiento, observada en las regiones PL e IL (ambos: $p < 0,001$, $d < -0,31$).

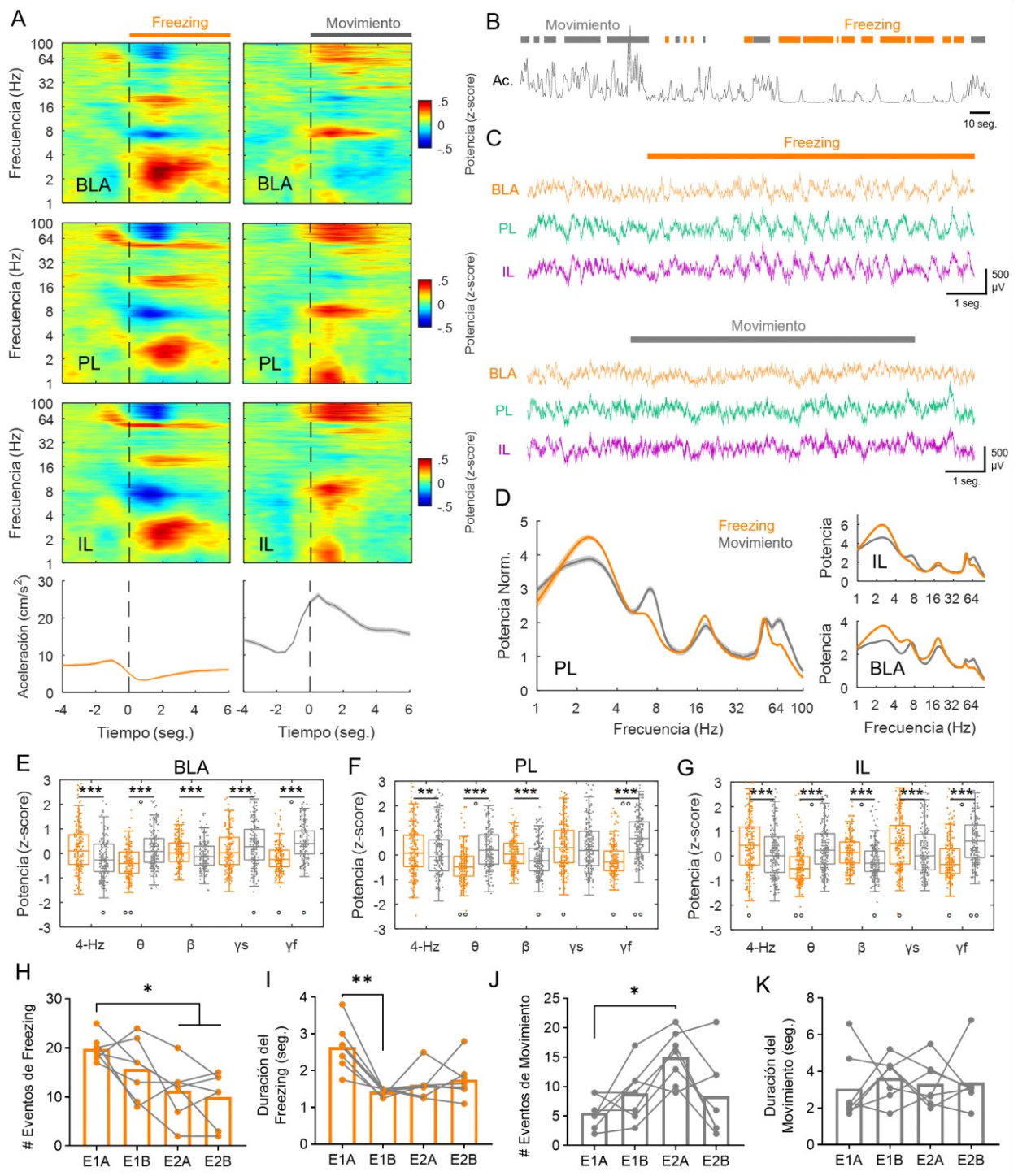


Figura 24. Dinámica oscilatoria durante eventos de *freezing* y movimiento. A. Espectrogramas promedio de la potencia oscilatoria (expresada en z-score) alineados al inicio de eventos de *freezing* (izquierda) o movimiento (derecha) de los animales en la BLA (arriba), el PL (medio) y el IL (abajo). En la parte inferior se muestra la aceleración promedio de los animales alineada al inicio del evento conductual; la línea indica la media y el área sombreada, el error estándar de la media (SEM). **B**. Ejemplo de trazo de aceleración en un animal representativo, con eventos de movimiento (gris) y *freezing* (naranja) indicados en la parte superior. **C**. Señales de LFP representativas en BLA, PL e IL durante eventos de *freezing* (arriba) y movimiento (abajo), señalados con una línea horizontal. **D**. Espectros de densidad de potencia (PSD) normalizada durante *freezing* (naranja) y movimiento (gris) en PL (panel principal), y en BLA e IL (paneles insertos). Las líneas representan la mediana y las áreas sombreadas el desvío absoluto de la mediana (MAD). **E-G**. Cuantificación de la potencia oscilatoria por banda de frecuencia (4 Hz, θ: theta; β: beta; γ_s: gamma lento; γ_f: gamma rápido) en cada región, comparando

entre *freezing* y movimiento. **H-I**. Evolución del número (H) y duración (I) de los eventos de *freezing* ocurridos durante el CS+ en las fases de *Extinción 1 Temprana* (E1A), *Extinción 1 Tardía* (E1B), *Extinción 2 Temprana* (E2A) y *Extinción 2 Tardía* (E2B). **J-K**. Igual que en H-I, pero para los eventos de movimiento ocurridos durante el CS+. (p-valor: p < 0,05: *; p < 0,01: **; p < 0,001: ***; tamaño del efecto: d > 0,2: °; d > 0,5: °°). N: total de eventos de *freezing* y movimiento combinando las sesiones de *Extinción 1* y 2.

Al analizar la banda de gamma lento, se observaron diferencias significativas entre condiciones, con efectos de tamaño marginal en todas las regiones. En BLA, la potencia durante el *freezing* fue menor que durante el movimiento ($F_{(1,2469)}$ = 43,33, p < 0,001, d = 0,12), mientras que en PL no se encontraron diferencias significativas entre estados comportamentales ($F_{(1,3154)}$ = 2,06, p = 0,15, d = -0,03). En IL, en cambio, la potencia fue significativamente mayor durante el *freezing* ($F_{(1,1192)}$ = 25,78, p < 0,001, d = -0,15). En relación con la línea de base, se observó que en BLA la potencia gamma lento aumentó durante el movimiento ($z_{(1309)}$ = 11,01, p < 0,001, d = 0,26), mientras que en PL e IL el aumento se dio durante el *freezing* (ambos: p < 0,001, d > 0,30, **Fig. 24A y D-G**). Finalmente, al analizar la banda gamma rápido, se observó una mayor potencia durante el movimiento en comparación con el *freezing* en las tres regiones analizadas (**Fig. 24A y D-G**; todos: p < 0,001, d > 0,45), con tamaños del efecto que van de pequeños a moderados. Este patrón se debe a una disminución de la potencia durante el *freezing* en relación con la línea de base, de efecto pequeño (todos: p < 0,001, d < -0,34), y a un incremento significativo y de efecto pequeño a moderado durante el movimiento en las mismas regiones (todos: p < 0,001, d > 0,50). Esto refleja dos patrones claramente diferenciados de actividad gamma rápido: una supresión de la oscilación durante el *freezing* y una potenciación durante el movimiento.

En conjunto, estos resultados muestran dos patrones oscilatorios bien diferenciados y consistentes a lo largo de las tres regiones analizadas. Por un lado, durante los eventos de *freezing* se observa un perfil en donde predominan las oscilaciones de 4-Hz, acompañadas por un incremento en las bandas beta y gamma lento, particularmente en las regiones prefrontales (PL e IL). Por otro lado, durante los eventos de movimiento emerge un patrón oscilatorio opuesto, en donde predominan las oscilaciones theta y gamma rápido en las tres regiones. Estos patrones, guardan una notable similitud con los observados previamente asociados al CS+ y CS-. El patrón oscilatorio observado durante la presentación del CS+ en la *Extinción 1 Temprana* se asemeja al patrón característico del *freezing*, mientras que el observado durante la presentación del CS- o en fases tardías de la extinción refleja un perfil más cercano al del movimiento (**Fig. 24A**). Esto podría sugerir que las diferencias observadas previamente entre CS+ y CS-, y la evolución que se observó durante la extinción, podrían estar mediadas, en gran parte, por el estado comportamental del animal. A lo largo del desarrollo de las dos fases de extinción, se observó una reducción progresiva en el número de eventos de *freezing* registrados durante la presentación del CS+ (**Fig. 24H**; $F_{(3,7)}$ = 9,31, p = 0,03; E1A vs. E2A: p = 0,04; E1A vs. E2B: p = 0,03) y una reducción significativa en su duración (**Fig. 24I**; $F_{(3,7)}$ = 11,26, p = 0,01; E1A vs. E1B: p = 0,003). Además, hubo un aumento en el número de eventos de movimiento que ocurren durante la presentación del CS+ (**Fig. 24J**; $F_{(3,7)}$ = 8,66, p = 0,04; E1A vs. E2A: p = 0,03), sin cambios en su duración (**Fig. 24K**; $F_{(3,7)}$ = 2,31, p = 0,51). Estos resultados conductuales respaldan la interpretación de que los patrones oscilatorios observados durante la presentación de los tonos podrían estar representando, en gran medida, el estado comportamental de los animales.

Un análisis más detallado de estos eventos comportamentales mostró que al inicio de los episodios de *freezing* (**Fig. 25A**) hubo un incremento en la potencia de las bandas de 4-Hz, beta y gamma lento, especialmente en las regiones prefrontales PL e IL (**Fig. 25B**). Esta actividad se mantuvo hasta el fin de los episodios de *freezing*. En los momentos inmediatamente anteriores y posteriores al *freezing*, se detectaron aumentos transitorios en gamma rápido en el PL y el IL (**Fig. 25A-C**). Estos picos coincidieron temporalmente con un aumento leve en la aceleración (**Fig. 25A**), lo que sugiere

que pueden estar relacionados con breves eventos de movimiento que flanquean los episodios de *freezing* y no como marcadores fisiológicos que los anticipen.

Por el contrario, los eventos de movimiento se asocian a un patrón de actividad opuesto. La aceleración se incrementa de manera sostenida (**Fig. 25D**), acompañada por un aumento robusto de la potencia en las bandas theta y gamma rápido en las tres regiones analizadas (**Fig. 25E-F**) que se mantienen hasta el fin de los eventos, mostrando que el movimiento está relacionado con una configuración oscilatoria distinta a la del *freezing*. Estos resultados son consistentes con estudios previos que han demostrado la presencia de patrones oscilatorios específicos que emergen al inicio y se mantienen durante la duración de estos estados comportamentales (Karalis et al., 2016; Han et al., 2023). En resumen, los eventos conductuales de *freezing* y movimiento muestran patrones de actividad característicos y estables a lo largo de toda su duración (**Fig. 25**), lo que refuerza la idea de que constituyen estados funcionales distintos, que se sostienen en el tiempo a través de patrones oscilatorias diferenciados y consistentes.

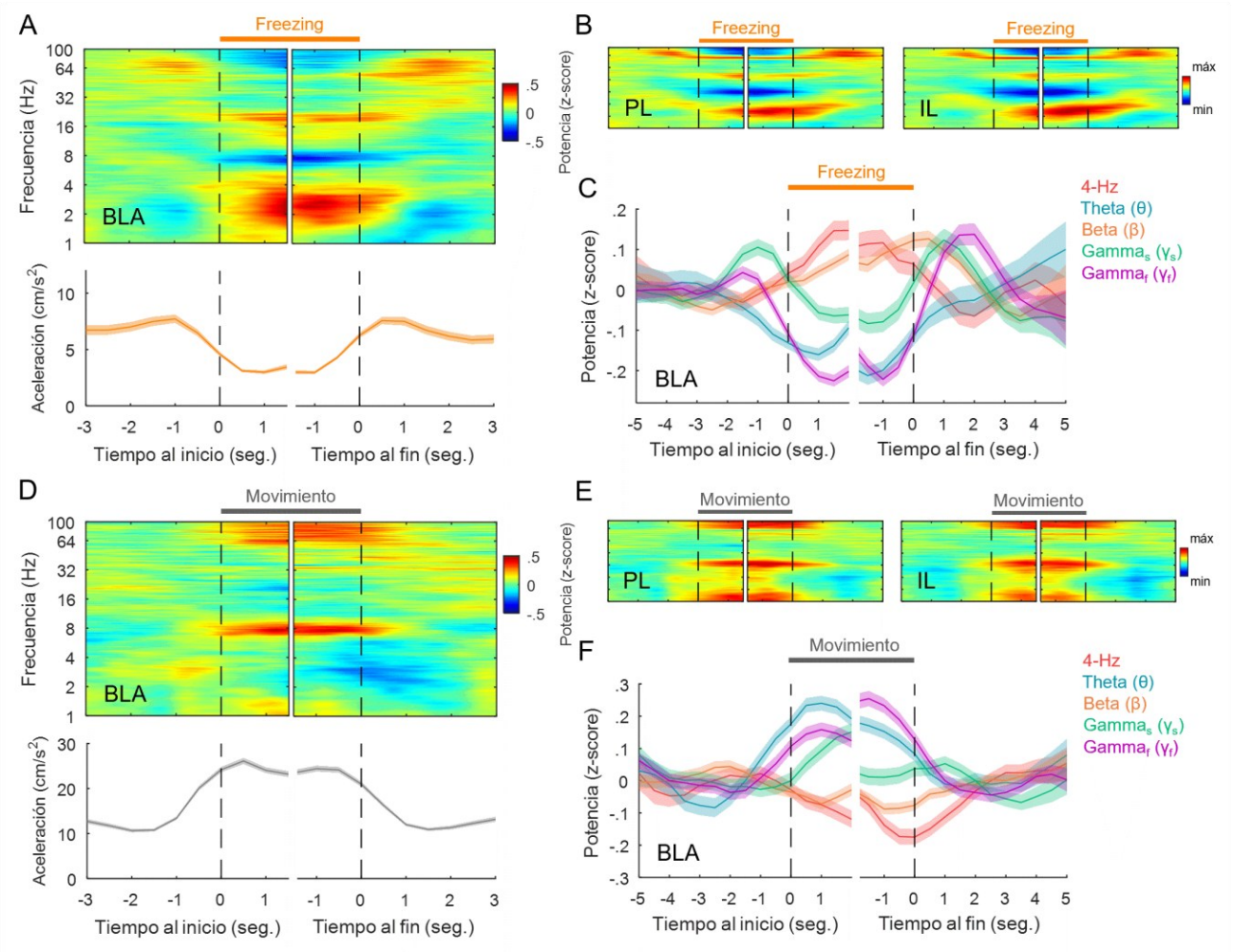


Figura 25. Dinámica temporal de la potencia oscilatoria alineada al inicio y al fin de los eventos de *freezing* y movimiento. A. Espectrogramas promedio en la BLA alineados al inicio (izquierda) y al fin (derecha) de los eventos de *freezing*, acompañados de la aceleración media de los animales (panel inferior). **B**. Igual que en A, pero para PL (izquierda) e IL (derecha). **C**. Dinámica de la potencia oscilatoria en BLA (expresada en z-score), separada por bandas de frecuencia (4 Hz, θ: theta; β: beta; γ_s: gamma lento; γ_f: gamma rápido), alineada al inicio (izquierda) y al fin (derecha) del evento de *freezing*. **D-F**. Igual que en A-C, pero para los eventos de movimiento. N: total de eventos de *freezing* y movimiento combinando las sesiones de *Extinción 1* y 2.

En los análisis previos se examinó el conjunto total de eventos de *freezing* ocurridos durante las sesiones de *Extinción 1 y 2*, sin discriminar su contexto específico. Sin embargo, es posible que exista variabilidad interna dentro de los mismos, en función del momento en que ocurren y del estímulo que los evoca. Para estudiar esta posibilidad, primero se aislaron los eventos de *freezing* que suceden exclusivamente durante la presentación del CS+ y se separaron según la fase de la *Extinción* en la que ocurren, con el objetivo de analizar si el perfil oscilatorio se modifica a lo largo del proceso de extinción (**Fig. 26**). Los resultados mostraron que la dinámica oscilatoria del *freezing* se modifica con la extinción. Se observó que la potencia de 4-Hz disminuye significativamente en la BLA y el IL (ambos: $p < 0,02$, $d > 40$), pero no en el PL ($F_{(3,322)} = 1,05$, $p = 0,37$, $d = 0,09$). En contraste, la potencia theta muestra un aumento particularmente marcado en BLA e IL, con diferencias significativas entre fases tempranas y tardías de la *Extinción 1* (todos: $p < 0,01$, $d > 0,29$), mientras que en el PL no varía significativamente ($F_{(3,322)} = 1,37$, $p = 0,25$, $d = 0,23$). En la banda beta, se observan aumentos significativos principalmente en PL e IL (ambos: $p < 0,001$, $d > 0,68$), sobre todo intrasesión. Del mismo modo, gamma lento presenta un incremento durante la *Extinción 1* en la BLA, el PL y el IL (todos: $p < 0,01$, $d > 0,37$), al igual que gamma rápido (todos: $p < 0,003$, $d > 0,42$).

Estas variaciones muestran que el patrón oscilatorio del *freezing* no es estático, sino que se modifica conforme el animal atraviesa el proceso de extinción, incluso cuando la conducta observable parece la misma. Este cambio es consistente con que los episodios de *freezing* tienden a ser más breves y menos frecuentes, y que esta reducción en duración se acompaña de una disminución en la potencia de las oscilaciones de 4-Hz durante la extinción (Ozawa et al., 2020; ver **Fig. 24**). En conjunto, nuestros datos sugieren que los mecanismos neurales que subyacen al *freezing* no son homogéneos, sino que evolucionan dinámicamente junto con el estado del aprendizaje y la memoria aversiva.

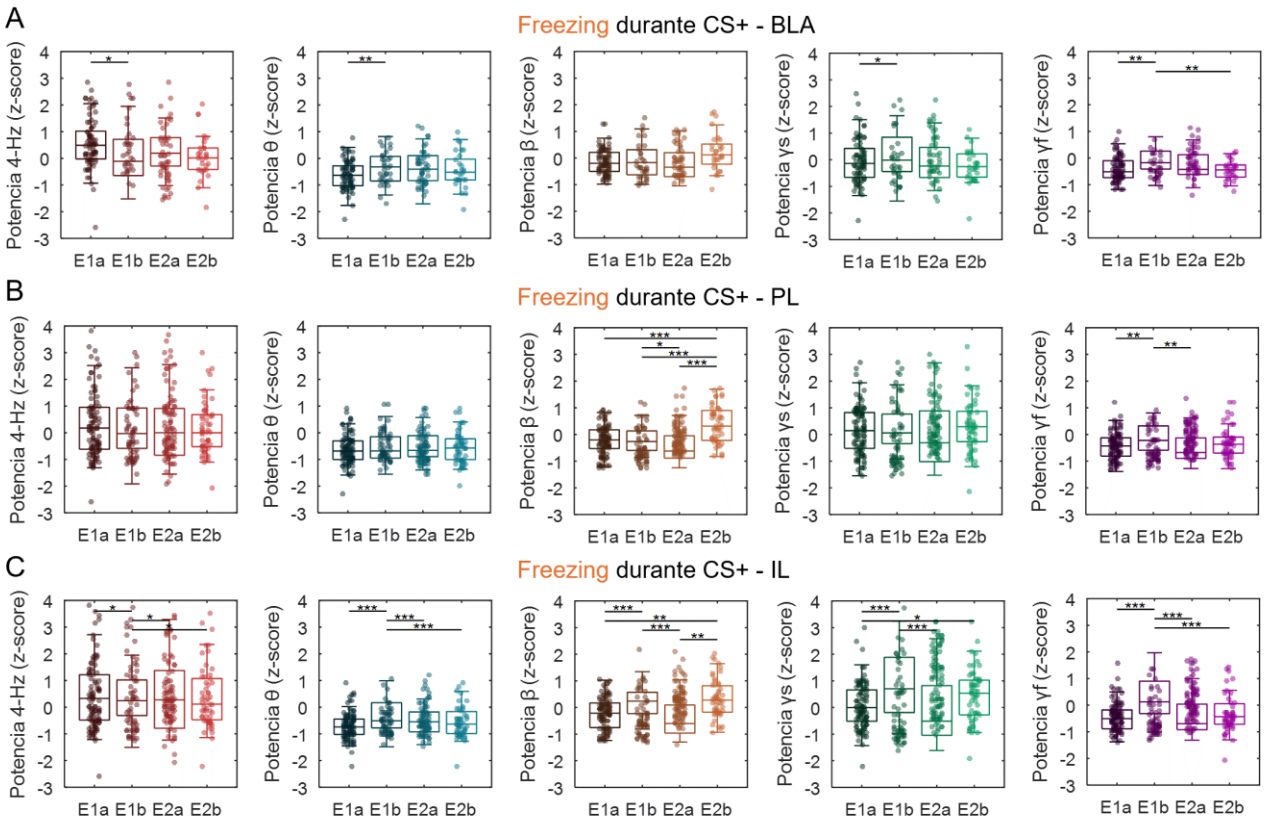


Figura 26. Evolución de la potencia oscilatoria durante eventos de *freezing* ocurridos dentro del CS+ a lo largo de las fases de *Extinción 1* y 2. A-C. Potencia oscilatoria (expresada en z-score) durante el *freezing* que ocurre dentro de la presentación CS+, calculada en distintas bandas de frecuencia (4 Hz, θ: theta; β: beta; γ_s: gamma lento; γ_f: gamma rápido) para BLA (**A**), PL (**B**) e IL (**C**), durante las fases de *Extinción 1 Temprana* (E1a), *Extinción 1 Tardía* (E1b), *Extinción 2 Temprana* (E2a) y *Extinción 2 Tardía* (E2b). ($p < 0,05$: *; $p < 0,01$: **; $p < 0,001$: ***). N: total de eventos de *freezing* ocurridos durante el CS+ de la fase correspondiente.

Por otro lado, se evaluó si existe una influencia de estímulo que evoca los eventos de *freezing* sobre sus componentes frecuenciales. Se analizaron los eventos de *freezing* que ocurren durante la *Extinción 1 Temprana* según el estímulo o ensayo en el cual fueron evocados (**Fig. 27**). Los resultados muestran que incluso dentro de una misma fase del experimento, en este caso, la *Extinción 1 Temprana*, los eventos de *freezing* no son homogéneos, sino que su perfil oscilatorio varía en función del contexto en el que ocurren. En particular, se observaron diferencias en la potencia de distintas bandas de frecuencia, dependiendo de si el *freezing* ocurría durante la presentación del CS+, del CS-, previo a los CS (preCS) o durante los intervalos entre estímulos (ITI). En BLA, PL e IL, por ejemplo, la potencia theta fue significativamente menor durante el CS- en comparación con el CS+ (todos: $p < 0,02$, $d > 0,49$). Por otro lado, la potencia de gamma rápido fue mayor en el preCS que durante el CS- en BLA ($F_{(3,125)} = 3,12$, $p = 0,03$, $d = 0,55$; CS- vs preCS: $p = 0,01$, $d = 0,47$) e IL ($F_{(3,190)} = 13,82$, $p < 0,001$, $d = 0,94$; CS- vs preCS: $p < 0,001$, $d = 0,49$). Estas diferencias sugieren que el *freezing* no constituye un comportamiento con una expresión fisiológica uniforme, sino que su dinámica oscilatoria varía en función del contexto en el que se manifiesta. Es probable que existan distintos eventos de *freezing*, con algunos caracterizados por una alta potencia en la banda de 4-Hz, posiblemente vinculados a estados de mayor expresión de memoria aversiva, mientras que otros presenten una potencia más atenuada en dicha banda, que podrían reflejar un estado más ambiguo o transicional. Esta heterogeneidad indica que el *freezing* no debería analizarse como una categoría única desde el punto de vista neurofisiológico, sino como un conjunto de respuestas con variabilidad interna, moduladas por la historia del aprendizaje y el tipo de estímulo que lo evoca, lo que plantea la necesidad de considerar esta diversidad al interpretar los correlatos neuronales de las respuestas aversivas.

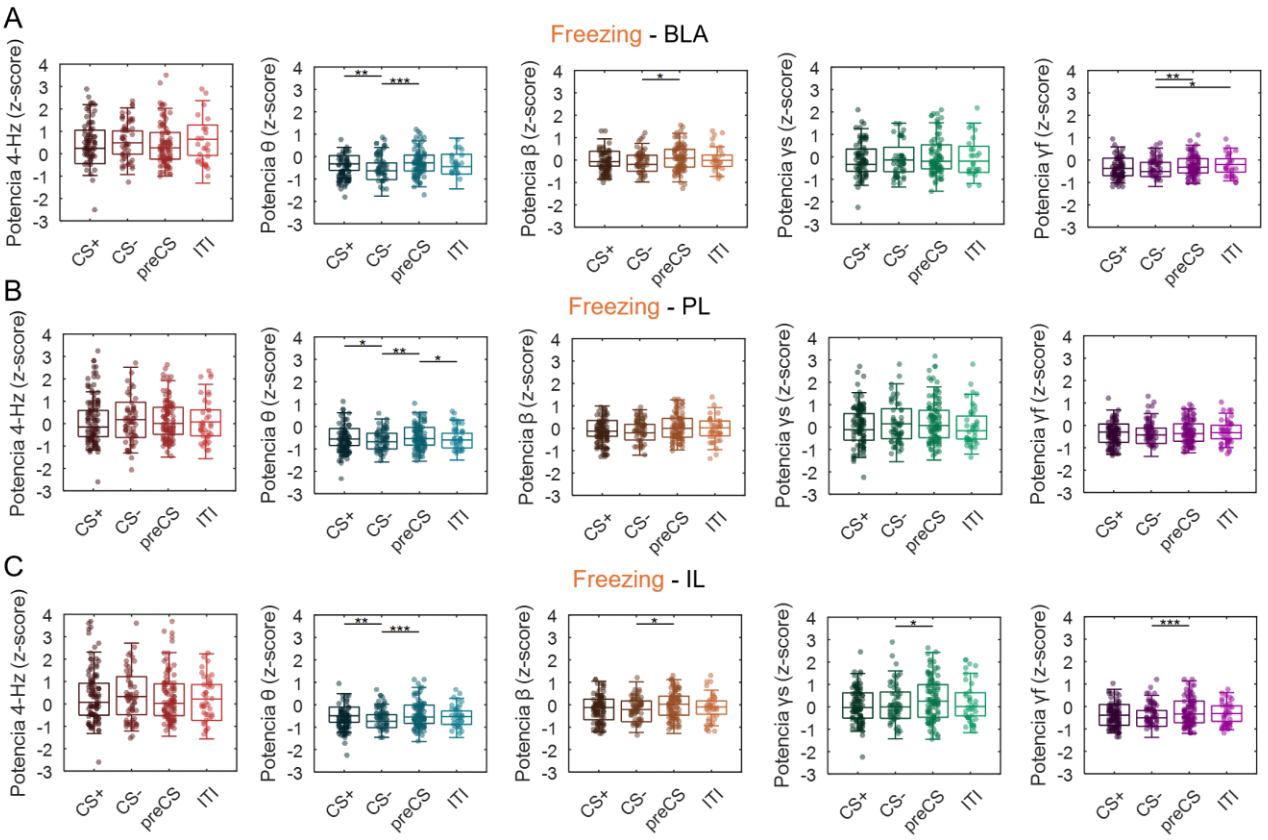


Figura 27. Potencia oscilatoria durante eventos de *freezing* según el tipo de ensayo en la fase de *Extinción 1 Temprana*. A-C. Comparación de la potencia oscilatoria (expresada en z-score) en las distintas bandas de frecuencia (4 Hz, θ: theta; β: beta; γ_s: gamma lento; γ_f: gamma rápido) durante los eventos de *freezing* que ocurren en la fase de *Extinción 1 Temprana*, segmentados por tipo de ensayo: durante el CS+, el CS-, el período previo al estímulo (preCS) y el intervalo entre ensayos (ITI), en BLA (**A**), PL (**B**) e IL (**C**). ($p < 0,05$: *; $p < 0,01$: **; $p < 0,001$: ***). N: total de eventos de *freezing* ocurridos durante el ensayo correspondiente (CS+, CS-, preCS, ITI).

R.2.3. Patrones oscilatorios durante la expresión o extinción del miedo explicados por dos tipos de *freezing*

La variabilidad en la expresión del *freezing* ya había sido reportada en estudios previos (Han et al., 2023). Sin embargo, no se abordó el posible valor funcional de esta heterogeneidad ni su relación con el procesamiento de la memoria aversiva. Además, las oscilaciones de 4-Hz y theta parecen mantener una relación antagónica, en la que típicamente predomina una u otra. Al alinear todos los eventos de *freezing* a su inicio, se observó una distribución heterogénea en la potencia de 4-Hz, que varía desde eventos fuertemente enriquecidos en esta frecuencia hasta otros con niveles bajos de potencia (Fig. 28A). De manera análoga, la potencia en la banda theta también muestra una variabilidad considerable, presentando eventos con mayor o menor enriquecimiento en esa frecuencia (Fig. 28B).

Con el objetivo de analizar en mayor profundidad la variabilidad en la dinámica oscilatoria del *freezing*, se clasificaron los eventos individuales en función del predominio relativo de las bandas de 4-Hz y theta. Para ello, se calculó la relación de potencia 4-Hz/theta para cada evento y se pudo observar que dicha relación se mantuvo de manera consistente a lo largo de las tres regiones cerebrales analizadas: la BLA, el PL y el IL (Fig. 28C). Específicamente, aquellos eventos enriquecidos en 4-Hz tendieron a serlo de manera consistente en las tres regiones, mientras que los eventos enriquecidos en theta también lo fueron de forma coherente entre estructuras. Dado este

patrón interregional consistente, se optó por combinar la información en un único índice, mediante el promedio de las tres relaciones, obteniendo así una relación compuesta 4-Hz/theta por evento. Este índice nos permitió clasificar los episodios de *freezing* en dos grupos funcionales: aquellos enriquecidos en 4-Hz (relación compuesta > 1), y aquellos enriquecidos en theta (relación compuesta < 1) (**Fig. 28D**). A pesar de esta dicotomización con fines prácticos, la variabilidad observada en los eventos de *freezing* mostró una distribución continua y uniforme, sin agrupamientos discretos. Si bien en estudios previos se ha asociado la duración de los eventos de *freezing* con la potencia de las oscilaciones de 4-Hz (Ozawa et al., 2020), en nuestros resultados no se observó una relación significativa entre la duración de los episodios individuales de *freezing* y la relación compuesta 4-Hz/theta (**Fig. 28D**; $R^2 = 0{,}002$; $p = 0{,}27$). Sin embargo, sí se encontró una correlación significativa entre el porcentaje de *freezing* y la relación 4-Hz/theta para cada CS (**Fig. 28E**; $R^2 = 0{,}10$; $p < 0{,}0001$). Esto sugiere que los ensayos en los cuales los animales expresan niveles más altos de *freezing* tienden a estar enriquecidos en oscilaciones de 4-Hz, mientras que aquellos con menor expresión de *freezing* presentan un perfil oscilatorio más enriquecido en theta.

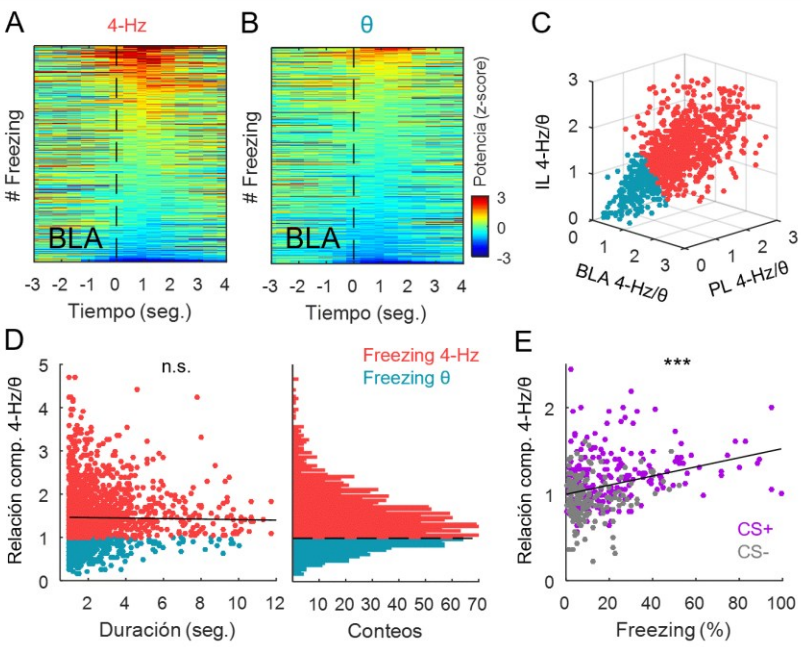


Figura 28. Segmentación de los eventos de *freezing* en subtipos enriquecidos en 4 Hz o theta. A. Dinámica de la potencia en la banda de 4 Hz (expresada en z-score) para cada evento de *freezing*, alineada al inicio del evento y ordenada en forma decreciente según la potencia media de 4-Hz durante los primeros 2 segundos desde el inicio. **B**. Igual que en A, pero para la potencia en la banda theta y ordenada de forma decreciente según theta. **C**. Relación 4 Hz/theta calculada en BLA (eje X), PL (eje Y) e IL (eje Z) para cada evento de *freezing*. Cada punto representa un evento, clasificado como *freezing* 4 Hz (magenta) o *freezing* theta (cian). **D**. Relación compuesta 4 Hz/theta, calculada como el promedio de las tres regiones (BLA, PL e IL). Esta métrica se utilizó para segmentar los eventos aplicando un umbral en 1. Se muestra la correlación entre la duración del evento y la relación compuesta 4-Hz/theta (izquierda) y la distribución de frecuencia de cada subtipo (derecha). **E**. Correlación entre la relación compuesta 4 Hz/theta y el porcentaje de *freezing* observado durante CS+ y CS-, incluyendo datos de las fases de *Extinción 1* y 2. (n.s.: no significativo; **p < 0,001). N: total de eventos de *freezing* combinando *Extinción 1 y 2*.

Con el objetivo de caracterizar las diferencias oscilatorias entre los dos tipos de *freezing*, se analizaron sus dinámicas espectrales. En primer lugar, ambos tipos de *freezing* presentan una disminución marcada en la aceleración al alinearla con el inicio del evento, sin diferencias evidentes en la magnitud o perfil de dicha aceleración (**Fig. 29A-B**). Esto sugiere que, desde el punto de vista motor, ambos episodios corresponden a estados de inmovilidad equivalentes, y que la clasificación

en dos tipos no responde a diferencias en la intensidad del comportamiento. En este sentido, el *freezing* 4-Hz replica el patrón oscilatorio previamente descripto para la evocación de memoria aversiva, con un aumento sostenido de potencia en dicha banda en las regiones BLA, PL e IL, mientras que el *freezing* theta presenta un patrón distinto, con menor potencia en 4-Hz y un incremento relativo en theta (**Fig. 29A y C**).

Los eventos de *freezing* 4-Hz se caracterizan por un aumento de la potencia de 4-Hz en comparación con los eventos de *freezing* theta (**Fig. 29D-G**; todos: $p < 0,001$, $d < -0,48$) y con respecto a la línea de base (todos: $p < 0,001$, $d > 0,25$). Asimismo, este perfil se ve acompañado de una disminución de la potencia de theta durante el *freezing* 4-Hz en comparación con los eventos de *freezing* theta (**Fig. 29D-G**; todos: $p < 0,001$, $d > 0,45$) debido principalmente a una menor potencia durante el *freezing* 4-Hz con respecto a la línea de base (todos: $p < 0,001$, $d < -0,88$). La banda beta presentó una mayor potencia durante el *freezing* 4-Hz en contraste con el *freezing* theta, pero de efectos marginales (**Fig. 29D-G**; todos: $p < 0,001$, $d < -0,10$). En cuanto a gamma lento, se observó una mayor potencia durante el *freezing* 4-Hz en comparación con el *freezing* theta (**Fig. 29D-G**; todos: $p < 0,001$, $d < -0,14$) debido a un aumento en comparación con la línea de base en el PL y el IL (ambos: $p < 0,001$, $d > 0,42$). Finalmente, en la banda de gamma rápido observamos una disminución durante los eventos de *freezing* 4-Hz en comparación con el *freezing* theta, aunque de efecto marginal (**Fig. 29D-G**; todos: $p < 0,001$, $d > 0,10$), donde ambos tipos de *freezing* se caracterizaron por una reducción de la potencia en esta banda en comparación con la línea de base (ambos: $p < 0,001$, $d < -0,29$). Esto sugiere que la actividad gamma rápido tiende a estar suprimida durante el *freezing*, independientemente de la onda lenta predominante. Esta disminución contrasta con el aumento de potencia gamma rápido observado previamente durante los episodios de movimiento, reforzando la idea de que *freezing* theta y movimiento constituyen estados comportamentales y fisiológicos claramente diferenciados.

Habiendo observado que existen dos tipos de *freezing* diferenciables en función de su perfil oscilatorio, nos propusimos analizar si la proporción entre ambos se modifica a lo largo del proceso de extinción, como posible reflejo de cambios en la expresión de la memoria aversiva. El análisis de la evolución temporal del tipo de *freezing* reveló que la proporción relativa entre ambos se modificó de manera significativa a lo largo del proceso de extinción. Específicamente, durante el CS+ y en la *Extinción 1 Temprana* se observó una clara predominancia de eventos enriquecidos en 4-Hz, mientras que, en los bloques posteriores, una vez atenuada la respuesta condicionada, esta proporción disminuyó de forma significativa (**Fig. 29H**; todos: $p < 0,02$). Este cambio sugiere que, además de la reducción progresiva en la cantidad total de *freezing* y el aumento de eventos de movimiento a lo largo de la extinción (ver **Fig. 24H-K**), también cambia el tipo de *freezing* que se evoca, reflejando una transformación en la expresión fisiológica de la respuesta aversiva.

Adicionalmente, se evaluó la organización temporal de los dos tipos de *freezing*. La probabilidad de ocurrencia en función del tiempo mostró que los episodios de *freezing* tienden a suceder junto con otros eventos del mismo tipo (**Fig. 29I**), sugiriendo que no ocurren de forma aislada. Asimismo, al examinar la evolución temporal de la relación 4-Hz/theta para ambos tipos de *freezing*, se observó que cada episodio mantiene un perfil oscilatorio estable a lo largo de toda su duración (**Fig. 29J**). Es decir, cada evento conserva dicha dominancia desde el inicio hasta el final, sin evidencia de transiciones entre perfiles oscilatorios.

Por último, con el objetivo de descartar que las diferencias observadas entre los dos tipos de *freezing* fueran producto de artefactos en su detección, se comparó la detección realizada con el acelerómetro con una realizada a partir de los videos adquiridos simultáneamente. El análisis del video es un método ampliamente utilizado en estudios de condicionamiento de miedo que permite validar los eventos identificados. Al comparar los episodios detectados, se observó un alto grado de solapamiento entre ambos métodos (**Fig. 29K**). Específicamente, el 96 % de los eventos detectados

por acelerómetro también fueron identificados a partir del video, mientras que el 95 % de los episodios detectados por video coincidieron con los identificados por el acelerómetro. Estos resultados confirman que ambos tipos de *freezing*, tanto los enriquecidos en 4-Hz como en theta, corresponden a episodios genuinos, descartando la posibilidad de que se trate de falsos positivos derivados del método de detección.

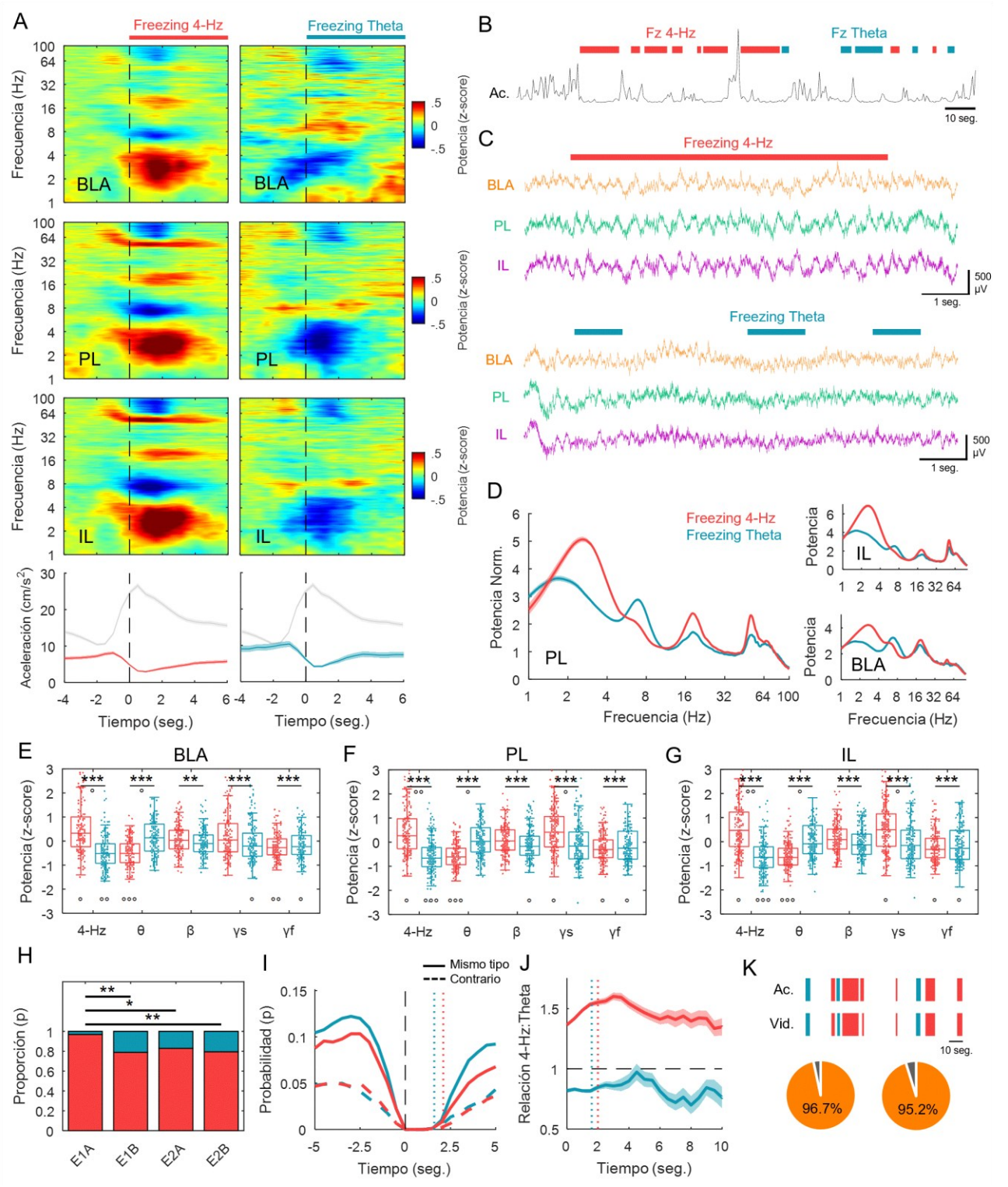


Figura 29. Dinámica oscilatoria durante eventos de *freezing* 4 Hz y *freezing* theta. A. Espectrogramas promedio (expresados en z-score) alineados al inicio de eventos clasificados como *freezing* 4 Hz (izquierda) o *freezing* theta (derecha) en BLA (arriba), PL (medio) e IL (abajo). En la parte inferior se muestra la aceleración promedio correspondiente a cada tipo de evento; la línea indica la media y el área sombreada, el error estándar de la media (SEM). En cada gráfico, se incluye además la curva correspondiente a los eventos de movimiento (en gris), con el fin de facilitar la comparación entre condiciones. **B**. Ejemplo de trazo de aceleración en un animal representativo, con eventos clasificados como *freezing* 4 Hz (magenta) y *freezing* theta (cyan) indicados en la parte superior. **C**. Señales LFP representativas registradas simultáneamente en BLA, PL e IL durante episodios de *freezing* 4 Hz (arriba) y *freezing* theta (abajo), señalados con una línea horizontal. **D**. Espectros de densidad de potencia (PSD) normalizada para eventos de *freezing* 4 Hz y *freezing* theta en PL (panel principal), y en BLA e IL (paneles insertos). Las líneas representan la mediana y las áreas sombreadas, el desvío absoluto de la mediana (MAD). **E-G**. Cuantificación de la potencia oscilatoria (expresada en z-score) por banda de frecuencia (4 Hz, θ: theta; β: beta; γ_s: gamma lento; γ_f: gamma rápido) en cada región, comparando entre eventos *freezing* 4 Hz y *freezing* theta. **H**. Proporción de eventos clasificados como *freezing* 4 Hz o *freezing* theta ocurridos durante el CS+ a lo largo de las fases de extinción (E1A: n = 97, E1B: n = 71, E2A: n = 41, E2B: n = 39). **I**. Probabilidad de ocurrencia de eventos de *freezing*, alineada al inicio de los eventos clasificados como *freezing* 4-Hz o *freezing* theta. La línea plena indica la probabilidad de que ocurra un evento del mismo tipo, mientras que la línea discontinua representa la probabilidad de ocurrencia de un evento del tipo contrario. La línea punteada negra indica el inicio del evento de *freezing* tomado como referencia. **J**. Evolución temporal de la relación compuesta 4 Hz/theta durante eventos de *freezing* 4 Hz o *freezing* theta, desde el inicio del evento. La línea horizontal indica el valor umbral donde ambas potencias son equivalentes. En I-J, las líneas punteadas de color indican la duración media de los eventos *freezing* 4 Hz (magenta) o *freezing* theta (cyan). **K**. Detección simultánea de episodios de *freezing* 4 Hz y *freezing* theta mediante el acelerómetro (Ac.) y análisis por video (Vid.). Se muestra un registro representativo (arriba) y, debajo, la proporción de concordancia entre ambos métodos (gráficos circulares), expresada como: porcentaje de los episodios detectados por acelerómetro que también fueron detectados por video (izquierda), y porcentaje de los episodios detectados por video que también fueron detectados por acelerómetro (derecha). (p-valor: $p < 0,05$: *; $p < 0,01$: **; $p < 0,001$: ***; tamaño del efecto: $d > 0,2$: °; $d > 0,5$: °°; $d > 0,8$: °°°). N: total de eventos de *freezing* combinando las sesiones de *Extinción 1 y 2*.

En resumen, se observó que la dinámica oscilatoria en la BLA, el PL y el IL varía sistemáticamente durante la evocación de la memoria aversiva y el proceso de extinción. En este sentido, los episodios de *freezing* y de movimiento exhiben patrones oscilatorios bien diferenciados y consistentes, lo que sugiere que las diferencias entre CS+ y CS- observadas reflejan el estado comportamental del animal. Además, se encontraron dos subtipos de *freezing*: uno enriquecido en 4-Hz y otro enriquecido en theta, que reflejarían distintos estados funcionales. Mientras que el *freezing* 4-Hz predomina durante la evocación de la memoria aversiva, el *freezing* theta emerge en etapas avanzadas de extinción y se caracteriza por un patrón oscilatorio distintivo con dinámicas diferenciadas que lo separan del perfil asociado a la evocación del miedo. En conjunto, estos resultados indican que las distintas dinámicas oscilatorias no solo acompañan el comportamiento observable, sino que también se podrían pensar como diferentes estados internos del animal asociados a los procesos de evocación o inhibición de memorias aversivas. A continuación, se exploró cómo estas dinámicas oscilatorias se coordinan entre regiones, haciendo foco en la sincronización entre la BLA y las subdivisiones de la mPFC, con el objetivo de identificar correlatos interregionales de la evocación del miedo y de la extinción de la memoria.

R.2.4. Dinámica de la interacción entre la BLA y la mPFC durante la evocación y extinción del miedo

La interacción entre la BLA y la mPFC cumple un rol central en la regulación del miedo, manifestándose en patrones de sincronización y en la direccionalidad del flujo de información que varían según el estado emocional del animal. Durante la expresión del miedo, se ha descripto una mayor sincronización entre ambas estructuras en el rango de 4-Hz, acompañada por un flujo de información en esa frecuencia desde la mPFC hacia la BLA, dinámica observada durante los episodios de *freezing* (Karalis et al., 2016). En contraste, durante la respuesta de huida o en contextos de seguridad, el acoplamiento de theta entre ambas regiones es bidireccional e incluso

con la BLA liderando en algunos casos (Popa et al., 2010; Han et al., 2023). Esto sugiere que tanto 4-Hz como theta canalizan la interacción entre regiones según el tipo de conducta (Han et al., 2023). Además, la interacción entre el IL y la BLA no presenta un liderazgo claro durante la presentación del CS+, pero luego de la extinción surge una direccionalidad desde el IL hacia la BLA (Lesting et al., 2013). De forma complementaria, durante la presentación de un estímulo seguro (CS-) o luego de la extinción, aumenta la potencia de gamma rápido en la mPFC y la BLA, con una direccionalidad mPFC → BLA (Stujenkse et al., 2014). En conjunto, estos estudios respaldan la idea de que el circuito BLA-mPFC implementa un mecanismo dinámico de comunicación que se ajusta al estado conductual del animal y que varía con la expresión e inhibición del miedo condicionado. Sin embargo, la información es fragmentaria y, en muchos casos, no se realiza una distinción clara entre las bandas lentas (4-Hz y theta), ni entre lo que ocurre durante los CS o durante los eventos comportamentales.

Con el fin de estudiar la interacción entre las áreas del circuito BLA-mPFC durante los distintos estados de evocación y extinción de la memoria de miedo, se analizó la conectividad entre la BLA y las regiones PL e IL de la mPFC. Se utilizaron tres métricas complementarias que permiten explorar distintas dimensiones de las interacciones BLA-PL y BLA-IL: la causalidad de Granger, que permite inferir la dirección del flujo de información entre señales; el acoplamiento de fase (PLV), que evalúa la sincronización temporal a nivel de fase; y la coherencia, que cuantifica el grado de correlación espectral entre regiones en bandas de frecuencia específicas. La interacción entre el PL y el IL no fue abordada en el presente trabajo, ya que el foco se centró en la interacción BLA-mPFC. Sin embargo, examinar la dinámica entre PL e IL podría ser de interés en trabajos futuros. Una interacción entre ambas regiones podría reflejar mecanismos de competencia o modulación cruzada, especialmente relevantes durante la transición entre la memoria de miedo y la de extinción. Además, algunos estudios han demostrado la existencia de proyecciones recíprocas entre PL e IL dentro de la mPFC (Vertes, 2004; Ji y Neugebauer, 2012; Marek et al., 2018), y plantean que la sincronización o disociación entre estas regiones podría resultar clave para procesos como la generalización o discriminación de señales de peligro (Likhtik et al., 2014), la regulación emocional y la resolución de conflictos entre memorias.

A partir de los espectros cruzados, se identificaron los componentes frecuenciales comunes en ambas regiones de interés para cada estado comportamental (**Fig. 30B**). Por ejemplo, se puede ver como durante los episodios de *freezing* 4-Hz, las señales mostraron un alto grado de sincronización en la banda de 4-Hz (**Fig. 30A**). Si bien la interacción entre la BLA y la mPFC se da en ambos sentidos, la direccionalidad del flujo de información varía según el estado comportamental y el momento de la tarea, con periodos en los que una dirección predomina sobre la otra. En particular, durante los eventos de *freezing* 4-Hz en la *Extinción 1 Temprana* (**Fig. 30C**), la banda de 4-Hz mostró una direccionalidad en el flujo de información desde el IL hacia la BLA ($F_{(1,568)}$ = 37,75, p < 0,001, d = 0,27) que se perdió durante la *Extinción 2 Temprana* (**Fig. 30D**; BLA/PL: $F_{(1,372)}$ = 1,10, p = 0,29, d = -0,13; BLA/IL: $F_{(1,372)}$ = 0,08, p = 0,99, d = -0,08). En el caso del *freezing* theta registrado en la *Extinción 1 Temprana* (**Fig. 30E**), se observó una direccionalidad predominante de theta desde la BLA hacia el PL ($F_{(1,1680)}$ = 20,39, p < 0,001, d = -0,38). Asimismo, en la *Extinción 2 Temprana* (**Fig. 30F**), la oscilación theta presentó direccionalidad significativa desde BLA hacia ambas regiones prefrontales (ambas: p < 0,01, d < -0,28). Por otro lado, en los periodos de movimiento en la *Extinción 1 Temprana* (**Fig. 30G**), la interacción fue bidireccional en ambos casos (ambos p > 0,11, d < -0,04). En cambio, en la *Extinción 2 Temprana* (**Fig. 30H**), se registró una direccionalidad significativa, pero de efecto marginal, desde el IL hacia la BLA ($F_{(1,1696)}$ = 14,37, p < 0,001, d = 0,08).

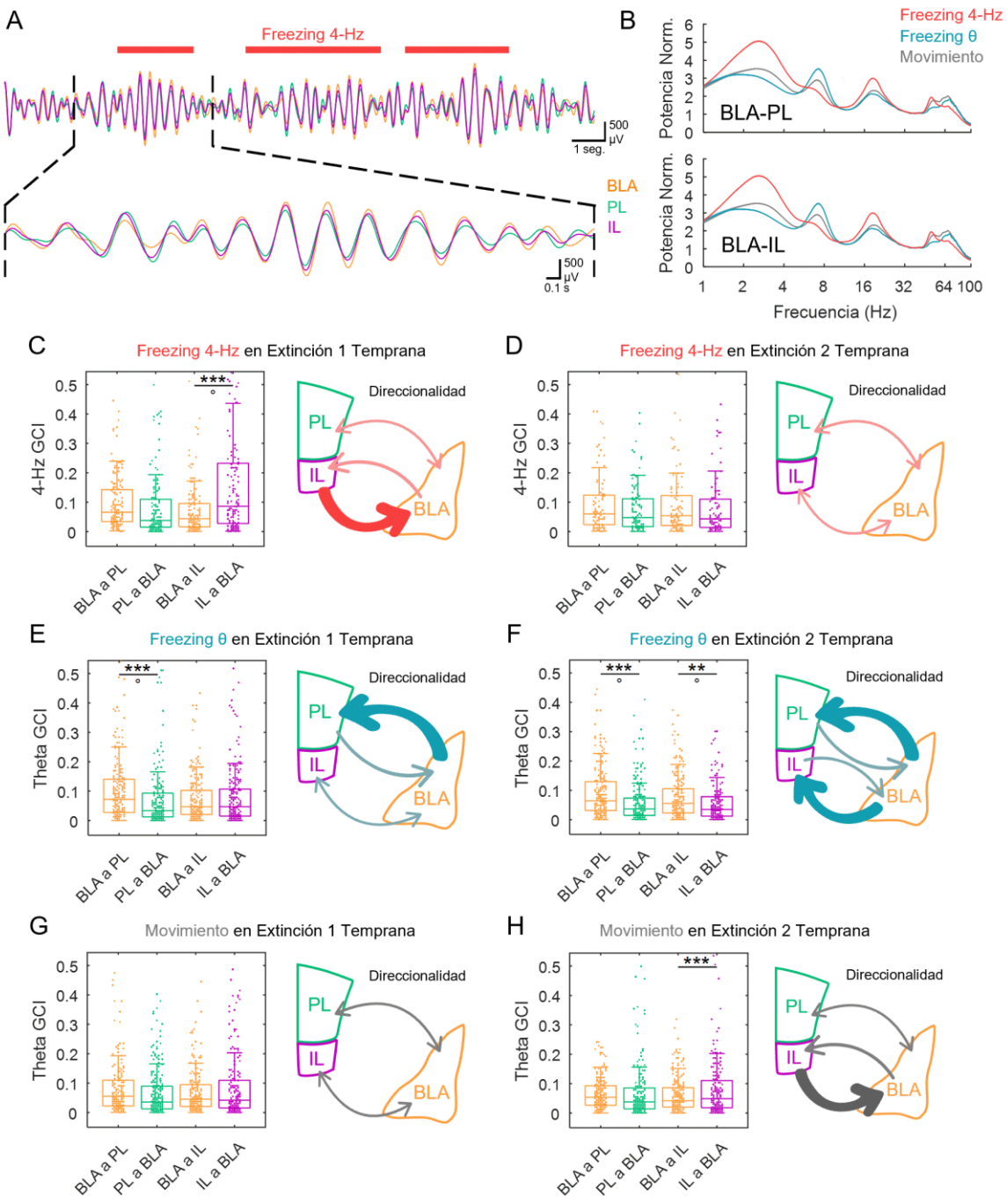


Figura 30. Direccionalidad de la información en la red BLA-mPFC durante la evocación y extinción del miedo. A. Señales de LFP filtradas en la banda de 4-Hz y registradas simultáneamente en la BLA (naranja), el PL (verde) y el IL (violeta) durante episodios de *freezing* 4-Hz en un animal representativo. Abajo, se muestra una ampliación temporal de un evento destacado. **B**. Espectros de potencia cruzados y normalizados entre BLA-PL (arriba) y BLA-IL (abajo), calculados para las tres condiciones comportamentales: *freezing* 4-Hz (magenta), *freezing* theta (cyan) y movimiento (gris). **C-H**. Índice de causalidad de Granger (GCI) entre pares de regiones para las bandas de 4-Hz (C-D) y theta (E-H) en dos momentos de la tarea: *Extinción 1 Temprana* (C, E, G) y *Extinción 2 Temprana* (D, F, H). Los análisis se realizaron para las tres condiciones comportamentales: *freezing* 4-Hz (C-D), *freezing* theta (E-F) y movimiento (G-H). Junto a cada panel se muestra un esquema resumen que indica la direccionalidad predominante entre regiones en cada caso. (** p < 0,01; *** p < 0,001; tamaño del efecto: d > 0,2: °). N: total de eventos de *freezing* 4-Hz, *freezing* theta y movimiento ocurridos en el periodo que comprende la fase correspondiente.

En la banda beta, durante la *Extinción 1 Temprana* se observó una direccionalidad significativa desde la BLA hacia el PL en los tres comportamientos analizados (todos: $p < 0,001$, $d < -0,2$). En la *Extinción 2 Temprana*, esta dirección se mantuvo significativa (todos: $p < 0,01$, $d < -0,45$) y, además, emergió un flujo hacia el IL durante el *freezing* theta y el movimiento (ambos: $p < 0,001$, $d < -0,22$). Por otro lado, en ambas bandas gamma, los resultados mostraron un patrón consistente de direccionalidad desde la BLA hacia el PL, observado en los tres comportamientos (**Fig. 31**; todos: $p < 0,001$, $d < -0,36$), con cierto cambio hacia la bidireccionalidad en la *Extinción 2 Temprana*, específicamente para el caso de gamma rápido durante el *freezing* 4-Hz (**Fig. 31B**; $F_{(1,372)} = 3.25$, $p = 0.07$, $d = -0.32$). A su vez, la interacción entre la BLA y el IL en la banda de gamma lento tendió a ser bidireccional en términos generales (todos: $p > 0,05$, $|d| < 0,17$, salvo en **Fig. 31A y F**), aunque tras la extinción, durante los eventos de movimiento, se observó una direccionalidad significativa desde la BLA hacia el IL (**Fig. 31F**; $F_{(1,1696)} = 12,09$, $p < 0,001$, $d = -0,27$). Finalmente, se registró en términos generales un flujo desde el IL hacia la BLA en gamma rápido, presente en los tres comportamientos (todos: $p < 0,001$, $d > 0,24$), pero que se volvió bidireccional en fases posteriores, para el caso del movimiento (**Fig. 31F**; $F_{(1,1696)} = 0,61$, $p = 0,44$, $d = 0,09$).

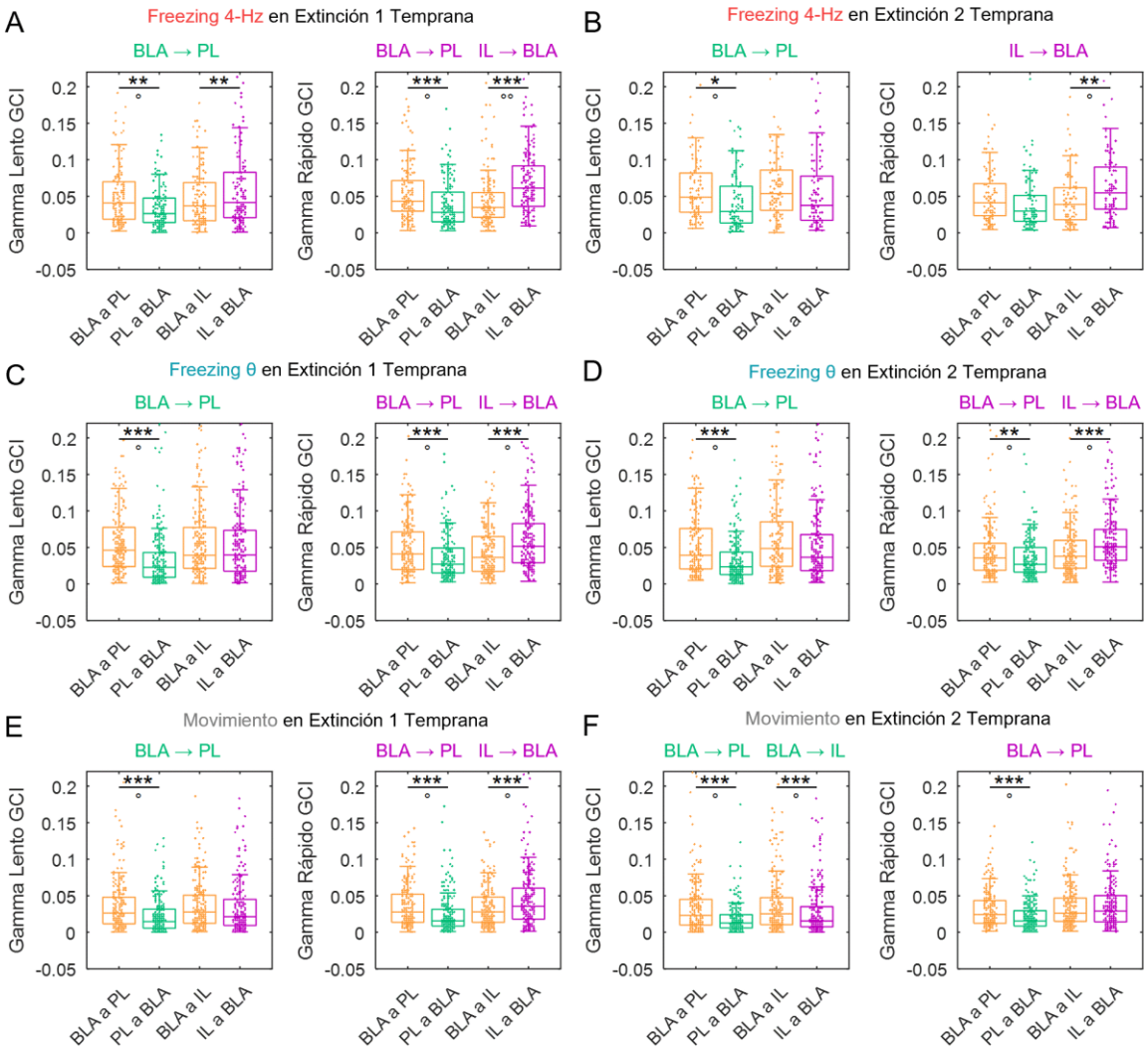


Figura 31. Direccionalidad funcional en la red BLA-mPFC en ambas bandas de gamma. A-F. Índice de causalidad de Granger (GCI) entre pares de regiones para las bandas de gamma lento (izquierda en cada panel) y gamma rápido (derecha en cada panel), calculado en dos momentos de la tarea: *Extinción 1 Temprana* (A, C, E) y *Extinción 2 Temprana* (B, D, F), y para tres condiciones comportamentales: *freezing* 4-Hz (A-B), *freezing* theta (C-D) y movimiento (E-F). Sobre cada panel,

se indica con flechas (A → B) la direccionalidad predominante observada en esa condición. (* p < 0,05; ** p < 0,01; *** p < 0,001; tamaño del efecto: d > 0,2: °; d > 0,5: °°). N: total de eventos de *freezing* 4-Hz, *freezing* theta y movimiento ocurridos en el periodo que comprende la fase correspondiente.

Luego del análisis de direccionalidad en el flujo de información, se evaluaron la coherencia y el PLV como métricas de sincronización entre regiones. Dado que no se observaron cambios en estos parámetros entre la *Extinción 1 y 2 temprana*, los datos fueron agrupados. Por lo tanto, el análisis se centró en comparar los pares de regiones según el tipo de comportamiento, independientemente del momento de la tarea. El análisis de coherencia mostró que, para ambas bandas de frecuencia bajas, la coherencia fue mayor para el par BLA-PL en los tres tipos de evento (**Fig. 32A-C**; todos: p < 0,001, d < -0,49). Para ambos tipos de *freezing* el PLV dio mayor también para BLA-PL, aunque con efectos marginales (**Fig. 32D-E**; ambos: p < 0,001, d < -0,15), pero no para los eventos de movimiento donde, aunque también con un efecto marginal, el PLV dio más grande para BLA-IL (**Fig. 32F**; $F_{(1,1558)}$ = 12,16, p < 0,001, d = 0,09). En las tres bandas de frecuencia más rápidas (beta, gamma lento y gamma rápido), la coherencia fue sistemáticamente mayor entre la BLA y el PL en comparación con el IL (todos: p < 0,001; d < -0,14). En cambio, el PLV fue mayor para la interacción BLA-IL (todos: p < 0,001; d > 0,12), salvo en gamma rápido durante ambos tipos de *freezing*, donde fue superior para BLA-PL (ambos: p < 0,001; d < -0,15).

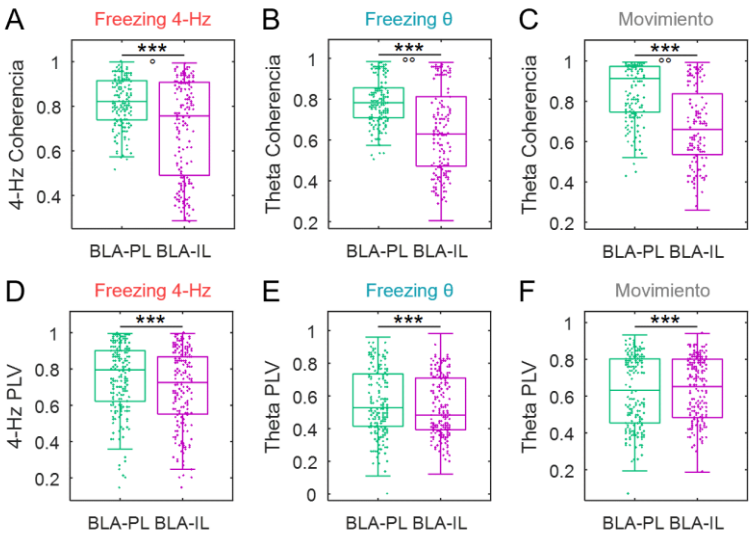


Figura 32. Sincronización funcional en la red BLA-mPFC durante los distintos estados comportamentales. A-F. Comparación de la sincronización funcional entre pares de regiones (BLA-PL y BLA-IL) durante los tres estados comportamentales: *freezing* 4-Hz (A y D), *freezing* theta (B y E) y movimiento (C y F), considerando los eventos ocurridos tanto en *Extinción 1* como en *Extinción 2*. Se analizó la coherencia entre señales (A-C) y el acople de fase (PLV) (D-F), para la frecuencia característica de cada estado (4-Hz para *freezing* 4-Hz; theta para *freezing* theta y movimiento). (***p < 0,001; tamaño del efecto: d > 0,2: °; d > 0,5: °°). N: total de eventos de *freezing* 4-Hz, *freezing* theta y movimiento.

Estos resultados muestran que, durante el *freezing* 4-Hz, estado comportamental que caracteriza la evocación activa de la memoria de miedo, la interacción entre la BLA y la mPFC estuvo dominada por un flujo de información desde el IL hacia la BLA en la banda de 4-Hz, en línea con estudios previos que identificaron este control cortical descendente del mPFC asociado al *freezing*, aunque sin distinguir si la actividad registrada correspondía al PL o al IL (Karalis et al., 2016; Han et al., 2023). En contraste, durante los eventos de *freezing* theta y movimiento, la direccionalidad en la banda theta fue más variable y dependiente del comportamiento. El *freezing* theta se asoció con un flujo desde

la BLA hacia las regiones prefrontales, reflejando un patrón inverso respecto al observado en 4-Hz. Esta disociación funcional entre 4-Hz y theta, que coincide con lo reportado por Han et al. (2023), sugiere que estas bandas oscilatorias actúan como canales diferenciados de comunicación dentro del circuito BLA-mPFC, adaptándose al tipo de memoria evocada y al estado conductual. Asimismo, los resultados en las bandas de beta y gamma revelaron patrones de direccionalidad distintos a los observados en frecuencias más bajas, con diferencias sistemáticas entre gamma lento y gamma rápido. Estas variaciones no solo dependieron del comportamiento expresado, sino también del momento del proceso de extinción, lo que refuerza la idea de que el circuito BLA-mPFC opera a través de múltiples canales con propiedades direccionales específicas. En particular, el comportamiento diferencial entre ambas bandas de gamma sugiere que podrían formar parte de rutas distintas dentro del eje mPFC-BLA, en línea con estudios que han propuesto acoplamientos selectivos entre gamma rápido y oscilaciones en la mPFC durante señales de seguridad (Stujenske et al., 2014).

Nuestros resultados muestran que, durante el *freezing* 4-Hz, la BLA recibe influencia desde ambas subregiones prefrontales, aunque el flujo de información es predominantemente desde el IL, mientras que durante el *freezing* theta, la direccionalidad se invierte y emerge un flujo desde la BLA hacia el PL. Esta disociación sugiere que las subregiones prefrontales participan diferencialmente en función del estado comportamental y del tipo de memoria evocada. A nivel de sincronización oscilatoria, se observó una mayor coherencia entre la BLA y el PL en todas las bandas y comportamientos, lo que refleja una mayor estabilidad espectral entre estas regiones. En contraste, el acoplamiento de fase fue sistemáticamente mayor entre la BLA y el IL, especialmente en las bandas de beta, gamma lento y gamma rápido, indicando una sincronización temporal más precisa. En conjunto, estos resultados sugieren que la BLA se vincula funcionalmente con el PL y el IL mediante mecanismos de interacción distintos, que varían según la frecuencia y el estado comportamental del animal.

R.2.5. Modulación fase-amplitud intraregional en la BLA y la mPFC durante la expresión y extinción del miedo

La dinámica oscilatoria cerebral se organiza jerárquicamente a través de mecanismos de acoplamiento cruzado entre frecuencias, en los cuales ritmos lentos modulan la expresión de ritmos más rápidos. Entre estos mecanismos, la modulación de fase-amplitud (PAC) ha sido ampliamente estudiada como una forma de coordinar la excitabilidad neuronal y segmentar la información en el tiempo (Tort et al., 2008 y 2010; Canolty y Knight, 2010; Belluscio et al., 2012; Lisman y Jensen, 2013). En este fenómeno, la fase de una oscilación lenta, como 4-Hz o theta, condiciona la amplitud de bandas más rápidas permitiendo una integración funcional entre escalas temporales locales y globales del procesamiento neuronal. Esta modulación es considerada un mecanismo clave para la coordinación de la actividad entre redes neuronales que operan a distintas escalas temporales, facilitando la interacción entre procesos rápidos de codificación sináptica y señales lentas que organizan la excitabilidad neuronal. Este tipo de acoplamiento ha sido identificado en regiones límbicas y prefrontales, donde se vincula con procesos de memoria, atención y control emocional (Popescu et al., 2009; Wang et al., 2021). En particular, estudios previos han demostrado que, durante tareas de miedo condicionado y extinción, la BLA y la mPFC muestran un acoplamiento entre theta y gamma. Por ejemplo, durante la presentación de una clave, la fase de la oscilación de theta modula tanto la amplitud de gamma lento como de gamma rápido en la mPFC, pero en diferentes fases (Stujenske et al., 2014). Este patrón sugiere una segregación temporal precisa en el ciclo oscilatorio, que podría contribuir a canalizar distintos tipos de información según la fase del ritmo lento. Sin embargo, aún se conoce poco sobre cómo difiere esta modulación entre la BLA y las subregiones prefrontales PL e IL, y cómo evoluciona a lo largo del proceso de extinción. Además, nuestro enfoque basado en eventos comportamentales definidos permite una caracterización más

precisa y específica del acoplamiento oscilatorio en momentos en que el estado emocional está siendo efectivamente expresado. En este contexto, se analizó la modulación fase-amplitud intrarregional en la BLA, el PL y el IL durante los distintos estados comportamentales evocados en el paradigma, con el objetivo de caracterizar la organización del procesamiento oscilatorio en este circuito en función del comportamiento expresado y del tipo de memoria evocada.

Durante el *freezing* 4-Hz (**Fig. 33A**), se observó una modulación significativa de fase-amplitud en las tres regiones analizadas (BLA, PL e IL), caracterizada por un acoplamiento entre la fase de la oscilación de 4-Hz y la amplitud de gamma lento y gamma rápido. En contraste, durante el *freezing* theta (**Fig. 33B**) y el movimiento (**Fig. 33C**), sólo la amplitud de gamma rápido fue modulada por la fase de theta de forma significativa en el IL. Luego, se analizó la distribución de la amplitud de las oscilaciones gamma en función de la fase de la frecuencia lenta característica de cada comportamiento. En el IL, la oscilación de 4-Hz durante los eventos de *freezing* 4-Hz mostró un patrón de modulación definido (**Fig. 33D**), con gamma lento acoplado preferentemente al valle de la onda y gamma rápido al pico, evidenciando una segmentación entre ambas bandas gamma. Este mismo patrón de segregación de fase también se observó en la BLA y en el PL, aunque de forma menos pronunciada. En cambio, durante el *freezing* theta y el movimiento (**Fig. 33E-F**), la fase de theta moduló principalmente a gamma rápido, que mostró su mayor amplitud en el pico de la onda, mientras que gamma lento, como era de esperar por el análisis anterior, no presentó un acoplamiento claro.

La magnitud de la modulación de la amplitud de gamma por las bajas frecuencias siempre fue consistentemente mayor en IL en comparación con la BLA y el PL. La modulación de gamma lento por la fase de 4-Hz durante los eventos de *freezing* 4-Hz varió significativamente entre regiones (**Fig. 33G**; $F_{(2,154)} = 14,65$, $p < 0,001$, $d = 0,44$), siendo mayor en el IL que en el PL (IL > PL: $p = 0,03$, $d = 0,25$) y que en la BLA (IL > BLA: $p < 0,001$, $d = 0,55$). Esta diferencia de modulación también se observó en el caso de gamma rápido (**Fig. 33H**; $F_{(2,154)} = 44,46$, $p < 0,001$, $d = 0,68$; IL > PL: $p < 0,001$, $d = 0,33$; PL > BLA: $p = 0,004$, $d = 0,44$; IL > BLA: $p < 0,001$, $d = 0,75$). En el contexto del *freezing* theta, también se observaron diferencias significativas en la modulación de gamma rápido por parte de theta (**Fig. 33I**; $F_{(2,83)} = 7,21$, $p = 0,001$, $d = 0,42$), con una mayor modulación en el IL (IL > BLA: $p = 0,005$, $d = 0,63$; PL > BLA: $p = 0,031$, $d = 0,42$). Durante el movimiento, el índice de modulación de gamma rápido por la fase de theta también varió entre regiones (**Fig. 33J**; $F_{(2,165)} = 10,68$, $p < 0,001$, $d = 0,36$), siendo mayor en el IL que en la BLA (IL > BLA: $p < 0,001$, $d = 0,68$). Cuando se analizó si existía un cambio en esta modulación a lo largo de la extinción, el IL presentó un incremento en la modulación de gamma rápido por la fase de theta solo en los eventos de *freezing* theta, con un aumento en las etapas tardías de la extinción (**Fig. 33N**; $F_{(3,29)} = 5,95$, $p = 0,003$, $d = 0,80$; E2B > E1A: $p = 0,01$, $d = 1,25$). En resto de los casos no se observaron variaciones significativas en la modulación fase-amplitud en ninguna de las tres regiones analizadas (todos: $p > 0,19$, $|d| < 0,27$).

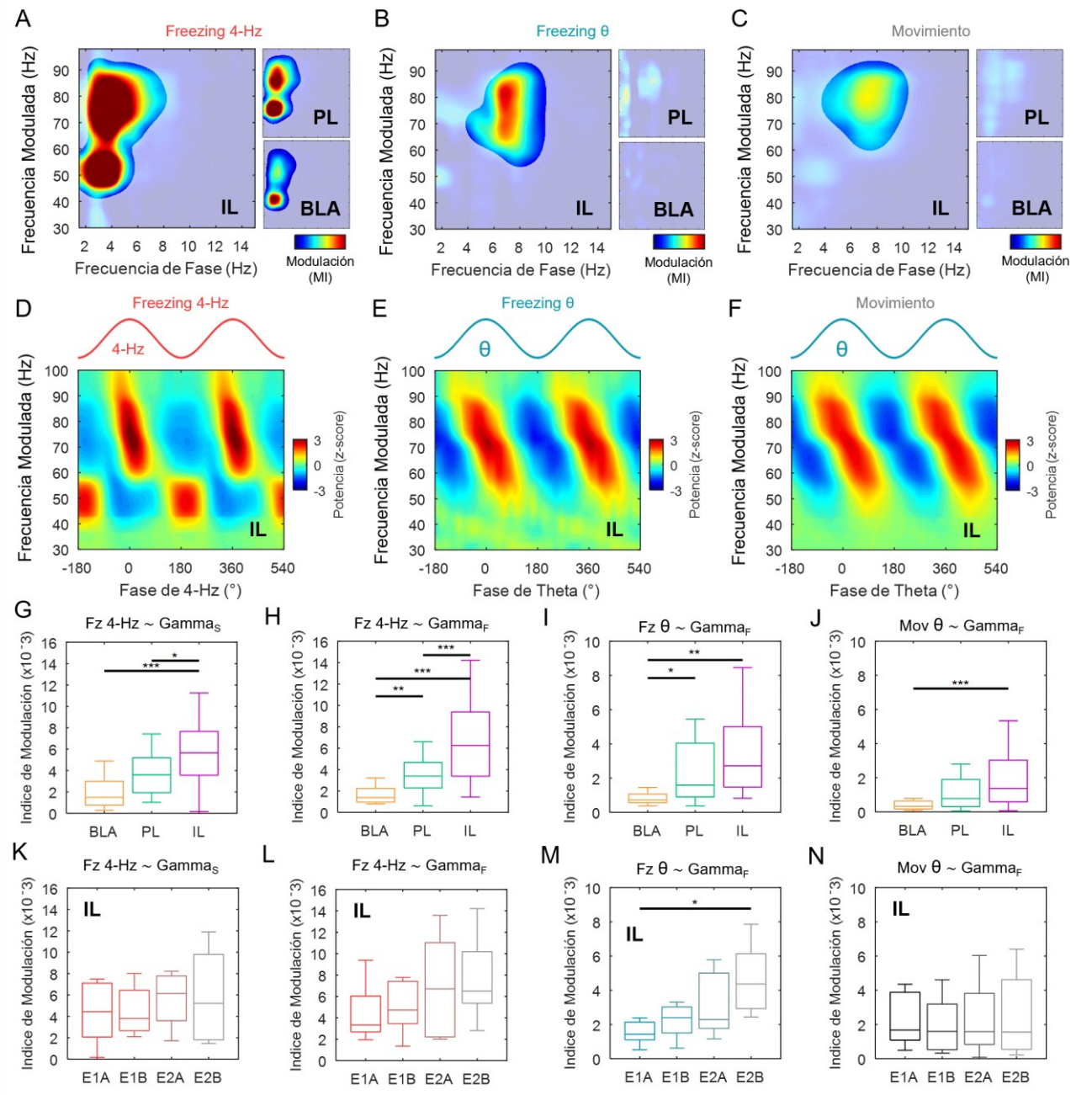


Figura 33. Modulación fase-amplitud (PAC) intraregional durante los distintos estados comportamentales. A-C. Comodulogramas promedio por condición: *freezing* 4-Hz (A), *freezing* theta (B) y movimiento (C). Se muestra el índice de modulación (MI) entre la frecuencia portadora de fase (1-15 Hz; eje horizontal) y la frecuencia modulada en amplitud (30-100 Hz; eje vertical) calculado de forma intraregional (BLA, PL o IL). Áreas coloreadas indican modulaciones significativas (>2 D.E. respecto al shift predictor), mientras que las áreas sombreadas corresponden a modulaciones no significativas. **D-F**. Ejemplos representativos para cada condición, representando la amplitud de distintas frecuencias oscilatorias en función de la fase de una frecuencia específica: 4-Hz para *freezing* 4-Hz (D), theta para *freezing* theta (E) y movimiento (F). **G-J**. Comparación del índice de modulación entre regiones (BLA, PL, IL) para cada combinación de fase y banda de amplitud: fase de 4-Hz modulando gamma lento (G) o gamma rápido (H), y fase de theta modulando gamma rápido (I-J). **K-O**. Evolución de la modulación en IL a lo largo de la extinción, para *freezing* 4-Hz (K-L), *freezing* theta (N) y movimiento (O), en las fases de *Extinción 1 Temprana* (E1A), *Extinción 1 Tardía* (E1B), *Extinción 2 Temprana* (E2A) y *Extinción 2 Tardía* (E2B). (*p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001). N: total de eventos de *freezing* 4-Hz, *freezing* theta y movimiento combinando las sesiones de *Extinción 1* y 2.

En resumen, la modulación fase-amplitud presentó una modulación específica en función de la frecuencia portadora, la banda gamma modulada, la región cerebral, el estado comportamental y la fase de extinción. Durante el *freezing* 4-Hz, las tres regiones mostraron una modulación significativa de la fase de 4-Hz y la amplitud de ambas bandas gamma, mientras que en el *freezing* theta y el movimiento dicha modulación se restringió a gamma rápido y se manifestó exclusivamente en el IL. Además, en las tres regiones, pero de manera más marcada en el IL, se observó una segregación de fase entre gamma lento y gamma rápido. Comparativamente, el IL presentó los niveles más elevados de modulación, seguido por el PL y la BLA. Finalmente, mientras que la modulación se mantuvo estable a lo largo de la extinción en la BLA y el PL, en el IL se incrementó específicamente el acoplamiento entre theta y gamma rápido durante los eventos de *freezing* theta. Estos resultados sugieren que la modulación fase-amplitud podría participar en la segmentación temporal de distintos flujos de información, representados por las oscilaciones de 4 Hz, theta y ambas bandas gamma, facilitando la coordinación funcional entre redes neuronales especializadas y adaptando dinámicamente el procesamiento oscilatorio en función del estado comportamental y de la memoria evocada.

R.2.6. Variaciones en el ritmo respiratorio asociadas a los distintos estados comportamentales

La respiración, además de su función fisiológica básica, constituye un ritmo endógeno que estructura la dinámica oscilatoria en múltiples regiones. Este ritmo ha sido propuesto como una señal oscilatoria capaz de sincronizar procesos neuronales a distintas escalas, desde el bulbo olfatorio hasta la corteza prefrontal, incluso en ausencia de inhalación activa (Tort et al., 2018; Bagur et al., 2021). Distintos estudios han demostrado que la frecuencia respiratoria coordina la actividad oscilatoria en estructuras límbicas y corticales, influenciando tanto la excitabilidad como la sincronización entre regiones (Nguyen Chi et al., 2016; Lockmann et al., 2016; Moberly et al., 2018). En roedores, este ritmo puede ser registrado a partir del epitelio olfatorio (EO), proporcionando una medida directa y de alta resolución temporal del ciclo respiratorio (Grimaud y Murthy, 2018; Liu y Han, 2022). Estudios recientes han evidenciado que la respiración no solo se acopla a ritmos neuronales locales, sino que también organiza la interacción funcional entre regiones durante el sueño, la exploración y tareas cognitivas (Karalis y Sirota, 2022). En particular, en la mPFC, se ha observado que la respiración puede modular oscilaciones locales, afectando directamente la memoria de trabajo y la estabilización de representaciones durante estados de reposo (Bagur et al., 2021). Además, se ha reportado que la frecuencia respiratoria varía sistemáticamente según el estado comportamental. Durante episodios de *freezing*, por ejemplo, la respiración adopta un ritmo lento y regular, en torno a los 4-Hz, coincidiendo con el ritmo oscilatorio predominante en la BLA y la mPFC durante este comportamiento. En cambio, durante el movimiento activo, la frecuencia respiratoria se incrementa significativamente, superando los 6 Hz y acompañando las oscilaciones theta características de este estado (Tort et al., 2018; Karalis y Sirota, 2022).

En este contexto, y en línea con estas observaciones, se analizó la frecuencia respiratoria durante los distintos estados comportamentales (*freezing* 4-Hz, *freezing* theta y movimiento) a partir del registro del EO. El objetivo fue caracterizar si la respiración exhibía un ritmo característico en cada estado y si dicho ritmo mostraba una correspondencia con las oscilaciones registradas en la BLA y la mPFC en esta tesis, y como se ha sugerido en estudios previos (Tort et al., 2018; Bagur et al., 2021). Para cada comportamiento evaluado, la frecuencia respiratoria presentó un ritmo característico que, en términos generales, coincidió con las oscilaciones predominantes registradas en la BLA, el PL y el IL. Durante el *freezing* 4-Hz, la señal del EO mostró oscilaciones lentas y regulares (~4 Hz), en coincidencia con la actividad oscilatoria de 4-Hz observada en la BLA, el PL y el IL (**Fig. 34A**). Este patrón respiratorio ocurrió principalmente durante los eventos de *freezing* 4-Hz

(Fig. 34B), y con un pico promedio definido en 4,35 Hz en el espectro de potencia (Fig. 34C). En el *freezing* theta, el ritmo respiratorio fue intermedio (~6 Hz), coincidiendo con las oscilaciones theta de las tres regiones analizadas (Fig. 34A-B), y con un pico promedio de 5,95 Hz (Fig. 34C). Por último, durante el movimiento, el ritmo respiratorio fue levemente más rápido (~7 Hz; Fig. 34A-B), con un pico de frecuencia a 6,87 Hz (Fig. 34C).

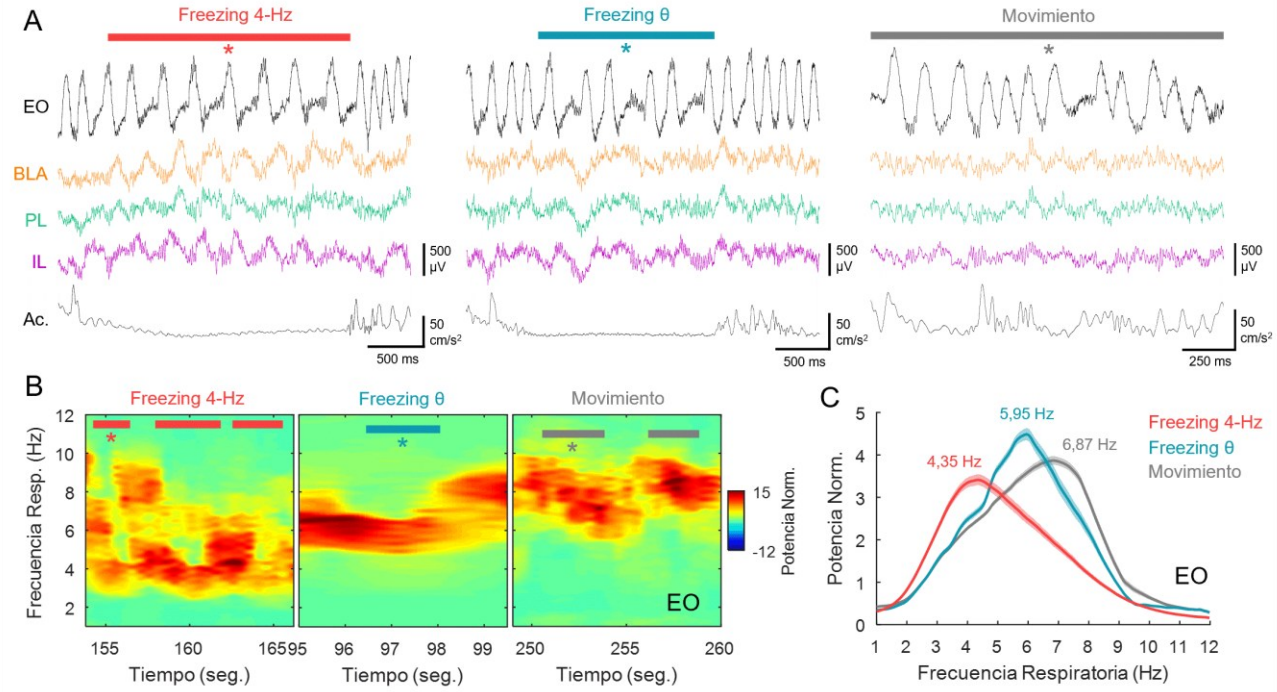


Figura 34. Ritmo respiratorio característico durante *freezing* 4-Hz, *freezing* theta y movimiento. A. Ejemplos representativos de registros simultáneos del epitelio olfatorio (EO), BLA (naranja), PL (verde), IL (violeta) y aceleración (Ac.) durante episodios de *freezing* 4-Hz (izquierda), *freezing* theta (centro) y movimiento (derecha). **B**. Espectrogramas del EO en ejemplos representativos de cada estado comportamental, indicando la potencia normalizada en función de la frecuencia respiratoria (eje vertical) a lo largo del tiempo (eje horizontal). Los eventos marcados con * corresponden a los eventos representados en A. **C**. Espectro de potencia (PSD) promedio de la señal del EO para cada estado comportamental. Se indica la frecuencia respiratoria correspondiente al pico del PSD para cada condición. Las líneas representan la mediana y las áreas sombreadas el desvío absoluto respecto a la mediana (MAD). N: total de eventos de eventos de cada tipo combinando *Extinción 1* y 2.

En todos los casos, y a pesar de que solo se obtuvo un registro exitoso del EO en dos animales, la frecuencia respiratoria dominante coincidió con la frecuencia de las oscilaciones predominantes registradas en la BLA, el PL y el IL para cada estado comportamental. Este resultado sugiere una coordinación funcional entre el ritmo respiratorio y la actividad oscilatoria en el eje BLA-mPFC, en línea con estudios previos que señalan la influencia de la respiración en la modulación de las oscilaciones neuronales en estructuras límbicas y prefrontales (Zhong et al., 2017; Moberly et al., 2018; Tort et al., 2018; Bagur et al., 2021; Karalis y Sirota, 2022;).

R.2.7. Codificación neuronal en la BLA de la dinámica de evocación y extinción del miedo

La BLA cumple un rol fundamental en la codificación de memorias emocionales, integrando información de estímulos asociados a la evocación y extinción del miedo (Maren y Quirk, 2004; Herry

et al., 2008; Zhang et al., 2020). Esta función se sustenta en una organización interna altamente heterogénea, compuesta por subpoblaciones neuronales con respuestas específicas a distintos estímulos y comportamientos (Beyeler et al., 2016; Piantadosi et al., 2024). Durante el condicionamiento de miedo, algunas neuronas se activan selectivamente ante el CS+, mientras que otras lo hacen ante el CS-, o responden diferencialmente durante estados como el *freezing* o el movimiento (Repa et al., 2001; Goosens et al., 2003; Hobin et al., 2003; Kyriazi et al., 2018). Esta selectividad a los estímulos no es fija, sino que puede reorganizarse a lo largo del aprendizaje y la extinción (Herry et al., 2008; Duvarci y Paré, 2014; Zhang et al., 2020). Además de la respuesta a eventos, la codificación neuronal en la BLA también presenta una dimensión temporal relevante. Las neuronas en la BLA disparan en fases específicas de oscilaciones lentas como 4-Hz o theta, lo que favorece la coordinación de subpoblaciones neuronales con los ritmos dominantes del circuito (Likhtik et al., 2014; Karalis et al., 2016). Además, se ha observado que algunas neuronas de la BLA también se acoplan a la fase de oscilaciones gamma generadas en la mPFC, lo que apunta a un mecanismo dinámico de interacción que opera selectivamente en diferentes bandas de frecuencia (Stujenske et al., 2014; Amir et al., 2018). Durante la extinción, la red de la BLA no se silencia, sino que se reorganiza funcionalmente. Algunas neuronas cambian su selectividad a los CS o su patrón de disparo, mientras que otras son reclutadas para codificar la ausencia del miedo (Herry et al., 2008; Zhang et al., 2020; Piantadosi et al., 2024). Esta plasticidad permite la coexistencia de distintas representaciones dentro de la misma estructura, y es clave para entender cómo se modifica la codificación neuronal en función del aprendizaje. Aunque se ha avanzado en la comprensión del rol de la BLA en la codificación del miedo condicionado, aún se desconoce cómo se expresa esa información en las neuronas de la BLA en distintos momentos de la tarea y frente a comportamientos que reflejan directamente la expresión de la memoria aversiva o de un estado de seguridad. En esta sección, se analizó la actividad neuronal de la BLA durante episodios de *freezing* y movimiento, diferenciando específicamente entre los dos tipos de *freezing* identificados en este paradigma. Se examinó también cómo esta actividad se reorganiza a lo largo de la extinción y cómo se acopla a los principales ritmos oscilatorios que caracterizan la evocación y extinción del miedo, comparando cómo es el acoplamiento a los ritmos presentes en ambas regiones de la mPFC.

Para estudiar la actividad neuronal durante los distintos estados comportamentales, se normalizó la tasa de disparo (z-score) de cada neurona registrada en la BLA (n = 143) y se centró su actividad al inicio de cada evento comportamental. En primer lugar, se analizó la actividad neuronal centrada al inicio de los eventos de *freezing* 4-Hz, *freezing* theta y movimiento, y se examinó la proporción de neuronas que respondieron significativamente con excitación o inhibición en cada caso, a lo largo de las fases de extinción. Una parte de las neuronas de la BLA presentó modulaciones significativas de su tasa de disparo al inicio de estos eventos, revelando perfiles de respuesta diferenciados según el estado comportamental. Algunas neuronas, por ejemplo, mostraron respuestas antagónicas ante el *freezing* 4-Hz y el movimiento (**Fig. 35A**). En términos poblacionales, contando como respuestas tanto las excitaciones como las inhibiciones, una proporción considerable de neuronas de la BLA (64%; $\chi^2 = 11{,}76$, $p < 0{,}001$) codificó activamente los estados comportamentales evocados en este paradigma. En general, el *freezing* 4-Hz reclutó la mayor cantidad de neuronas (47 %), seguido por el movimiento (34 %) y, en menor medida, por el *freezing* theta (24 %) (**Fig. 35F**). Esta distribución de respuestas se mantuvo estable a lo largo de las fases de extinción ($\chi^2 = 13{,}83$, $p = 0{,}13$) (**Fig. 35B**, izquierda). Al evaluar la codificación neuronal del *freezing* 4-Hz y el *freezing* theta, se observaron subpoblaciones de neuronas selectivas a cada comportamiento, mientras que algunas neuronas respondieron a ambos. Aunque el porcentaje de neuronas que respondieron tendió a disminuir con la extinción, el cambio no fue significativo ($\chi^2 = 13{,}06$; $p = 0{,}16$) (**Fig. 35B**, derecha).

Frente a los distintos eventos comportamentales, las neuronas de la BLA respondieron tanto con excitaciones como con inhibiciones (**Fig. 35C-E**). Para entender mejor cómo las neuronas codifican los distintos estados comportamentales se representó de forma jerárquica la proporción de neuronas que respondieron durante cada estado, considerando si su respuesta era de excitación o inhibición.

En todos los casos, las respuestas excitatorias (14-29 %) predominaron, aunque con una presencia no despreciable de inhibiciones (10-18 %). Al analizar las neuronas que respondieron a más de un comportamiento, se observó que la mayoría mantiene el mismo signo de respuesta cuando se trata de los eventos de *freezing* (> 78 %). En cambio, cuando una misma neurona respondió al *freezing* y al movimiento, tendió a hacerlo de forma opuesta (> 60 %; se excita con el *freezing*, pero se inhibe con el movimiento, o viceversa), lo que sugiere una codificación funcionalmente divergente entre estados de inmovilidad y actividad. Esta organización sugiere que la BLA no solo representa la ocurrencia de un comportamiento, sino que discrimina activamente entre ellos, estableciendo perfiles de respuesta específicos según la naturaleza del estado comportamental (**Fig. 35F**).

Por último, se evaluó cómo evolucionó las respuestas de las neuronas a cada evento comportamental a lo largo de la extinción. Durante el *freezing* 4-Hz, la proporción de neuronas que se excitaron o inhibieron se mantuvo relativamente constante (**Fig. 35G**, izquierda), sin observarse diferencias significativas en la distribución general de respuestas ($\chi^2 = 2,47$; $p = 0,87$). En cuanto a la estabilidad de la respuesta, la mayoría de las neuronas comenzó o dejó de responder entre las fases temprana y tardía de ambas extinciones (33-50 %), mientras que una proporción menor mantuvo su perfil (13-23 %) y solo una fracción muy pequeña invirtió el signo de su respuesta (4-6 %). Durante el *freezing* theta (**Fig. 35G**, centro), se observó un cambio en las proporciones de respuesta entre las distintas fases de la extinción ($\chi^2 = 12,83$; $p = 0,046$), con una disminución marcada en el número de neuronas excitadas desde la fase temprana (E1A: 27,4 %) a la fase tardía (E1B: 8,3 %) de la *Extinción 1* y un leve aumento en las respuestas inhibitorias (de 9,5 % a 13,1 %). Esto generó una diferencia significativa entre ambas fases (E1A vs E1B: $\chi^2 = 7,99$; $p = 0,02$), lo que indica un reordenamiento funcional del sistema hacia una menor activación general y un patrón más inhibitorio. Respecto a la estabilidad entre fases, tanto en la *Extinción 1* como en la *Extinción 2* se observó que la mayoría de las neuronas o dejaron de responder (43-61 %), o comenzaron a responder hacia el fin de cada fase (30-36 %). En cuanto al movimiento (**Fig. 35G**, derecha), no se observaron cambios significativos en la distribución de respuestas a lo largo de las fases analizadas ($\chi^2 = 4,61$; $p = 0,59$). Al analizar la dinámica entre fases, se observó que una proporción considerable de neuronas comenzó a responder en la fase tardía (24-53 %), mientras que otra fracción similar dejó de responder (33-38 %). Una menor proporción mantuvo su patrón de respuesta (13-38 %) y no se registraron casos de cambio de signo.

En conjunto, estos resultados indican que, si bien el *freezing* theta fue el único comportamiento que mostró un cambio significativo en la proporción de neuronas que responden, los tres estados comportamentales evidenciaron una dinámica de cambio intrasesión en la codificación neuronal. En todos los casos se observó que la mayoría de las neuronas comenzaron o dejaron de responder. Esta plasticidad sugiere que la población de neuronas de la BLA que codifica los estados comportamentales no es estática, sino que también refleja la transición funcional que atraviesa el animal a lo largo de la extinción. La reorganización observada en las respuestas neuronales parece entonces captar no solo el estado conductual, sino también el proceso dinámico de modulación emocional que ocurre durante la extinción.

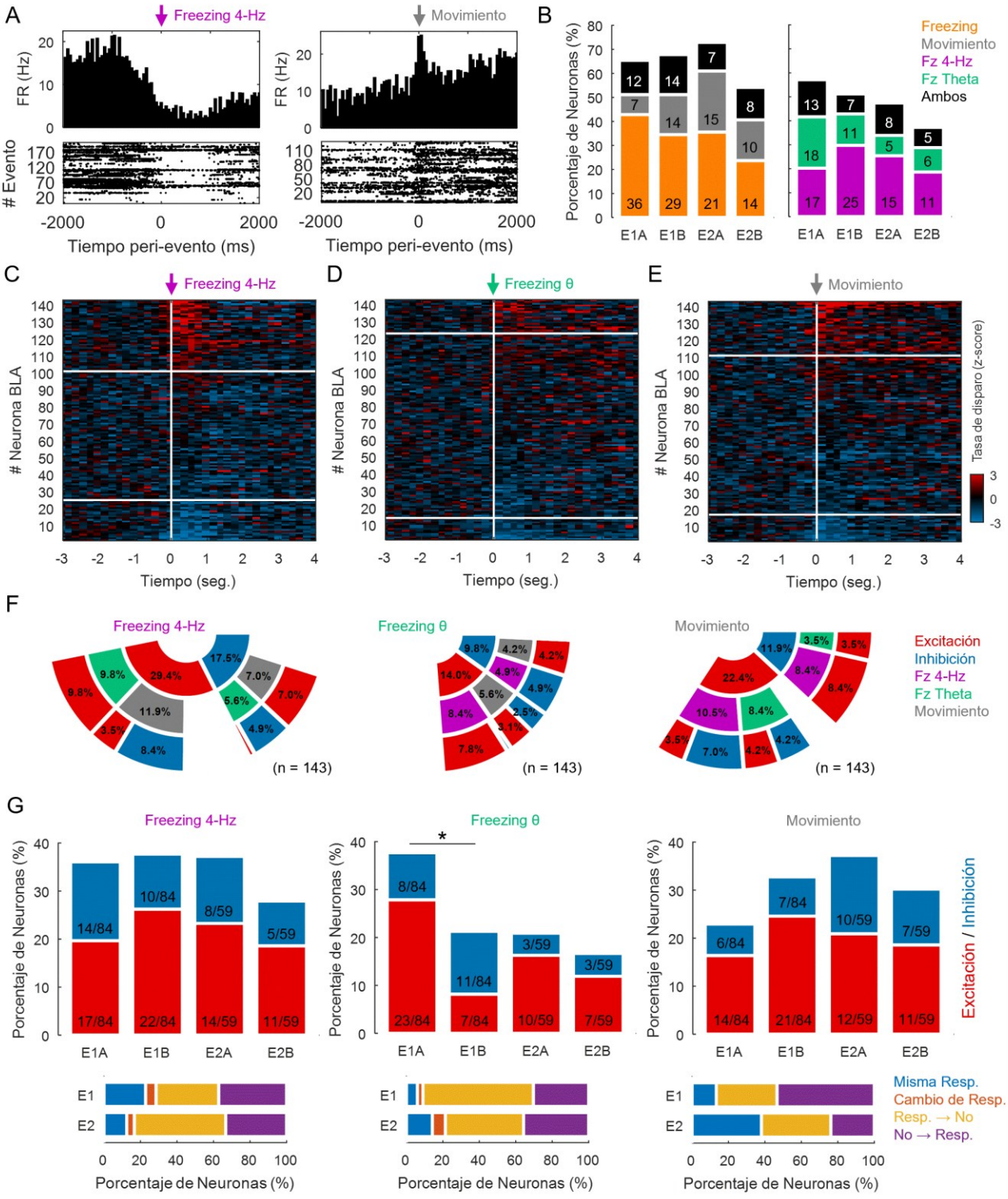


Figura 35. Codificación neuronal en la BLA durante los estados de *freezing* y movimiento. A. Ejemplo de una neurona individual registrada en la BLA. Se muestra su actividad centrada a los eventos de *freezing* 4-Hz y movimiento, en una ventana de ±20 segundos. Arriba: histograma de tasa de disparo (FR, en Hz; bines de 50 ms). Abajo: disparos individuales (ráster) alineados temporalmente a los eventos. **B**. Porcentaje de neuronas que responden significativamente (con excitación o inhibición) al inicio de los distintos comportamientos, respecto del total de neuronas registradas en cada sesión, separado por las fases de *Extinción 1 Temprana* (E1A), *Extinción 1 Tardía* (E1B), *Extinción 2 Temprana* (E2A) y *Extinción 2 Tardía* (E2B). Izquierda: respuesta sólo al *freezing* (naranja), sólo al movimiento (gris) o a ambos (negro). Derecha: respuesta sólo al *freezing* 4-Hz (violeta), sólo al *freezing* theta (verde) o a ambos (negro). Se indica, sobre cada barra, el número absoluto de neuronas que responden en cada condición. **C-E**. Mapas de calor de la tasa de disparo media (FR, expresada como z-score por neurona) para todas las neuronas registradas en la BLA (n = 143), centrados al inicio de los

eventos de *freezing* 4-Hz (C), *freezing* theta (D) y movimiento (E), combinando las neuronas de *Extinción 1* y *Extinción 2*. **F**. Representación jerárquica en abanico del porcentaje de neuronas que responden al inicio de cada comportamiento, combinando las neuronas de ambas sesiones de extinción. Primer nivel: proporción de neuronas que se excitan o inhiben al inicio del *freezing* 4-Hz (izquierda), del *freezing* theta (centro) o del movimiento (derecha). Segundo nivel: proporción del total de neuronas que también responden a un segundo comportamiento (indicado con color). Tercer nivel: tipo de respuesta frente a ese segundo comportamiento (excitación o inhibición). **G**. Porcentaje de neuronas que se excitan o inhiben al inicio de cada evento, separado por fase de la sesión. Se indica el número de neuronas que responden sobre el total de neuronas registradas en cada sesión. Abajo: para *Extinción 1* (E1) y *Extinción 2* (E2), se muestra el porcentaje de neuronas que mantienen su respuesta entre fases temprana y tardía (azul), las que cambian de respuesta (de excitación a inhibición o viceversa, en naranja), las que dejan de responder (amarillo), y las que comienzan a responder (violeta). (*p < 0,05; prueba de chi cuadrado).

Para estudiar cómo las neuronas de la BLA codifican los estímulos, se analizó su respuesta diferencial al CS+ y al CS- a lo largo de las distintas fases del protocolo (**Fig. 36A-B**). Del total de neuronas registradas (n = 143), un 18,9 % respondió únicamente al CS+, un 13,3 % lo hizo exclusivamente al CS-, y un 21,7 % respondió a ambos estímulos (**Fig. 36C**). Entre las neuronas que respondieron a los estímulos, la gran mayoría lo hizo con excitación (82-88 %), mientras que solo una minoría mostró inhibición (12-18 %). Estos resultados sugieren que la codificación de los estímulos en la BLA durante la extinción se basó principalmente en respuestas de tipo excitatorias, y que una proporción sustancial de neuronas mantuvo una respuesta selectiva o compartida frente a ambos estímulos.

Luego, se analizó cómo varió la proporción de neuronas que respondieron a los CS a lo largo de las distintas fases de la extinción (**Fig. 36D**). En la *Extinción 1 Temprana* predominaron las neuronas que respondían a ambos estímulos (34,5 %), mientras que una menor proporción lo hizo de forma exclusiva al CS+ (9,5 %) o al CS- (11,9 %). En la fase tardía, aumentó el número de neuronas selectivas al CS+ (16,7 %) y al CS- (17,9 %), con una reducción en las que respondían a ambos (15,5 %). Esta tendencia continuó durante la *Extinción 2*, donde hubo una reducción de la proporción de neuronas que responden ante los estímulos (E2A: 35,6%; E2B: 20,3%). La distribución general de respuestas cambió significativamente a lo largo de las fases de la extinción ($\chi^2 = 34,63$; $p < 0,001$). En particular, se observaron diferencias significativas entre la *Extinción 1 Temprana* y las demás fases (todos: $p < 0,03$), lo que indica una reorganización del patrón de codificación inicial que se estabilizó una vez adquirida la memoria de extinción (E1B vs E2A y E2A vs E2B; ambos: $p = 0,20$).

Para evaluar la estabilidad de estas respuestas, se examinó cuántas neuronas mantuvieron, cambiaron o adquirieron respuesta al CS+ y al CS- entre fases consecutivas de una misma sesión (**Fig. 36E**). En el caso del CS+, la mayoría de las neuronas mantuvo su respuesta (45-55 %) o la perdió (32–46 %) entre las fases temprana y tardía de las *Extinciones* 1 y 2, mientras que una proporción menor adquirió una respuesta (9-13 %), sin cambios de signo. En cambio, en el caso del CS-, la mayor proporción de neuronas dejó de responder entre las fases temprana y tardía (40-44 %), mientras que otras adquirieron una respuesta (27-33 %) o mantuvieron su perfil de respuesta (22-32 %), sin registrarse tampoco cambios de signo.

En conjunto, estos resultados muestran que, a lo largo de la *Extinción 1*, se observó una reorganización progresiva de la codificación neuronal, con una transición desde una representación ambigua en la fase temprana, caracterizada por una mayor proporción de respuesta a ambos estímulos, hacia una representación más selectiva en la fase tardía. Durante la *Extinción 2*, en cambio, se redujo la cantidad total de neuronas activadas y la distribución de respuestas se mantuvo estable con respecto a la *Extinción 1 Tardía*, lo que sugiere una estabilización del estado funcional de la red. En términos de estabilidad intrasesión, las respuestas al CS+ se caracterizaron principalmente por neuronas que mantuvieron su actividad o dejaron de responder, mientras que en el caso del CS- predominaron aquellas que adquirieron o perdieron la respuesta entre fases. En

ningún caso se observaron cambios de signo en la modulación, lo que sugiere una estabilidad en la dirección de la respuesta una vez establecida.

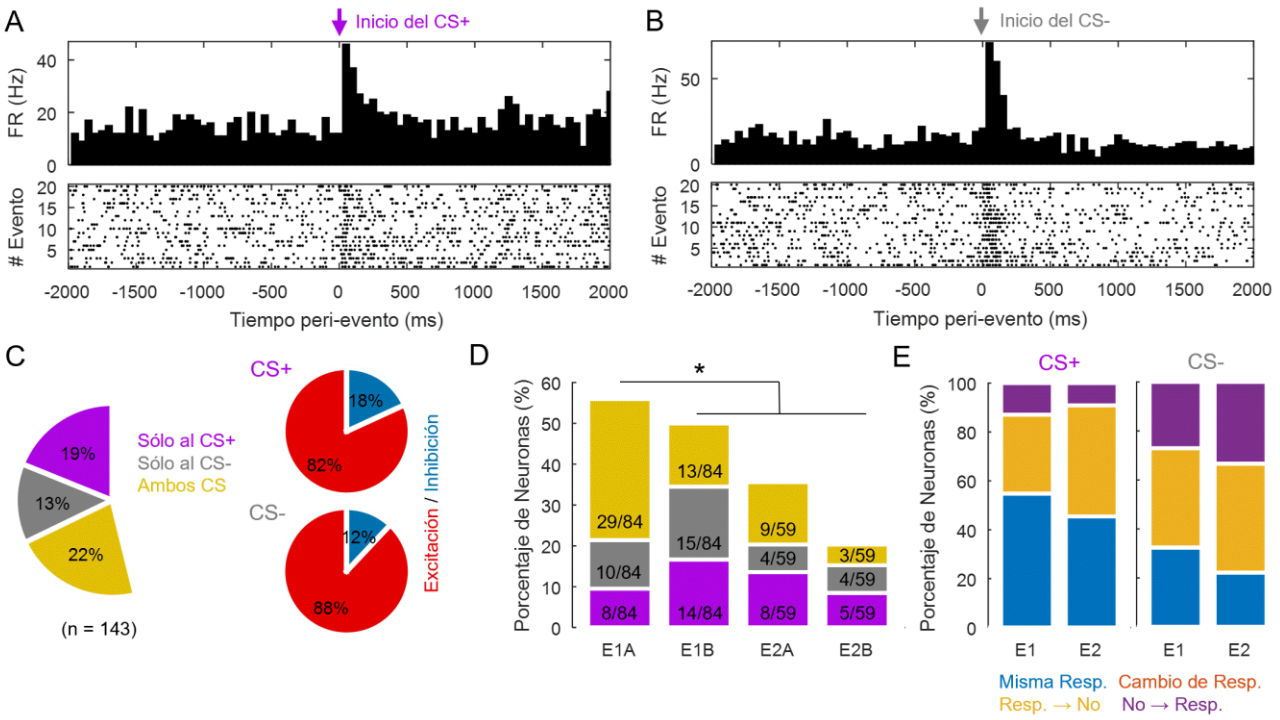


Figura 36. Respuesta de las neuronas de la BLA al CS+ y al CS- durante la extinción. A-B. Ejemplo de una neurona individual registrada en la BLA. Se muestra su actividad centrada al inicio del tono CS+ (A) y del tono CS- (B) durante la *Extinción 1*, en una ventana de ±2 seg. Arriba: histograma de tasa de disparo (FR, en Hz; bines de 50 ms). Abajo: disparos individuales (ráster) alineados temporalmente a los eventos. **C**. Porcentaje de neuronas, del total registradas en la BLA (n = 143), que responden únicamente al CS+ (violeta), únicamente al CS- (gris), a ambos estímulos (amarillo). A la derecha, se detalla, para las neuronas que responden al CS+ (n = 44) y al CS- (n = 50), el porcentaje que lo hace con excitación (rojo) o inhibición (azul). **D**. Porcentaje de neuronas que responden únicamente al CS+, únicamente al CS- o a ambos estímulos, separado por fase de la sesión: *Extinción 1 Temprana* (E1A), *Extinción 1 Tardía* (E1B), *Extinción 2 Temprana* (E2A) y *Extinción 2 Tardía* (E2B). Se indica el número absoluto de neuronas que responden en cada categoría sobre el total de neuronas de cada sesión. **E**. Para las fases de *Extinción 1* (E1) y *Extinción 2* (E2), se muestra el porcentaje de neuronas que mantienen su respuesta entre fases temprana y tardía (azul), las que cambian de respuesta (de excitación a inhibición o viceversa, en naranja), las que dejan de responder (amarillo) y las que comienzan a responder (violeta). Izquierda: neuronas que responden al CS+. Derecha: neuronas que responden al CS-. (*p < 0,05; prueba de chi cuadrado).

Con el objetivo de explorar cómo las oscilaciones en la mPFC modulan la actividad neuronal en la BLA, se analizó el acoplamiento de fase entre el disparo de neuronas de la BLA y la fase de las oscilaciones registradas en el PL y el IL durante los distintos estados comportamentales. Durante el *freezing* 4-Hz, una gran proporción de las neuronas de la BLA que respondieron a este comportamiento mostraron un acoplamiento significativo a la fase de las oscilaciones 4-Hz registradas en el PL (81 %, Z = 3,63, p = 0,03) y tendieron a disparar alrededor de la fase descendente de la onda del PL (Φ = 82°, |v| = 0,28; **Fig. 37A y D**). Con respecto al IL, un 62,1 % de las neuronas que respondieron al *freezing* 4-Hz mostraron un acoplamiento significativo a la fase, aunque sin una preferencia consistente a nivel poblacional (Φ = 100°, |v| = 0,23, Z = 1,89, p = 0,15). Por otro lado, durante los eventos de *freezing* theta, las neuronas de la BLA que respondieron a este comportamiento también mostraron un acoplamiento significativo a la fase de la oscilación theta registrada tanto en el PL (87,8 %; Z = 5,86; p = 0,002), como en el IL (75,6 %; Z = 8,10; p < 0,001), en ambos casos disparando en la fase descendente de la onda theta (PL: Φ = 55°, |v| = 0,40; IL: Φ

= 43°, |v| = 0,51; **Fig. 37B y E**). De la misma forma, durante los eventos de movimiento, una gran proporción de las neuronas de la BLA que respondieron también mostraron acoplamiento significativo a la fase de la oscilación theta registrada tanto en el PL (89,4 %; Z = 3,51; p = 0,03) como en el IL (80,9 %; Z = 7,87; p < 0,001), disparando preferentemente en la fase descendente (PL: Φ = 46°, |v| = 0,29; IL: Φ = 56°, |v| = 0,46; **Fig. 37C y F**).

Para evaluar si las mismas neuronas que se acoplan a una oscilación durante un estado comportamental también lo hacen durante otros estados, se examinó el solapamiento entre las poblaciones acopladas en cada condición. Entre las neuronas acopladas a la fase de 4-Hz durante el *freezing* 4-Hz, aproximadamente la mitad también se acopló a la fase de theta durante el *freezing* theta y el movimiento (PL: 43-49 %; IL: 44-50 %). A la inversa, entre las neuronas acopladas a la fase de theta durante el *freezing* theta, una proporción aún mayor también se acopló a 4-Hz durante el *freezing* 4-Hz o a theta durante el movimiento (PL: 64-67 %; IL: 58-71 %). Finalmente, entre las neuronas acopladas a la fase de theta durante el movimiento, se observó un solapamiento similar con las otras condiciones (PL e IL: 42-58 %).

Estos resultados muestran que una gran proporción de las neuronas de la BLA que responden a los distintos estados comportamentales también se acoplan a la fase de las oscilaciones lentas de la mPFC, tanto en PL como en IL. En todos los casos, los disparos neuronales tendieron a organizarse preferentemente en la fase descendente de la onda, ya sea 4-Hz o theta, lo que sugiere una modulación temporal precisa ejercida por estas oscilaciones lentas. Si bien se observó acoplamiento significativo con ambas regiones de la mPFC, en términos generales el PL reclutó una mayor cantidad de neuronas, lo que sugiere un rol dominante en la sincronización de la actividad neuronal de la BLA. Asimismo, se observó que una misma neurona puede presentar acoplamiento significativo ante distintos comportamientos y frente a diferentes ritmos oscilatorios. Esta flexibilidad funcional sugiere que el acoplamiento de la actividad neuronal a la fase no constituye una propiedad estática, sino un mecanismo dinámico y dependiente del estado, que se adapta al contexto comportamental y al ritmo dominante de la red cortical.

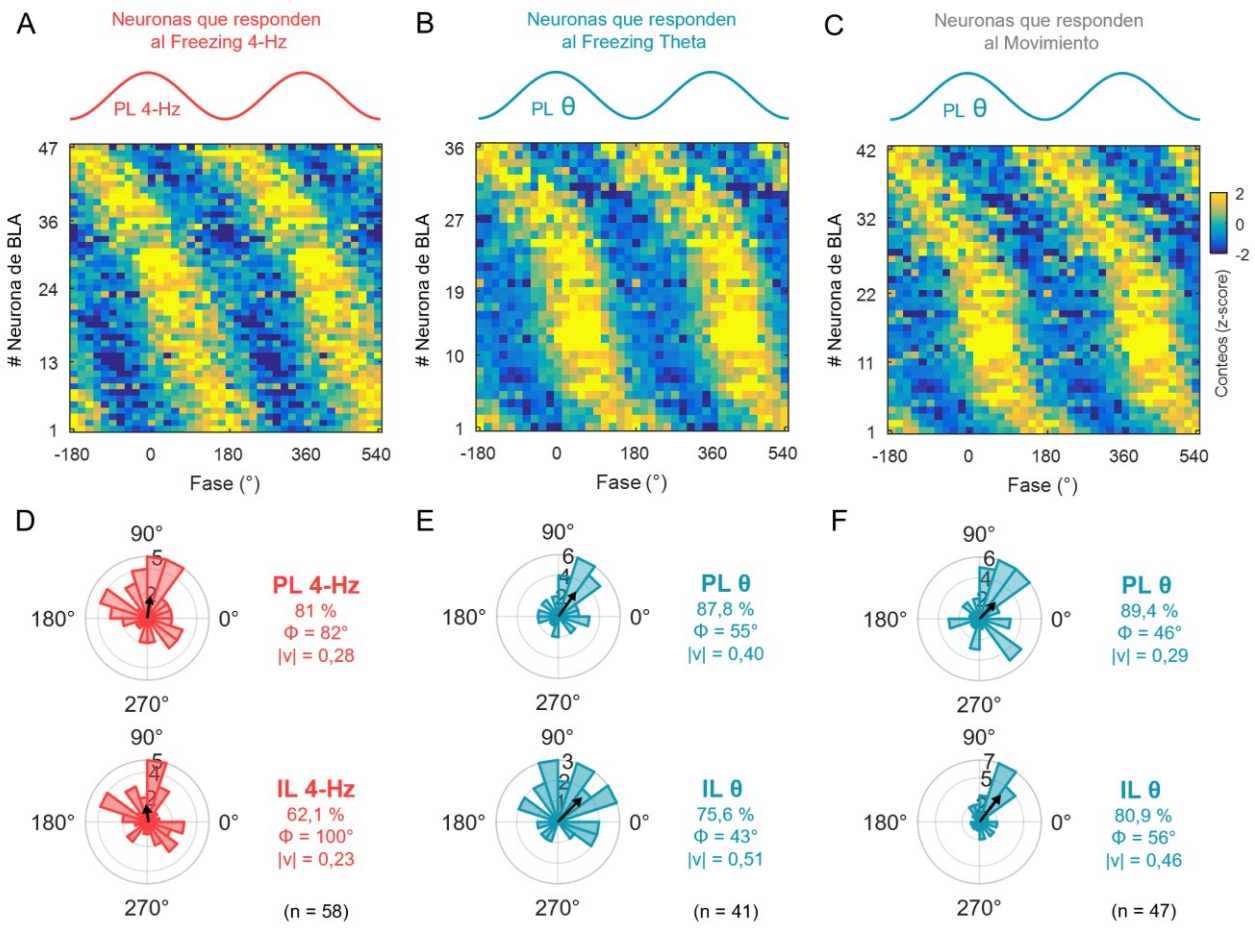


Figura 37. Acoplamiento de las neuronas de la BLA a la fase de las oscilaciones lentas del PL y el IL. A-C. Mapas de calor que representan la cantidad de disparos (expresada como z-score) de neuronas individuales de la BLA, alineados con la fase de la oscilación registrada en el PL. Se muestran únicamente las neuronas que presentaron acoplamiento significativo a la fase. (A) Neuronas que responden al inicio del *freezing* 4-Hz, en relación con la fase de la oscilación 4-Hz en PL. (B-C) Neuronas que responden al inicio del *freezing* theta y del movimiento, respectivamente, en relación con la fase de la oscilación theta en PL. **D-F**. Distribución de la fase preferida de disparo de la población de neuronas acopladas en cada condición, representada en gráficos polares. El ángulo indica la fase preferida (Φ) de la población y la altura de cada bin, el número de neuronas en esa fase. El vector indica la fase media preferida de la población y su longitud refleja la magnitud del acoplamiento poblacional (|v|). A la derecha de cada gráfico polar se muestra el porcentaje de neuronas significativamente acopladas a la fase de la oscilación correspondiente.

Además del acoplamiento a las oscilaciones lentas, se examinó si las neuronas de la BLA que respondieron al *freezing* 4-Hz también mostraban acoplamiento a oscilaciones en la banda beta. En el PL, el 72,4 % de las neuronas mostró acoplamiento significativo (Z = 16,31; p < 0,001; Φ = 32,6°; |v| = 0,62), mientras que en el IL la proporción fue menor (48,3 %), aunque también significativa (Z = 14,09; p < 0,001; Φ = 45,3°; |v| = 0,71). Dado que las oscilaciones lentas de la mPFC estructuran temporalmente el disparo de las neuronas de la BLA, se examinó si este principio también se extiende a ritmos de mayor frecuencia. Estas bandas, asociadas a integración sináptica y procesamiento local, mostraron una sincronización robusta entre la mPFC y la BLA (PLV y coherencia; ver **Fig. 32**), lo que indica que constituyen un canal relevante de interacción dependiente del comportamiento. Este tipo de coordinación en gamma ha sido vinculado con mecanismos que facilitan la comunicación entre regiones cerebrales (Womelsdorf et al., 2007; Fries, 2015). Por lo tanto, se analizó si esta sincronización se refleja en el acoplamiento de las neuronas de la BLA a la fase de las oscilaciones gamma prefrontales. Durante el *freezing* 4-Hz, una proporción considerable de neuronas de la BLA mostró acoplamiento significativo a la fase de las oscilaciones gamma registradas en el PL y el IL.

En el caso de gamma lento (**Fig. 38A y B**), el PL tendió a reclutar una mayor cantidad de neuronas acopladas (55,1 %, Z = 9,82, p < 0,001) en comparación con el IL (36,2 %, Z = 6,53, p < 0,001), donde ambas regiones presentaron una fase preferida similar, concentrada cerca del valle (PL: Φ = 201,6°; IL: Φ = 192°), y una magnitud de acoplamiento poblacional comparable (PL: |v| = 0,55; IL: |v| = 0,56). En contraste, el acoplamiento a gamma rápido fue más frecuente y robusto en ambas regiones (**Fig. 38C y D**), con una mayor proporción de neuronas acopladas (PL: 65,5 %, Z = 24,8, p < 0,001; IL: 70,7 %, Z = 16,7, p < 0,001) y magnitudes de acoplamiento más altas (PL: |v| = 0,81; IL: |v| = 0,64) que gamma lento. Las fases preferidas también se agruparon cerca del valle (PL: Φ = 189,9°; IL: Φ = 170,5°), indicando un patrón temporal consistente entre regiones.

Durante el *freezing* theta, también se observó un acoplamiento significativo de las neuronas de la BLA a ambas bandas gamma en PL e IL, manteniendo un patrón similar al de *freezing* 4-Hz. En el caso de gamma lento (**Fig. 38E y F**), la mitad de las neuronas que respondieron estuvieron acopladas significativamente a esta banda en el PL (53,7 %; Z = 6,08; p = 0,002), mientras que en el IL la proporción fue menor (36,6 %; Z = 4,94; p = 0,005). En ambas regiones, los disparos tendieron a agruparse cerca del valle (PL: Φ = 184,4°, |v| = 0,53; IL: Φ = 194,0°, |v| = 0,57). En cuanto a gamma rápido (**Fig. 38G y H**), el acoplamiento fue más robusto, reclutando una proporción mayor de neuronas en el PL (68,3 %; Z = 15,07; p < 0,001) y en el IL (70,7 %; Z = 11,53; p < 0,001), con los disparos también concentrados en la misma fase de la onda que para gamma lento (PL: Φ = 194,0°, |v| = 0,73; IL: Φ = 182,4°, |v| = 0,63). Finalmente, durante el movimiento, se mantuvo el patrón observado en los otros comportamientos, con acoplamiento significativo a ambas bandas gamma en el PL y el IL. Para gamma lento (**Fig. 38I y J**), el 53,2 % de las neuronas estuvieron acopladas con el PL (Z = 7,80; p < 0,001) y el 46,8 % con el IL (Z = 8,37; p < 0,001), con fases preferidas cercanas al valle (PL: Φ = 185,7°, |v| = 0,56; IL: Φ = 176,2°, |v| = 0,62). Para gamma rápido (**Fig. 38K y L**), la proporción fue más alta e idéntica en ambas regiones (72,3 %; ambos p < 0,001), con una modulación particularmente robusta y fases similares (PL: Φ = 198,1°, |v| = 0,81; IL: Φ = 182,2°, |v| = 0,72).

Con el objetivo de evaluar si las bandas de gamma lento y gamma rápido de la mPFC reclutan las mismas neuronas de la BLA o subpoblaciones distintas, se analizó el grado de solapamiento entre las neuronas significativamente acopladas a ambas bandas, en cada región y estado comportamental. Durante el *freezing* 4-Hz, una gran proporción de las neuronas acopladas a alguna de las oscilaciones gamma del PL estuvieron acopladas tanto a gamma lento como a gamma rápido (70,7 %; n = 29/41), mientras que en el IL este acople dual fue menor (46,7 %; n = 21/45). Un patrón similar se observó durante el *freezing* theta, donde el 77,3 % de las neuronas acopladas a gamma del PL (n = 17/22) respondieron a ambas bandas, frente al 47,6 % en el IL (n = 10/21). Finalmente, durante el movimiento, el solapamiento también fue mayor en el PL (61,1 %; n = 22/36) que en el IL (45,0 %; n = 18/40). Estos resultados indican que, en la BLA, el acoplamiento a las oscilaciones gamma del PL tiende a involucrar, en mayor proporción, una población neuronal común para ambas bandas. En cambio, por parte del IL, el acoplamiento a gamma lento y gamma rápido parece reclutar subpoblaciones distintas en la BLA, lo que podría reflejar un mecanismo de modulación diferencial de dos poblaciones neuronales a través de una u otra banda de gamma.

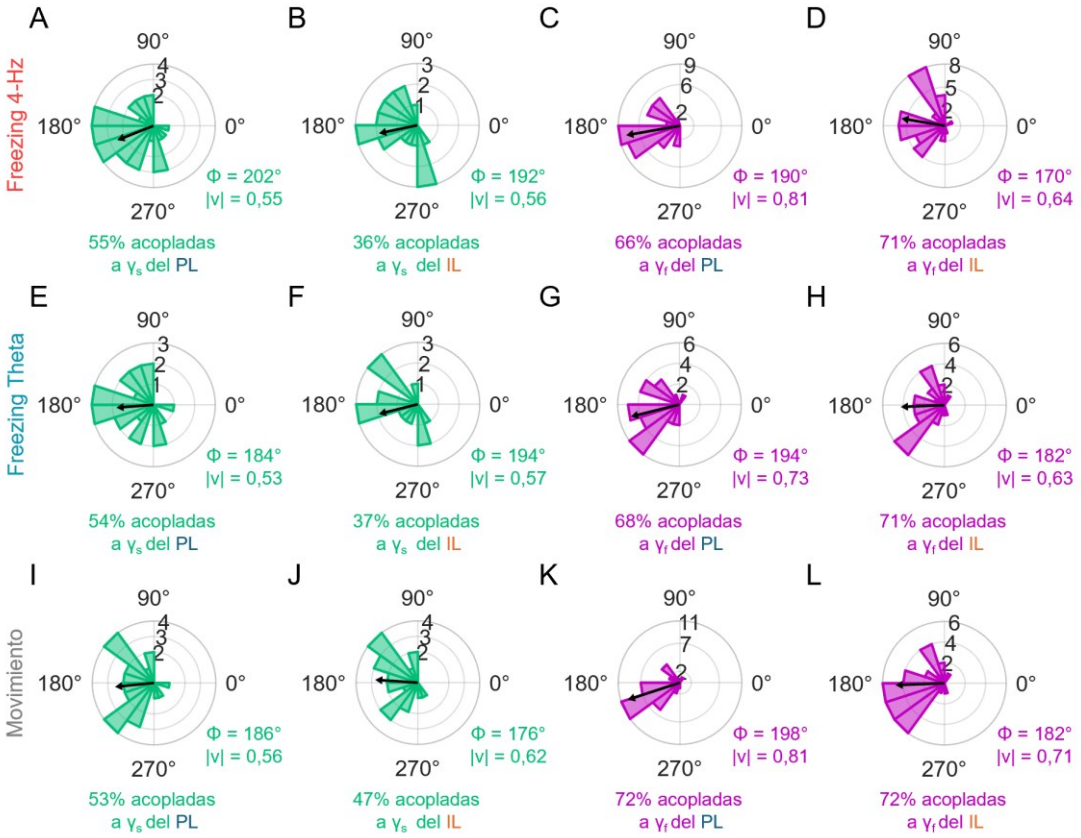


Figura 38. Preferencia de fase de las neuronas de la BLA acopladas a las oscilaciones gamma del PL y del IL. A-L. Distribución de la fase preferida de disparo de neuronas de la BLA significativamente acopladas a la fase de la oscilación de gamma lento (γ_s, en verde) o gamma rápido (γ_f, en violeta) registrada en el PL o el IL, durante los tres estados comportamentales: *freezing* 4-Hz (A-D), *freezing* theta (E-H) y movimiento (I-L). Cada gráfico polar representa el ángulo de fase preferida (Φ) y el número de neuronas por bin angular. La flecha indica la fase media preferida de la población, y su longitud representa la magnitud del vector de acoplamiento (|v|). Debajo de cada gráfico se indica el porcentaje de neuronas significativamente acopladas a la oscilación correspondiente.

En conjunto, estos resultados muestran que el acoplamiento de las neuronas de la BLA a las oscilaciones gamma ocurre en fases distintas a las observadas para las oscilaciones lentas, concentrándose sistemáticamente cerca del valle. Esta organización temporal fue consistente tanto para gamma lento como para gamma rápido, sugiriendo que ambas bandas modulan la actividad neuronal en momentos similares del ciclo oscilatorio. No obstante, el acoplamiento a gamma rápido fue, en general, más frecuente y robusto que el observado para gamma lento, tanto en términos de proporción de neuronas reclutadas como en la magnitud del vector de acoplamiento poblacional. En cuanto a las diferencias regionales, el PL tendió a reclutar ligeramente más neuronas acopladas que el IL, en especial en gamma lento. Además, una proporción considerable de neuronas se acopló a ambas bandas gamma del PL, mientras que en el IL el acoplamiento tendió a involucrar subpoblaciones distintas para cada banda, lo que sugiere un mecanismo de modulación diferencial por parte del IL sobre poblaciones neuronales distintas. Estos resultados sugieren que las oscilaciones gamma constituyen un canal adicional y diferenciado de sincronización funcional entre la mPFC y la BLA, complementario al acoplamiento observado con las oscilaciones lentas, y potencialmente responsable de estructurar la dinámica temporal fina de la actividad de la red.

R.3. Condicionamiento apetitivo: caracterización conductual de la memoria asociativa apetitiva

R.3.1. Adquisición, evocación y extinción de la memoria apetitiva

Para estudiar la dinámica neural involucrada en la evocación y extinción de una memoria asociativa recompensante, se implementó un paradigma de condicionamiento apetitivo clásico de tipo discriminativo, el cual permite comparar intrasesión la actividad neuronal asociada al CS+ frente al CS-, diferenciando respuestas específicas de la asociación aprendida CS+/US. Para evaluar el desempeño de los animales en este paradigma, se analizaron tres parámetros clave de la respuesta, considerándolos como posibles medidas operativas de la retención de la memoria. En primer lugar, se midió el tiempo dentro del puerto, expresado como el porcentaje de tiempo que el animal permaneció en el puerto durante un período determinado, como por ejemplo durante la presentación del tono CS+ o CS-. En segundo lugar, se cuantificó el número de entradas al puerto, definido como la cantidad de veces que el animal interrumpió el haz infrarrojo ubicado en la entrada al puerto. Finalmente, se evaluó la latencia a la primera entrada al puerto, medida como el tiempo transcurrido desde el inicio del período de interés (por ejemplo, el inicio del tono CS+) hasta la primera vez que el animal ingresó al puerto.

En el transcurso de los distintos días de *Entrenamiento*, los animales aumentaron progresivamente el tiempo dentro del puerto específicamente durante el CS+ (**Fig. 39A-C**). Se encontró un efecto significativo del estímulo ($F_{(2,114)}$ = 11,27, p < 0,0001), sin un efecto de los días ($F_{(6,114)}$ = 1,492, p = 0,19). Sin embargo, se observó una interacción significativa ($F_{(12,114)}$ = 2,46, p = 0,007), indicando que los animales aprendieron a discriminar entre estímulos a lo largo del *Entrenamiento*. Si bien en los primeros días de *Entrenamiento* no se observaron diferencias significativas en la respuesta durante los tonos (todos: p > 0,05), manteniéndose en un nivel del 10 al 20%. A partir del día 6 de *Entrenamiento*, los animales pasaron significativamente más tiempo dentro del puerto en respuesta al CS+ en comparación con el CS- y con el Pre (todos: p < 0,001). En cuanto al número de entradas al puerto (**Fig. 39B**), se encontró un efecto principal del estímulo ($F_{(2,114)}$ = 7,01, p = 0,001), donde los animales realizaron significativamente más entradas al puerto en respuesta al CS+ en comparación con CS- y con Pre (ambos: p < 0,01), sin un efecto significativo del día ($F_{(6,114)}$ = 0,71, p = 0,64) ni una interacción significativa ($F_{(12,114)}$ = 0,47, p = 0,93). Para la latencia de entrada (**Fig. 39C**), se observó un efecto significativo del estímulo ($F_{(2,113)}$ = 3,93, p = 0,03), donde la latencia de entrada fue significativamente menor durante el CS+ en comparación con el Pre ($t_{(113)}$ = 2,79, p = 0,02), pero sin diferencias significativas entre CS+ y CS- ni entre CS- y Pre (ambos: p > 0,36). Tampoco encontramos un efecto significativo del día ni una interacción (ambos: p > 0,11), Así, a lo largo del *Entrenamiento*, los animales desarrollaron una respuesta anticipatoria específica al CS+, reflejada en un aumento del tiempo dentro del puerto y del número de entradas al puerto, así como en una reducción de la latencia de entrada.

Una vez que los animales alcanzaron el criterio de aprendizaje (ver **M.2.1**), se los expuso a una sesión de *Extinción*, en la que se presentaron los CS sin la entrega de recompensa (**Fig. 39A-C**). Durante los primeros ensayos, los animales continuaron respondiendo al CS+ en comparación con el CS- y el Pre. Sin embargo, esta respuesta fue disminuyendo progresivamente a medida que avanzaron los ensayos. Para el tiempo dentro del puerto (**Fig. 39A**), se encontró un efecto del estímulo ($F_{(2,252)}$ = 40,94, p < 0,001), de los ensayos ($F_{(11,252)}$ = 5,18, p < 0,001), y una interacción significativa ($F_{(22,252)}$ = 2,41, p < 0,001), donde en los primeros ensayos, los animales pasaron significativamente más tiempo dentro del puerto en respuesta al CS+ en comparación con el CS- y el Pre (todos: p < 0,001). A partir del ensayo 20, la respuesta al CS+ disminuyó, igualándose a la de las demás condiciones (todos: p > 0,08). Para el número de entradas al puerto (**Fig. 39B**), se encontró un efecto del estímulo y de los ensayos (ambos: p < 0,001) sin una interacción significativa ($F_{(22,249)}$ = 1,34, p = 0,14). Durante los ensayos 5 a 15, los animales realizaron más entradas al puerto en

respuesta al CS+ en comparación con el CS- y el Pre (todos: $p < 0,02$). En cambio, durante los primeros 5 ensayos no se observaron diferencias significativas entre CS+ y CS- ($p = 0,19$), aunque sí se encontró una diferencia entre CS+ y Pre ($p = 0,02$). A partir del ensayo 20, la respuesta al CS+ disminuyó, igualándose a la de las demás condiciones (todos: $p > 0,99$). De manera similar, la latencia a la entrada al puerto (**Fig. 39C**) reveló un efecto del estímulo y de los ensayos (ambos: $p < 0,001$) sin interacción ($F_{(22,252)} = 0,98$, $p = 0,49$). Durante los primeros ensayos, los animales presentaron una latencia significativamente menor en respuesta al CS+ en comparación con el CS- y el Pre (ensayos 1-15, todos: $p < 0,05$). A partir del ensayo 20, la latencia al CS+ aumentó, igualándose a la de las demás condiciones (todos: $p > 0,14$). Estos resultados indican que los animales inicialmente mantuvieron una respuesta diferencial al CS+, como producto de la evocación de la memoria apetitiva adquirida durante el *Entrenamiento*. Esto se vio reflejado en un mayor tiempo dentro del puerto, un mayor número de entradas y una menor latencia en comparación con el CS- y el período Pre. A medida que avanzaron los ensayos sin la entrega de recompensa, estas respuestas disminuyeron progresivamente, hasta igualarse entre condiciones. Este patrón indica que, tras la evocación inicial de la memoria apetitiva, los animales comenzaron a adquirir la memoria de extinción a lo largo de la sesión. Para evaluar la eficacia del protocolo de *Extinción*, se realizó una segunda sesión de *Extinción*, enfocándonos principalmente en los primeros ensayos para testear esto. Al analizar el tiempo dentro del puerto, el número de entradas y la latencia de entrada (**Fig. 39A-C**), no se encontraron efectos significativos del estímulo, de los ensayos, ni interacción entre ambos factores en ninguno de los casos (todos: $p > 0,29$). Esta ausencia de respuesta durante la *Extinción 2* indica que la respuesta condicionada fue extinguida exitosamente en la *Extinción 1*, consolidando una memoria de extinción de largo término.

En resumen, estos resultados indican que los animales desarrollaron una respuesta anticipatoria específica al CS+, la cual se evidencia en las últimas sesiones de *Entrenamiento* y persiste durante los primeros ensayos de la *Extinción 1*. Además, en ausencia de la recompensa, los animales aprenden gradualmente que el CS+ ya no predice el refuerzo, lo que lleva a una reducción en la respuesta condicionada. La disminución de la respuesta no implica que el aprendizaje original se haya perdido, sino que la asociación entre el CS+ y el US deja de expresarse activamente en el comportamiento. Este nuevo aprendizaje genera una memoria de extinción que persiste a largo plazo y se evoca durante la *Extinción 2*, manifestándose en la ausencia de la respuesta condicionada durante el CS+. Estos cambios en la respuesta se reflejan principalmente en el porcentaje de tiempo dentro del puerto, mientras que el número de entradas al puerto y la latencia de entrada no mostraron una evolución tan clara y consistente. De esta manera, el tiempo dentro del puerto muestra ser la medida más sensible para evaluar la evocación y extinción de la memoria en este paradigma, por lo que será la medida utilizada en los análisis subsiguientes.

Dado que en cada fase del paradigma se observó un cambio progresivo en la respuesta, definimos una etapa temprana y una etapa tardía dentro las mismas (ver **M.3.1**), basándonos en los períodos en los que los animales expresaron cada una de las memorias (**Fig. 39A-C**). Así, se observó que durante el *Entrenamiento Temprano* los animales mostraron una respuesta condicionada reducida al CS+, comparable a la observada frente al CS- y al Pre ($F_{(2,14)} = 1,02$, $p = 0,36$; **Fig. 39D**). Durante el *Entrenamiento Tardío* (últimas dos sesiones de *Entrenamiento* de cada animal; ver **M.2.1** y **M.3.1**), se encontró un efecto significativo del estímulo ($F_{(2,14)} = 11,30$, $p = 0,001$), donde los animales pasaron significativamente más tiempo dentro del puerto en respuesta al CS+ en comparación con el CS- y con el Pre (ambos: $p < 0,004$). No se encontraron diferencias significativas entre CS- y Pre ($t_{(14)} = 0,26$, $p > 0,99$), indicando que el aumento en la respuesta fue específico del CS+. Esta memoria apetitiva, evaluada en la *Extinción 1 Temprana* durante los ensayos 1 a 20, fue evocada durante el CS+, reflejado en un efecto significativo del estímulo ($F_{(2,14)} = 18,11$, $p = 0,0001$), donde los animales tuvieron una respuesta significativa al CS+ en comparación con el CS- y con el Pre (ambos: $p < 0,001$). Aunque no se encontraron diferencias entre CS- y Pre ($t_{(14)} = 0,63$, $p > 0,99$), indicando que la mayor respuesta fue específica del CS+. A medida que avanzó la sesión de *Extinción 1*, los

animales redujeron su respuesta al CS+, reflejando el proceso de adquisición de la extinción. Esta disminución llevó a que, en la fase de *Extinción 1 Tardía*, comprendida por los 20 ensayos finales, la respuesta al CS+ se igualara a la de los demás estímulos ($F_{(2,14)}$ = 2,60, p = 0,12). Esta memoria de extinción puede ser evaluada en la fase de *Extinción 2 Temprana* (primeros 20 ensayos), en donde no encontramos un efecto significativo de los estímulos ($F_{(2,14)}$ = 3,55, p = 0,06). Finalmente, y de forma esperada, tampoco se encontraron diferencias significativas en la respuesta a los estímulos en la *Extinción 2 Tardía* ($F_{(2,14)}$ = 2,06, p = 0,16).

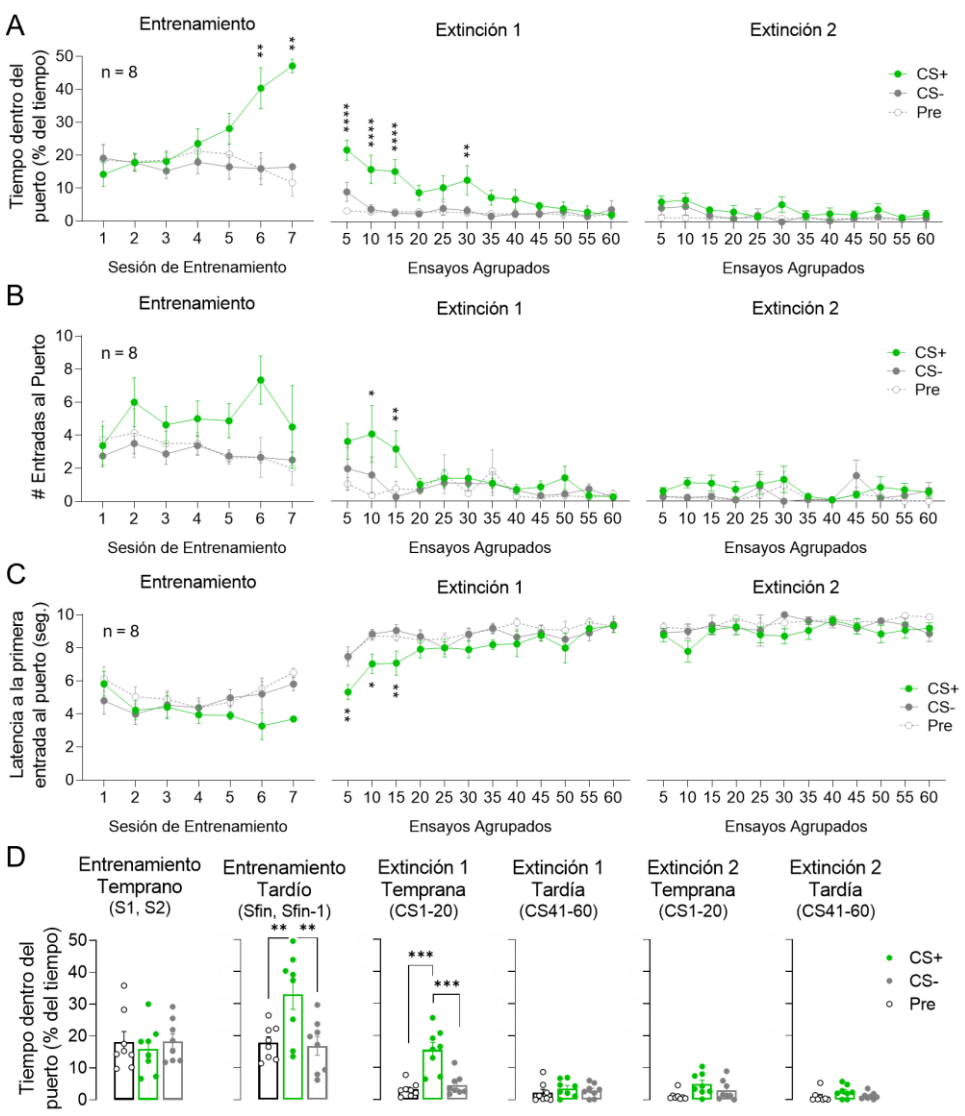


Figura 39. Evolución de la respuesta condicionada apetitiva a lo largo del *Entrenamiento* y la *Extinción*. A-C. Evolución de la permanencia dentro del puerto (**A**), número de entradas al puerto (**B**) y latencia a la primera entrada (**C**) durante el *Entrenamiento*, la *Extinción 1* y la *Extinción 2*. Para facilitar la visualización, los ensayos de las fases de extinción se agruparon de a 5 ensayos. **D.** Comparación de la respuesta condicionada en diferentes fases del experimento, considerando etapas tempranas y tardías. S1 y S2 corresponden a las dos primeras sesiones de *Entrenamiento*; Sfin-1 y Sfin a las dos últimas sesiones. En (**D**), los puntos individuales representan las respuestas de cada animal. En todas las figuras, los datos representan la media ± error estándar de la media (SEM). Los asteriscos indican diferencias significativas en la comparación post hoc CS+ vs. CS- (**A-C**) o CS+ vs. CS-/Pre (**D**)(p < 0,05: *, p < 0,01: **, p < 0,001: ***).

R.3.2. Dinámica temporal de la conducta y evolución de la expectativa

Con el objetivo de caracterizar de forma cualitativa la dinámica de la respuesta durante la adquisición del condicionamiento, la evocación y la extinción de la memoria apetitiva, se analizaron los patrones de entrada al puerto y aceleración a lo largo de las distintas fases del experimento. A diferencia de los análisis previos centrados en comparar medidas promedio durante la presentación de los CS, este enfoque cualitativo permitió identificar no solo cuándo ocurre la respuesta, sino también cuánto dura y cómo se ajusta en el tiempo. Durante el *Entrenamiento Temprano*, los animales comenzaron a mostrar una respuesta ante la presentación de ambos estímulos (CS+ y CS-), reflejada en un cambio en la aceleración (**Fig. 40B**). Hasta ese momento no se observó una respuesta anticipatoria diferencial al CS+, ya que la probabilidad de estar dentro del puerto no difirió entre condiciones. Por otro lado, se registró un aumento de la probabilidad de estar dentro del puerto en el período posterior al CS+, acompañado por una disminución en la aceleración, lo que sería compatible con el consumo de la solución de sacarosa (**Fig. 40A-B**). En la etapa de *Entrenamiento Tardío*, los animales desarrollaron una respuesta anticipatoria clara y específica al CS+, evidenciada por un aumento pronunciado en la probabilidad de estar dentro del puerto durante la presentación del estímulo (**Fig. 40A-B**). En cuanto a la aceleración, se registró una disminución posterior al CS+ de nuevo compatible con el ingreso al puerto y el consumo de la recompensa (**Fig. 40B**). Este patrón de consumo se volvió más estrecho y definido en el tiempo, como se evidencia tanto en la curva de probabilidad como en la de aceleración, sugiriendo que los animales aprendieron a estimar con precisión la llegada de la recompensa y a ejecutar una respuesta estereotipada.

En la fase de *Extinción 1 Temprana*, los animales siguieron mostrando una respuesta anticipatoria específica al CS+. En esta fase, la probabilidad de permanencia en el puerto se mantuvo elevada incluso después del estímulo, lo que sugiere que los animales seguían esperando la entrega de la recompensa (**Fig. 40A-B**). Por otro lado, la aceleración no muestra una disminución brusca posterior al CS+, probablemente porque los animales esperan activamente la recompensa (**Fig. 40B**). Este patrón indica que la expectativa del refuerzo aún está presente y se sostiene más allá del período del CS+, reflejando la evocación de la memoria previamente adquirida. Luego, durante la fase *Extinción 1 Tardía* y *Extinción 2 Temprana*, la respuesta al CS+ dejó de observarse en las distintas medidas comportamentales (**Fig. 40A-B**), lo que indica que los animales dejaron de anticipar la llegada de la recompensa. Es importante señalar que, aunque aún se registra un cambio en la aceleración durante la presentación de ambos tonos, este cambio no parece estar vinculado a la memoria asociativa, sino más bien a cambio en la marcha provocado por la presentación de un estímulo auditivo. En conjunto, estos datos muestran que los animales ya no esperan la llegada del refuerzo positivo luego del protocolo de extinción, reflejando la consolidación de una memoria de extinción y la ausencia de expectativa ante el CS+. Se observa una clara progresión desde la adquisición hasta la evocación y posterior extinción de la memoria apetitiva, reflejada en la dinámica de la respuesta ante los distintos CS.

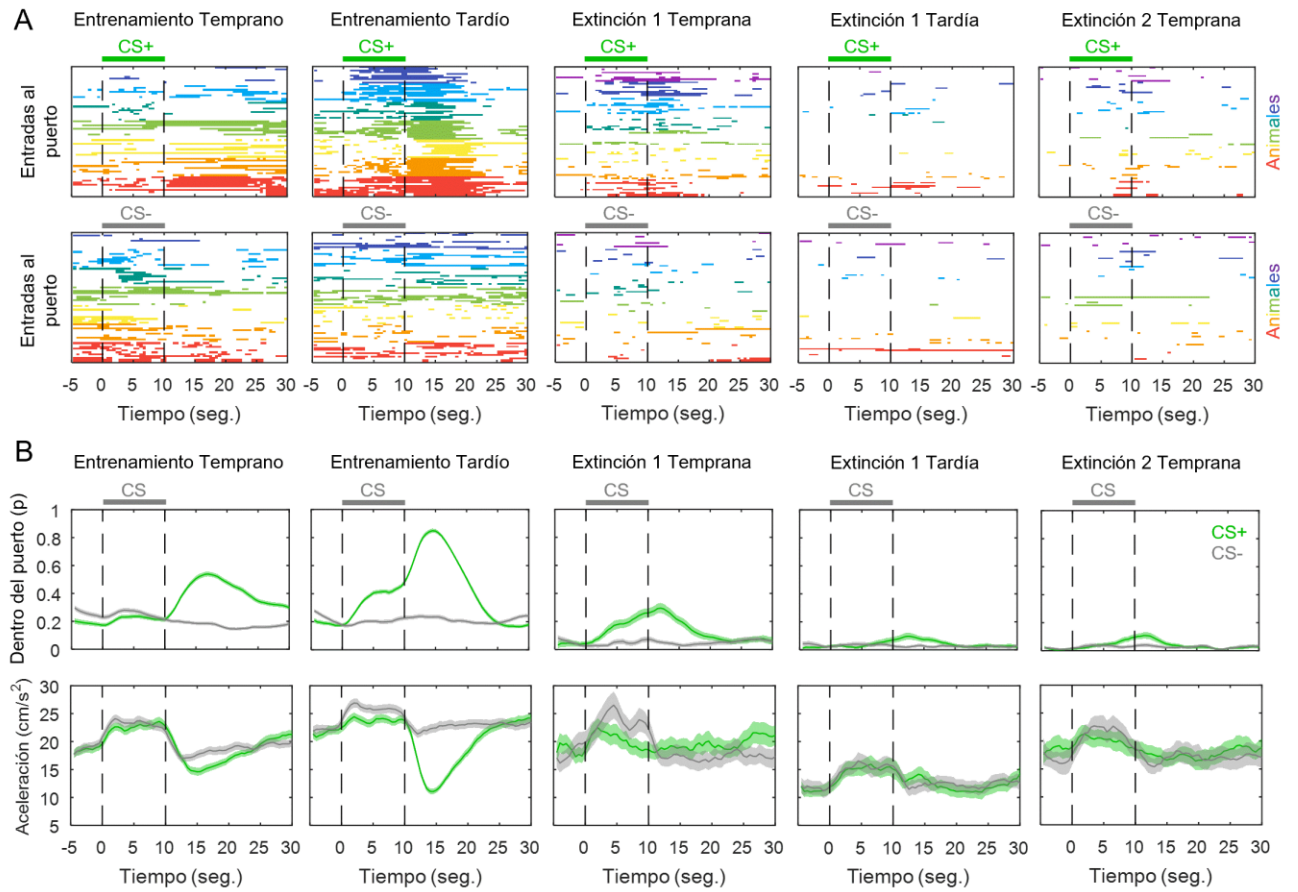


Figura 40. Dinámica del comportamiento durante la adquisición y extinción de la memoria apetitiva. A. Representación rasterizada de las entradas al puerto para cada animal (un color distinto por animal) alineadas al inicio del tono (CS+ arriba y CS- abajo) durante distintas fases del experimento: *Entrenamiento Temprano*, *Entrenamiento Tardío*, *Extinción 1 Temprana*, *Extinción 1 Tardía* y *Extinción 2 Temprana*. La línea horizontal encima de cada figura representa el momento en el que se presenta el tono. Las líneas horizontales dentro de cada figura indican los momentos en los que los animales están dentro del puerto en cada sesión. **B.** Análisis del comportamiento promedio durante las distintas fases del experimento. Fila superior: probabilidad de estar dentro del puerto durante el CS+ (verde) y el CS- (gris). Fila inferior: aceleración media durante los ensayos. Las curvas representan la media en la respuesta y las bandas sombreadas el error estándar de la media (SEM).

R.3.3. Diferencias interindividuales en la dinámica de expresión o inhibición de la memoria apetitiva

Durante el *Entrenamiento Tardío*, todos los animales alcanzaron el criterio de aprendizaje (ver **M.3.1**), logrando discriminar entre el CS+ y el CS- (**Fig. 41A**). Sin embargo, la intensidad de respuesta a los estímulos y el grado de discriminación no fue igual en todos los animales: algunos animales mostraron una respuesta más marcada en el tiempo dentro del puerto entre ambos estímulos, mientras que en otros esa diferencia fue más moderada. Esta variabilidad individual en la respuesta y en la discriminación también se manifestó y se mantuvo, durante la *Extinción 1 Temprana*, en la cual los animales evocan la memoria previamente adquirida (**Fig. 41A**). Estos resultados sugieren que el nivel de adquisición de la memoria apetitiva durante el *Entrenamiento* podría predecir la fuerza con la que dicha memoria se evoca durante la *Extinción 1 Temprana*.

En apoyo a esta interpretación, se encontraron correlaciones entre diferentes medidas de desempeño individual (**Fig. 41B-H**). En primer lugar, se observó una correlación positiva entre el índice de discriminación durante el *Entrenamiento Tardío* y durante la *Extinción 1 Temprana* (**Fig.**

41B; $R^2 = 0,78$, $F_{(1,6)} = 20,87$, $p = 0,004$), lo que indica que los animales que mejor discriminaron entre CS+ y CS- al final del *Entrenamiento* tendieron a mantener esa diferencia durante la evocación de la memoria en la *Extinción 1*. De forma similar, se halló una correlación positiva entre el índice de respuesta al CS+ durante el *Entrenamiento Tardío* y durante la *Extinción 1 Temprana* (**Fig. 41C**; $R^2 = 0,72$, $F_{(1,6)} = 15,30$, $p = 0,008$), sugiriendo que aquellos animales que desarrollaron una fuerte respuesta al estímulo reforzado durante el aprendizaje fueron también los que evocaron con mayor fuerza esa respuesta durante la evocación de esa memoria. Además, se observó una correlación positiva entre el índice de respuesta al CS+ y al CS- durante el *Entrenamiento Tardío* (**Fig. 41D**; $R^2 = 0,61$, $F_{(1,6)} = 9,57$, $p = 0,02$). Esta relación sugiere que los animales que mostraron respuestas más robustas al CS+ hacia el final del *Entrenamiento* también tendieron a responder más al CS-. Esto podría interpretarse como un indicio de mayor generalización de la respuesta apetitiva (Likhtik et al., 2014, 2015): una memoria más fuerte del valor positivo del CS+ podría conllevar una transferencia parcial de esa expectativa al estímulo no reforzado (CS-). En otras palabras, los animales que más aprendieron a buscar la recompensa ante el CS+ podrían haber desarrollado una representación más difusa o flexible de la asociación, manifestando así respuestas más generalizadas durante el *Entrenamiento*. Alternativamente, este patrón también podría reflejar diferencias individuales en impulsividad o control inhibitorio, donde los animales más impulsivos tienden a responder más ante cualquier estímulo, independientemente de su valor predictivo.

Complementando esto, también se observó una correlación positiva entre el cambio en el índice de respuesta al CS+ a lo largo del *Entrenamiento* y el índice de respuesta al CS+ durante la *Extinción 1 Temprana* (**Fig. 41E**; $R^2 = 0,66$, $F_{(1,6)} = 11,60$, $p = 0,01$), lo que indica que los animales que mostraron un cambio mayor en su respuesta al CS+ a lo largo del proceso de aprendizaje fueron también los que evocaron con mayor fuerza esa respuesta durante la *Extinción 1 Temprana*. Esto indicaría que no sólo el nivel final de aprendizaje, sino la ganancia adquirida en la respuesta apetitiva durante el *Entrenamiento* tiene valor predictivo sobre la fuerza con la que se evoca la memoria. Por otro lado, se observó una correlación negativa entre el cambio en el índice de respuesta al CS+ durante el *Entrenamiento* y el cambio durante la *Extinción 1* (**Fig. 41F**; $R^2 = 0,65$, $F_{(1,6)} = 11,14$, $p = 0,02$), lo que sugiere que los animales que más aumentaron su respuesta al CS+ durante el *Entrenamiento* fueron también los que más redujeron esa respuesta durante la *Extinción 1*. Esta relación inversa podría sugerir que una memoria apetitiva más fuertemente adquirida es más susceptible a extinguirse rápidamente una vez que el refuerzo deja de presentarse. Sin embargo, también puede interpretarse de forma más directa: los animales que alcanzaron niveles más altos de respuesta al CS+ al final del *Entrenamiento* simplemente tuvieron más margen para reducir esa respuesta durante la extinción, por lo que la mayor caída observada podría reflejar una consecuencia proporcional del nivel previamente alcanzado durante el *Entrenamiento*. Asimismo, se observó una correlación negativa entre el cambio en el índice de respuesta al CS+ durante la *Extinción 1* y el índice de respuesta al CS+ durante la *Extinción 2 Temprana* (**Fig. 41G**; $R^2 = 0,84$, $F_{(1,6)} = 30,87$, $p = 0,001$). Este resultado indica que los animales que mostraron una mayor caída en su respuesta al CS+ a lo largo de la *Extinción 1* (es decir, un cambio más negativo) fueron también los que mostraron una respuesta más alta al CS+ durante la *Extinción 2*. Esto sugiere que la magnitud de la respuesta en *Extinción 2 Temprana* está parcialmente determinada por el nivel de respuesta al inicio de la *Extinción 1*, reflejando una persistencia en la reactividad al estímulo más que una evocación específica de la memoria. Finalmente, no se observó una relación entre el índice de respuesta al CS+ durante la *Extinción 1 Tardía* y durante la *Extinción 2 Temprana* (**Fig. 41H**; $R^2 = 0,02$, $F_{(1,6)} = 0,11$, $p = 0,75$). Esto indica que el nivel de extinción alcanzado no se correlaciona con la respuesta observada durante la evocación de esta memoria de extinción. De todas formas, la ausencia de correlación podría ser esperable, ya que correlacionar respuestas residuales entre fases en las que no se está expresando la memoria asociativa no resulta informativo y probablemente refleje un nivel basal de comportamiento no relacionado con la memoria previamente adquirida.

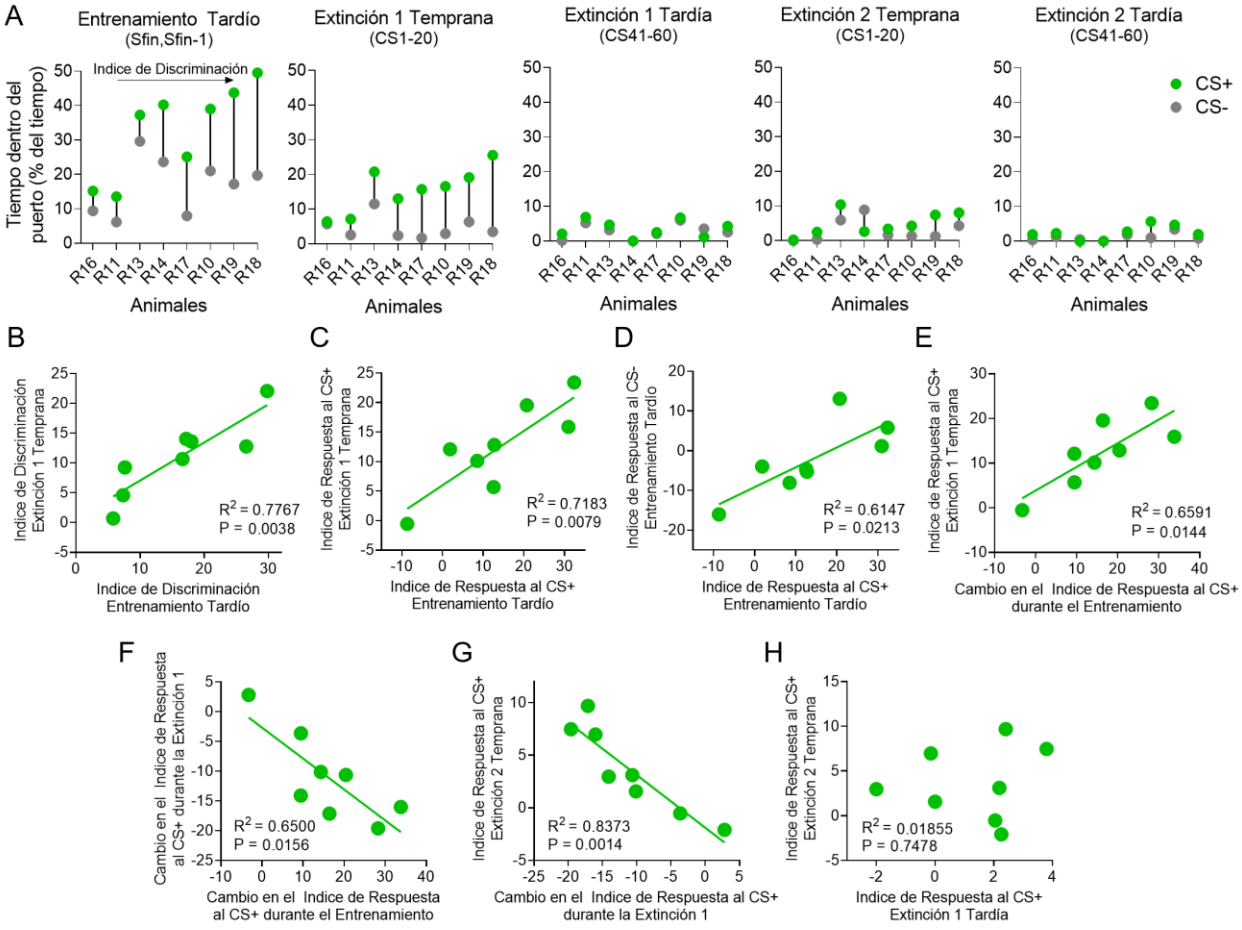


Figura 41. Variabilidad individual en la adquisición, expresión y extinción de la memoria apetitiva. A. Porcentaje de tiempo dentro del puerto durante la presentación del CS+ (verde) y del CS- (gris) para cada animal individual en distintas fases del experimento. Los animales están ordenados de izquierda a derecha según su índice de discriminación en el *Entrenamiento Tardío*. La línea vertical entre los puntos verdes y grises representa el índice de discriminación, calculado como la diferencia entre el tiempo dentro del puerto para CS+ y CS-. **B.** Correlaciones lineales entre distintas medidas comportamentales individuales, como el índice de discriminación o el índice de respuesta a los CS. Cada punto representa un animal. Las líneas verdes indican aquellas regresiones lineales que resultaron significativas. Se muestran los valores de R^2 y p correspondientes a cada correlación.

Estos resultados muestran que, si bien todos los animales adquirieron la asociación entre el CS+ y la recompensa, existieron diferencias individuales en la magnitud de la respuesta condicionada y en la dinámica con la que esta memoria se evocó y se extinguió. Las correlaciones observadas indican que tanto el nivel final como la evolución durante el aprendizaje predicen la expresión inicial de la memoria durante la *Extinción 1 Temprana*, y que ciertos animales tienden a mostrar respuestas más persistentes al estímulo, incluso cuando este ya no tiene valor asociativo. Esta variabilidad interindividual en el desempeño sugiere que existen diferencias en la sensibilidad, reactividad o flexibilidad comportamental entre sujetos, lo cual puede aportar información relevante sobre los factores que modulan la fuerza y la persistencia de las memorias asociativas.

En conjunto, los resultados comportamentales obtenidos en este paradigma de condicionamiento clásico apetitivo demuestran que los animales pudieron adquirir, evocar y extinguir una memoria apetitiva de manera consistente. La discriminación clara entre el CS+ y el CS- en el *Entrenamiento*, su evocación en la *Extinción 1 Temprana*, y la ausencia de respuesta en fases posteriores a la extinción, respaldan la eficacia del protocolo. Las distintas medidas comportamentales

(particularmente el tiempo dentro del puerto, que se mostró como la métrica más sensible) permiten caracterizar con precisión la dinámica temporal de la respuesta condicionada a lo largo de las diferentes fases del paradigma. Asimismo, la variabilidad interindividual observada aporta información adicional sobre las diferencias en la fuerza, estabilidad y flexibilidad de la memoria entre animales. Estos hallazgos confirman que el paradigma resultó ser una herramienta útil para inducir y estudiar la evolución de memorias apetitivas, generando así un marco robusto para avanzar en el análisis de los correlatos neuronales asociados a estos procesos.

R.4. Dinámica oscilatoria y neuronal en el paradigma apetitivo

R.4.1. Dinámica oscilatoria durante la evocación y extinción de memorias apetitivas

Si bien la dinámica oscilatoria en la BLA y la mPFC ha sido ampliamente estudiada en paradigmas aversivos, aún se ha explorado muy poco acerca de cómo estas mismas estructuras organizan su actividad rítmica durante la evocación y extinción de memorias asociadas a recompensas, pese a que ambos tipos de memoria reclutan circuitos comunes, como la red BLA-mPFC. Distintos trabajos en modelos animales han demostrado que, durante el procesamiento de estímulos recompensantes, la potencia en bandas específicas se modula en función del valor aprendido del estímulo y del estado conductual del animal. Se ha descripto un aumento sostenido de la potencia en la banda theta durante la evocación de memorias asociadas a estímulos apetitivos, tanto en la mPFC como en la BLA (Zhu et al., 2019; Hsu et al., 2020), interpretado como un posible correlato de activación de la memoria y de reevaluación del valor del estímulo, especialmente en fases de extinción. En modelos de adicción, también se ha reportado una modulación en la potencia de theta en la BLA con el condicionamiento, posiblemente reflejando una reorganización funcional posterior al aprendizaje (Nukitram et al., 2021). Por otro lado, las oscilaciones beta han sido identificadas como un marcador robusto del valor aprendido. En roedores, se ha observado un aumento de su potencia en el estriado ventral (vStr) a lo largo de la adquisición de una conducta motivada por recompensa (Howe et al., 2011). Un patrón similar se ha descripto en la BLA y la mPFC, donde la potencia de beta se incrementa durante el consumo de recompensas (Amaya et al., 2024). En particular, esta oscilación emerge durante la atribución de valor positivo al estímulo y se ha vinculado con la representación del valor subjetivo (Koloski et al., 2022; Amaya et al., 2024; Clarke-Willams et al., 2024). En cuanto a las oscilaciones gamma, se han reportado aumentos de la potencia en gamma lento durante la anticipación de recompensas en la BLA y regiones cortico-límbicas (Bauer et al., 2007; Popescu et al., 2009), mientras que el gamma rápido tiende a disminuir en la mPFC durante la evocación de memorias condicionadas por heroína, posiblemente reflejando una reorganización del procesamiento cortical en contextos de adicción (Zhu et al., 2019). A su vez, se ha observado que, durante estados de vigilancia motivada, como la búsqueda de alimento en presencia de una amenaza, se incrementa la potencia de ambos gamma en la BLA, lo que sugiere un rol funcional de estas oscilaciones en la modulación de la conducta en situaciones de alta relevancia emocional (Amir et al., 2018). Salvo algunas excepciones, en pocos trabajos se distingue entre el PL y el IL, a pesar de que podrían cumplir funciones diferentes en la regulación de las memorias apetitivas. Algunos autores sugieren, por ejemplo, que el IL podría ser la región dominante en la modulación de conductas guiadas por recompensa, dada su participación en la consolidación de hábitos y en tareas que implican una motivación positiva (Burgos-Robles et al., 2017). En este contexto, esta sección tiene como objetivo caracterizar de manera integral la dinámica oscilatoria en la BLA, el PL y el IL durante la evocación y la extinción de una memoria apetitiva.

Como primer paso, se analizó la dinámica oscilatoria evocada por la presentación de los estímulos CS+ y CS-. Este enfoque se alinea con el abordaje clásico del campo al evaluar las oscilaciones inducidas por los CS y establece un marco de referencia sobre el cual interpretar, en secciones posteriores, la dinámica oscilatoria más específica vinculada a los eventos comportamentales. En

este marco, comenzamos evaluando la dinámica oscilatoria durante el *Entrenamiento Tardío*, momento en el que los animales ya adquirieron la asociación entre el CS+ y la recompensa. Durante esta fase, la presentación de los tonos CS+ y CS- estuvo acompañada por una modulación de la actividad oscilatoria en las distintas bandas de frecuencia, observándose un patrón dinámico de actividad en la BLA (**Fig. 42A**). En particular, se registró una actividad theta sostenida (5-11 Hz), que se vio interrumpida transitoriamente durante los momentos en que el animal ingresaba al puerto. Además, se observó actividad en el rango de 4-Hz (2-5 Hz), que parecería coincidir temporalmente con los eventos de entrada que ocurrían luego del CS+. En contraste, durante la fase de *Extinción 2 Temprana* (**Fig. 42B**), una vez que los animales ya extinguieron la memoria apetitiva, se registraron muy pocas entradas al puerto, y la actividad oscilatoria mostró un perfil más estable de actividad theta sostenida, con escasa actividad en la banda de 4-Hz. Estos patrones de actividad no solo se observaron en la BLA, sino que también se vieron de forma similar en el PL y el IL, mostrando una coordinación entre estas regiones durante las distintas fases de la tarea (**Fig. 42C-D**), de forma análoga a lo que se observó previamente en el paradigma aversivo.

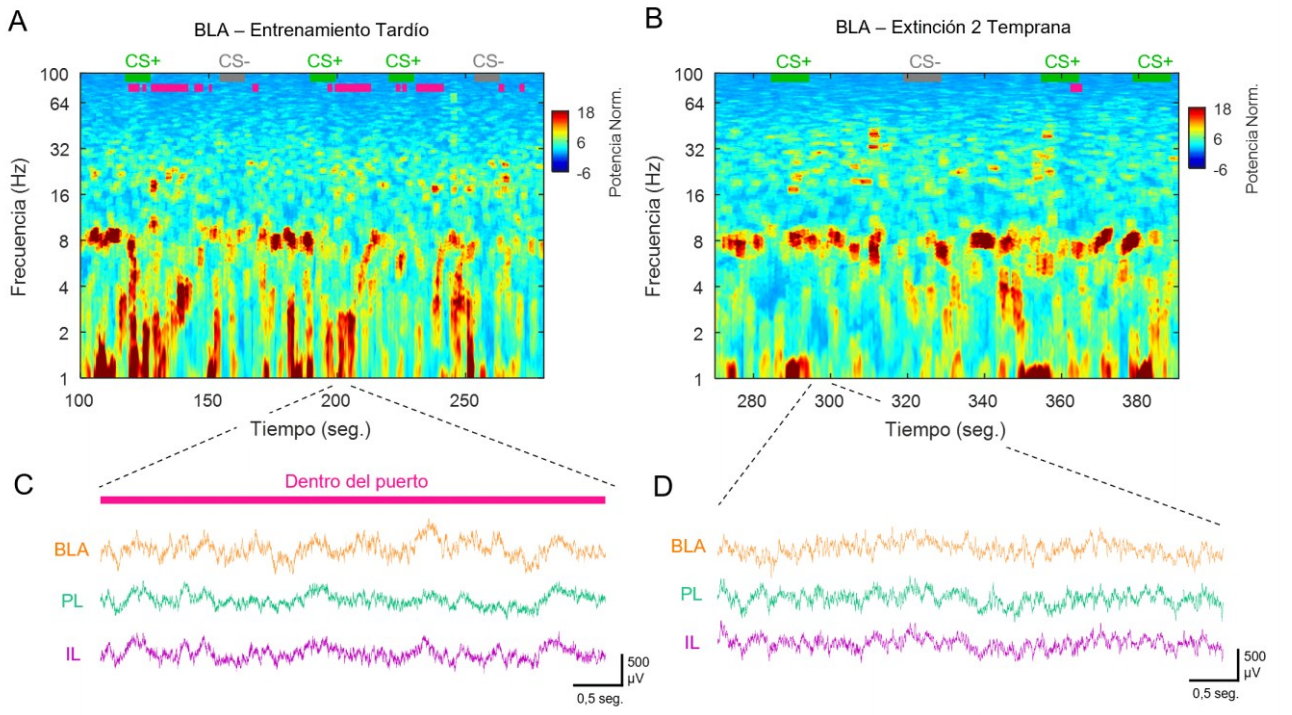


Figura 42. Dinámica oscilatoria durante la presentación de los tonos. **A**. Espectrograma representativo de la actividad oscilatoria en la BLA durante la fase de *Entrenamiento Tardío*, asociado a la presentación de los tonos CS+ (en verde) y CS- (en gris). Se muestra la potencia normalizada en función del tiempo para cada frecuencia en escala logarítmica. En la parte superior de los espectrogramas se indican los eventos de entrada al puerto (en rosa). **B**. Igual que en A, pero correspondiente a la fase de *Extinción 2 Temprana*. **C-D**. Ejemplos de señales LFP extraídas de segmentos representativos de los registros mostrados arriba, correspondientes a la BLA (naranja), el PL (verde) y el IL (violeta). Los eventos de entrada al puerto se representan con una línea horizontal rosa alineada arriba de los trazos.

Con el *Entrenamiento*, fueron emergiendo distintos perfiles oscilatorios asociados a los estímulos. Los animales adquirieron la asociación entre el tono CS+ y la recompensa, como se reflejó en el aumento del tiempo dentro del puerto durante el CS+ (ver **R.3.1-3**). Durante el *Entrenamiento Temprano*, donde los animales en general respondían durante ambos tonos, pero aún no discriminaban entre ellos, no se observaron diferencias significativas en la potencia de las bandas de 4-Hz, theta, beta y gamma lento entre el CS+ y el CS- en ninguna de las tres regiones analizadas

(Fig. 43A-C; todos: p > 0,05, |d| < 0,2). Sin embargo, se registró un aumento de la potencia de gamma rápido respecto a la línea de base, particularmente en el PL y el IL (todos: p < 0,001, d > 0,24), lo que podría reflejar un estado motivacional común ante ambos CS. Hacia el *Entrenamiento Tardío*, donde los animales lograron discriminar entre ambos estímulos (ver R.3.1-3), el perfil espectral se mantuvo en general estable, aunque con algunos cambios que consolidaron ciertos efectos (Fig. 43D-I). En esta fase se observó un aumento significativo y de efecto pequeño de la potencia de gamma rápido durante el CS+ en comparación con el CS- en la BLA y en el IL (todos: p < 0,001, d < -0,41). En contraste, gamma lento mostró una tendencia opuesta, con una disminución de la potencia durante el CS+, en comparación con el CS-, en la BLA y en el IL (ambos: p < 0,001, d > 0,11), aunque en ambos casos con efectos marginales. En cambio, durante la presentación del CS- se registró un aumento significativo de la potencia de gamma lento con respecto a la línea de base en ambas regiones (ambos: p < 0,001, d > 0,27). Este patrón sugiere una posible organización diferencial de las bandas gamma en función de la valencia del estímulo y del aprendizaje, con un predominio de gamma rápido frente al CS+, y la presencia de ambos gamma durante el CS-.

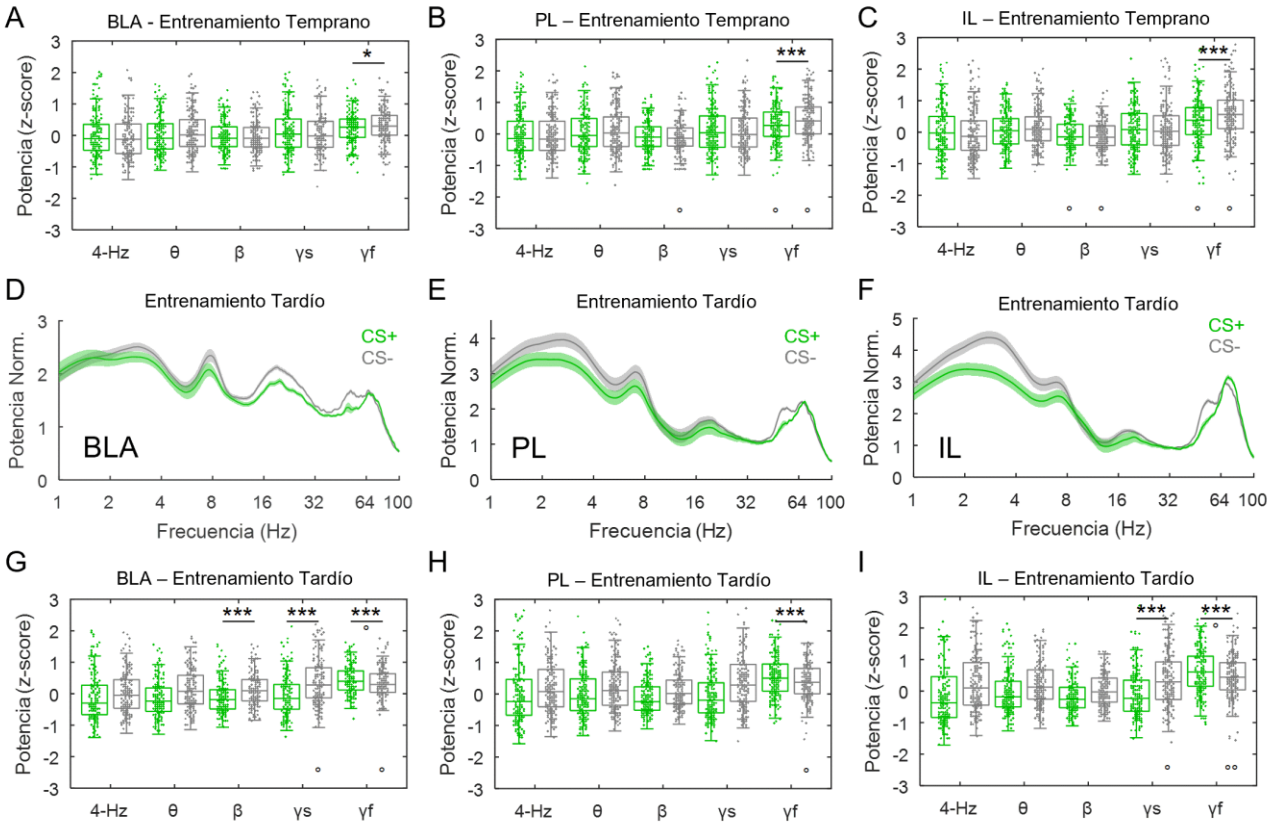


Figura 43. Análisis espectral y cuantificación de la potencia oscilatoria durante el *Entrenamiento*. A-C. Cuantificación de la potencia oscilatoria en distintas bandas de frecuencia (4 Hz, θ: theta; β: beta; γs: gamma lento; γf: gamma rápido) por región cerebral, comparando las respuestas al CS+ (verde) y CS- (gris) durante la fase de *Entrenamiento Temprano*. **D-F**. Espectros de potencia (PSD) promedio por región cerebral para los tonos CS+ y CS- durante el *Entrenamiento Tardío*, representando la potencia normalizada en función de la frecuencia en escala logarítmica. **G-I**. Igual que en A-C, pero para la fase de *Entrenamiento Tardío*. En los PSD, las líneas indican la mediana y las áreas sombreadas el desvío absoluto de la mediana (MAD). Los boxplots muestran la mediana (línea horizontal), el rango intercuartílico (caja) y los percentiles 10 y 90 (extremos de los bigotes). Los valores individuales se representan como puntos superpuestos. Los asteriscos (*) en la parte superior de cada comparación indican diferencias significativas entre CS+ y CS-, mientras que los círculos (°) un tamaño del efecto significativo. Los círculos (°) en la parte inferior indican tamaños del efecto significativos con respecto a la línea de base. (*p < 0,05; ***p < 0,001; tamaño del efecto: d > 0,2: °; d > 0,5: °°; N_{CS+} = 682, N_{CS-} = 733).

Hacia la fase de *Extinción 1 Temprana*, correspondiente al momento de testeo de la memoria apetitiva, se replicó un patrón similar al del *Entrenamiento*, con un aumento de la potencia en la banda de gamma rápido por sobre la línea de base durante el CS+ y el CS-, en el PL y el IL (todos: $p < 0,001$, $d > 0,45$), aunque sin diferencia entre ambos estímulos (todos: $p > 0,24$, $d < 0,01$) (**Fig. 44A-F**). Durante el CS-, se mantuvo la tendencia de una mayor potencia de gamma lento en comparación con la línea de base (todos: $p < 0,001$, $d > 0,40$), que fue mayor a la potencia en el CS+ sólo en el PL ($F_{(1,183)} = 12,81$, $p = 0,002$, $d = 0,26$). Por otro lado, en la fase de *Extinción 1 Tardía*, momento en que los animales ya extinguieron la respuesta condicionada de búsqueda de recompensa, todas estas diferencias se disiparon. No se observaron diferencias significativas entre condiciones, en ninguna de las bandas de frecuencia, ni en ninguna de las tres regiones analizadas (**Fig. 44G-L**; todos: $p > 0,07$, $d < 0,09$). Esto mismo se observó durante la fase de *Extinción 2 Temprana*, donde tampoco se observaron diferencias significativas en ninguna de las condiciones (todos: $p > 0,03$, $d < 0,11$).

Estos resultados sugieren que el patrón de actividad caracterizado principalmente por un aumento de la potencia de gamma rápido, sobre todo en el PL y el IL, podría estar reflejando un estado general de activación del sistema motivacional durante el *Entrenamiento* y el testeo de la memoria apetitiva. La falta de diferencias entre ambos tonos en esta banda, durante el testeo de la memoria apetitiva, sugiere que esta oscilación no estaría codificando el valor específico del estímulo luego del *Entrenamiento*, sino más bien un estado de activación motivacional general que podría reflejar un estado de expectativa o alerta generalizada en las primeras fases de la extinción. Por otro lado, el aumento de la potencia en gamma lento ante el CS-, observado únicamente en fases tardías del *Entrenamiento* y durante el testeo de la memoria apetitiva, podría reflejar la activación de mecanismos inhibitorios que contribuyen a suprimir la respuesta condicionada ante un estímulo que no predice recompensa, o también podría estar asociado a diferencias en la dinámica comportamental entre el CS+ y el CS-. Sin embargo, este patrón no se mantiene en las fases posteriores de extinción, lo que sugiere que, una vez que la respuesta de búsqueda de recompensa se ha extinguido, la dinámica oscilatoria vuelve a niveles comparables con la línea de base, sin modulaciones asociadas a la memoria previamente adquirida ni al reclutamiento diferencial de ciertas oscilaciones.

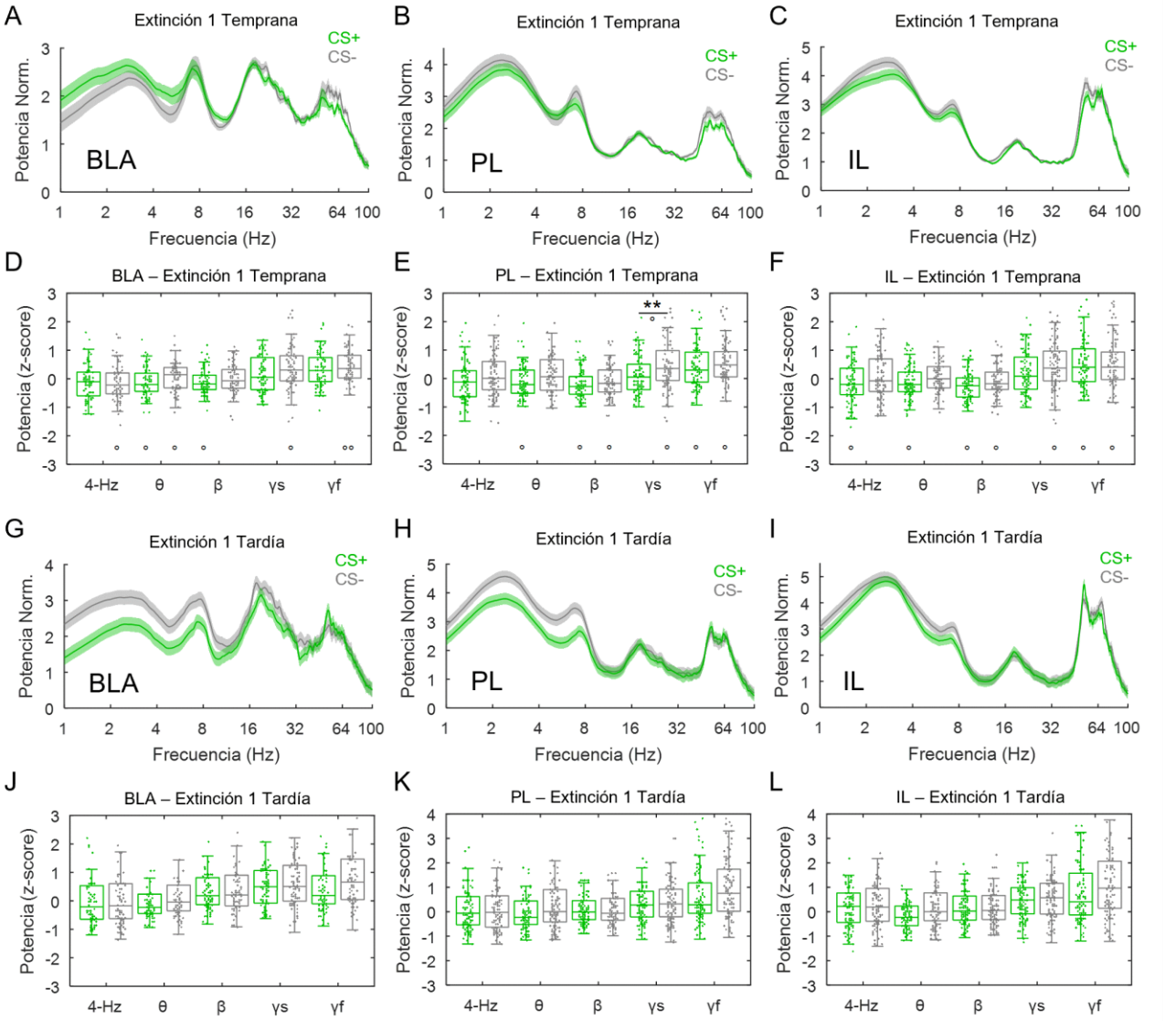


Figura 44. Análisis espectral y cuantificación de la potencia oscilatoria durante la *Extinción 1*. **A-C**. Espectros de potencia (PSD) promedio por región cerebral para los tonos CS+ (verde) y CS- (gris) durante la fase de *Extinción 1 Temprana*, representando la potencia normalizada en función de la frecuencia en escala logarítmica. **D-F**. Cuantificación de la potencia oscilatoria en distintas bandas de frecuencia (4-Hz, θ: theta; β: beta; γs: gamma lento; γf: gamma rápido) por región cerebral, comparando las respuestas al CS+ y CS- durante la *Extinción 1 Temprana*. **G-I**. Espectros de potencia (PSD) promedio por región cerebral para los tonos CS+ y CS- durante la fase de *Extinción 1 Tardía*. **J-L**. Cuantificación de la potencia oscilatoria por banda de frecuencia durante la *Extinción 1 Tardía*, en cada región analizada. En los PSD, las líneas indican la mediana y las áreas sombreadas el desvío absoluto de la mediana (MAD). Los boxplots muestran la mediana (línea horizontal), el rango intercuartílico (caja) y los percentiles 10 y 90 (extremos de los bigotes). Los valores individuales se representan como puntos superpuestos. Los asteriscos en la parte superior de cada comparación indican diferencias significativas entre CS+ y CS-, mientras que los círculos (°) en la parte superior indican tamaños del efecto significativos entre CS+ y CS-. Los asteriscos en la parte inferior indican diferencias significativas con respecto a la línea de base (valor cero), y los círculos (°) en la parte inferior indican tamaños del efecto significativos respecto a la línea de base. (p-valor: $p < 0,01$: **; tamaño del efecto: $d > 0,2$: °; $N_{CS+} = 91$, $N_{CS-} = 94$ en la fase temprana; $N_{CS+} = 105$, $N_{CS-} = 104$ en la fase tardía).

Complementando estos resultados, en los espectrogramas pudimos observar la dinámica temporal de los cambios oscilatorios en la BLA alineados al inicio de los tonos (Fig. 45). Durante el *Entrenamiento Tardío*, se observa un patrón oscilatorio característico en esta región (Fig. 45A): mientras que los animales incrementaron su probabilidad de entrada al puerto durante el CS+, se

registró un aumento de la potencia en gamma rápido, acompañado de una disminución simultánea en otras bandas. Además, una vez finalizado el CS+, aparece un segundo patrón oscilatorio caracterizado por un aumento de la potencia en 4-Hz, beta y gamma lento, junto con una disminución de gamma rápido. Esta dinámica, que coincide temporalmente con un pico en la probabilidad de estar dentro del puerto y con una reducción de la aceleración, sugiere que podría reflejar la actividad oscilatoria del circuito durante el momento de consumo de la recompensa. En contraste, este patrón no se expresa luego del CS-, lo que refuerza la idea de que está vinculado a este consumo. Durante la fase de *Extinción 1 Temprana* (**Fig. 45B**), se mantiene el aumento sostenido de la potencia en gamma rápido para ambos tonos. Si bien los animales aún muestran una mayor probabilidad dentro puerto ante el CS+ que ante el CS-, no se observa, luego de los tonos, un pico en la potencia de 4-Hz, beta ni gamma lento, lo cual es consistente con que en esta etapa los animales ya no están recibiendo la recompensa. Aunque se observó una variabilidad entre animales en cuanto al grado de aprendizaje, de evocación y de extinción de la memoria apetitiva (ver **R.3.3**), dicha variabilidad no mostró una correspondencia sistemática con los perfiles de potencia oscilatoria. Se realizaron análisis exploratorios para evaluar posibles correlaciones entre los índices conductuales (como la discriminación entre estímulos y las respuestas al CS+ y al CS-) y la potencia en las diferentes bandas de frecuencia, pero no se encontraron correlaciones significativas en ninguna de las condiciones examinadas. Por este motivo, dichos análisis no fueron incluidos.

Estos resultados apoyan la interpretación de que el patrón de actividad con aumento de la potencia de gamma rápido podría reflejar un estado motivacional generalizado, mientras que la actividad oscilatoria posterior al tono, observada durante el *Entrenamiento*, estaría más estrechamente asociada al consumo de la recompensa y posiblemente al cumplimiento de la expectativa. Sin embargo, el análisis durante los estímulos no permite descomponer con precisión estos dos procesos, ya que los animales podrían estar haciendo más de un comportamiento dentro de esa ventana de análisis, como ocurre durante la presentación de los CS en el paradigma aversivo. Para abordar esta limitación y avanzar hacia una caracterización más precisa de los estados motivacionales involucrados, se analizó a continuación la dinámica oscilatoria alineada específicamente a los eventos de entrada al puerto, ya sea durante la presentación de los tonos CS+ y CS- o en el periodo posterior. Este enfoque centrado en el comportamiento permite capturar con mayor sensibilidad las diferencias entre las entradas al puerto en distintos contextos, y por lo tanto resulta fundamental para diferenciar los mecanismos oscilatorios que subyacen a los diferentes estados emocionales.

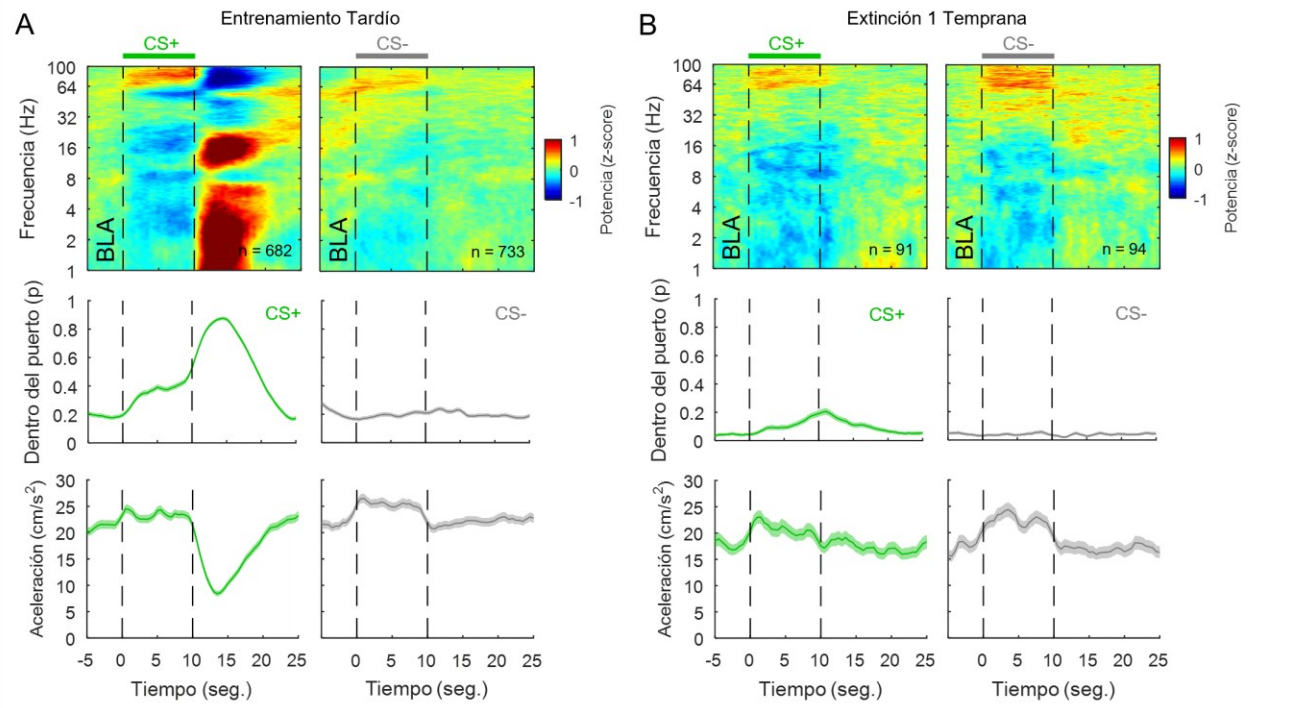


Figura 45. Dinámica oscilatoria y comportamiento alineada a la presentación de los estímulos. A. Espectrogramas promedio de la potencia oscilatoria (expresada en z-score) en la BLA alineados al inicio de los tonos CS+ (izquierda) y CS- (derecha) durante el *Entrenamiento Tardío*. Debajo, se muestra la probabilidad promedio de estar dentro del puerto y la aceleración promedio de los animales, ambas alineadas al inicio del tono. La línea indica la media y el área sombreada, el error estándar de la media (SEM). **B**. Igual que en A, pero correspondiente a la fase de *Extinción 1 Temprana*. En los espectrogramas, se indica el número de ensayos incluidos (n). Las líneas verticales indican el inicio y el final del tono.

En primer lugar, se analizó la dinámica oscilatoria alineada específicamente a los eventos de entrada al puerto ocurridos durante los tonos CS+ y CS- (**Fig. 46** y **Fig. 47**). Durante estos eventos se observó un patrón oscilatorio consistente en las tres regiones analizadas, caracterizado principalmente por un aumento de la potencia en la banda de gamma rápido, acompañado por una disminución relativa en otras bandas, particularmente 4-Hz, beta y gamma lento (**Fig. 46A** y **Fig. 47A-F**). Esta dinámica estuvo asociada con una alta probabilidad de permanencia dentro del puerto (**Fig. 46A**), lo que sugiere un estado conductual relacionado con la entrada al puerto en ausencia de la recompensa, independientemente de si esa entrada sucede durante el CS+ o el CS-. La comparación entre ambos estímulos mostró que, si bien algunas bandas presentaron diferencias estadísticamente significativas en las tres regiones, como theta, gamma lento y gamma rápido, los tamaños del efecto fueron marginales (todos: $p < 0{,}001$, $|d| < 0{,}08$), lo que indica que el perfil oscilatorio fue en general muy similar entre ambos estímulos (**Fig. 47D-F**). Sin embargo, para ambos estímulos se observó un aumento significativo de la potencia en gamma rápido con respecto a la línea de base (todos: $p < 0{,}001$, $d > 0{,}44$), acompañado por una disminución generalizada, salvo por algunos casos aislados, en las bandas de 4-Hz, beta y gamma lento (todos: $p < 0{,}001$, $d < -0{,}24$), reforzando la idea de un patrón oscilatorio común asociado al ingreso al puerto en ausencia de la recompensa, más allá de cuál es el estímulo que evoca dicho comportamiento, y posiblemente vinculado a un estado motivacional de expectativa de esta recompensa.

Los espectrogramas alineados a la entrada al puerto (**Fig. 46A**) muestran además una actividad que aparece unos segundos después de la entrada durante el CS+, y que se corresponde con un aumento en la potencia de 4-Hz, beta y gamma lento, junto con una disminución en gamma rápido. Esta señal, además, no se observa en las entradas durante el CS-. Dado que este segundo patrón de actividad se asemeja al que ya habíamos observado inmediatamente luego de CS+ (ver **Fig. 45A**),

esto nos sugiere que esta señal no estaría asociada directamente al tono, sino más bien al momento específico de la entrada al puerto post CS+. Por este motivo, a continuación, realineamos los datos a los eventos de entrada post CS (entradas que ocurren en los 5 seg. posteriores al tono), para caracterizar con mayor precisión este patrón oscilatorio.

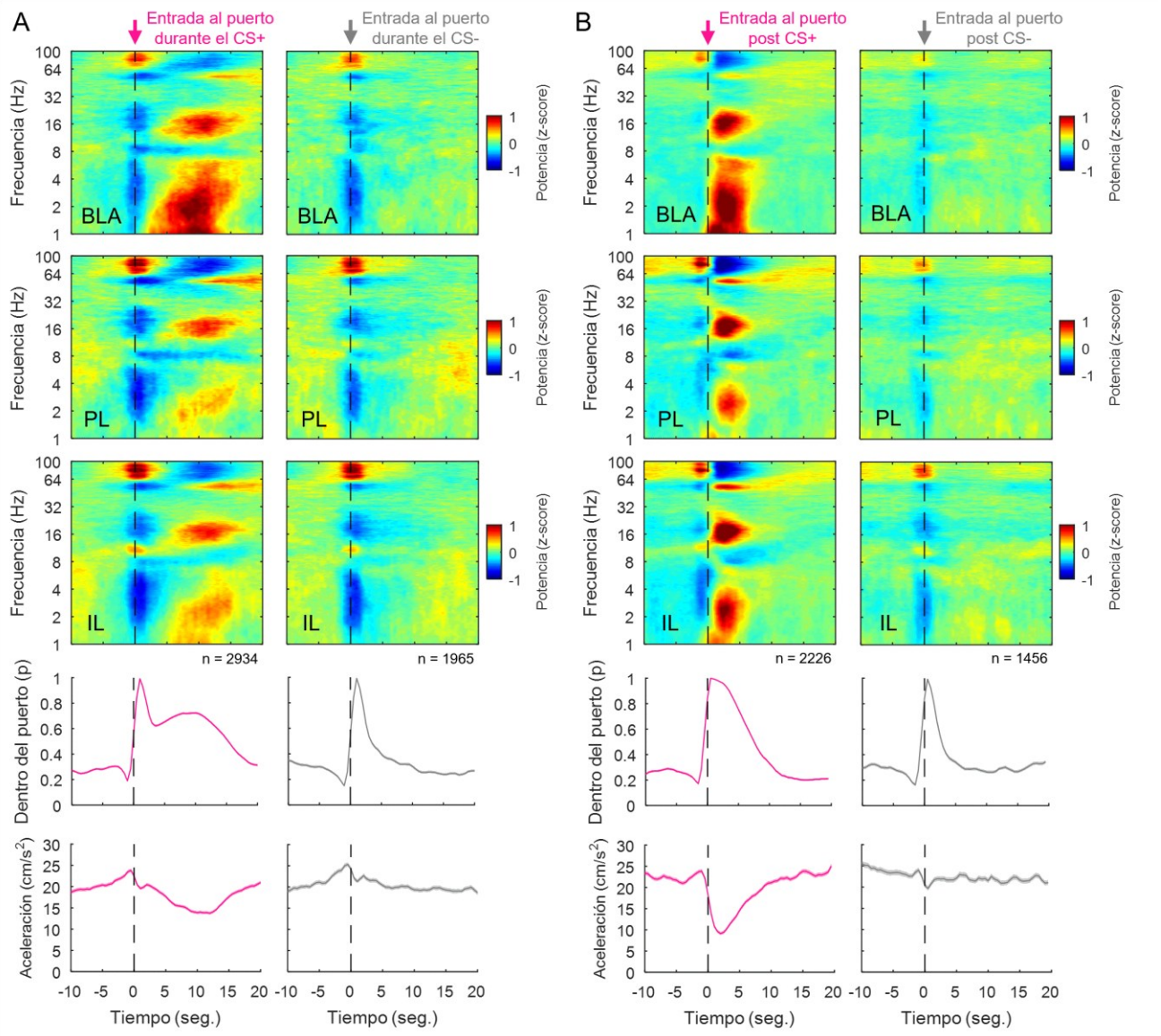


Figura 46. Dinámica oscilatoria y comportamiento alineados a los eventos de entrada al puerto durante el *Entrenamiento*. A. Espectrogramas promedio de la potencia oscilatoria (expresada en z-score) en BLA (arriba), PL (medio) e IL (abajo) alineados al inicio de eventos de entrada al puerto que ocurrieron durante los tonos CS+ (izquierda, en rosa) y CS- (derecha, en gris). Se indica el número de eventos incluidos (n). Debajo, se muestra la probabilidad promedio de estar dentro del puerto y la aceleración promedio de los animales, alineadas al mismo evento. La línea indica la media y el área sombreada, el error estándar de la media (SEM). **B**. Igual que en A, pero alineado a eventos de entrada al puerto ocurridos en el período post CS+ (izquierda, en rosa) y post CS- (derecha, en gris). Las líneas punteadas verticales indican el momento de entrada al puerto.

Durante los eventos de entrada al puerto ocurridos en el período posterior al tono, es decir, cuando el animal dispone de la recompensa, como ocurre en los ensayos CS+, se observaron dos patrones oscilatorios distintos (Fig. 46B). En las entradas post CS+, la dinámica oscilatoria se caracterizó por

un aumento pronunciado en la potencia de las bandas de 4-Hz, beta y gamma lento, acompañado por una disminución de la potencia en gamma rápido en las tres regiones analizadas. Este patrón coincidió temporalmente con un pico en la probabilidad de estar dentro del puerto y una caída abrupta de la aceleración, lo que apoya la hipótesis que esta señal estaría relacionada con el momento de consumo de la recompensa. En cambio, las entradas post CS- mostraron un perfil oscilatorio similar al registrado durante las entradas al puerto durante los CS, reforzando la idea de que este perfil oscilatorio reflejaría este estado de expectativa motivacional ante la decisión de entrar al puerto, pero no encontrando una recompensa. Si bien las entradas al puerto asociadas al CS- ocurren con menor frecuencia que las asociadas al CS+ (ver **R.3.1-2**), cuando el animal ingresa al puerto, independientemente del contexto que haya motivado esa decisión, la expectativa de obtener la recompensa debería ser similar. Esto explicaría por qué, en estas entradas sin entrega de recompensa, se observa un patrón oscilatorio común.

En las tres regiones, la comparación entre post CS+ y post CS- mostró diferencias similares en todas las bandas analizadas (**Fig. 47J-L**; todos: $p < 0,001$), donde solo algunas de ellas presentaron tamaños del efecto relevantes (ver en **Fig. 47J-L**). En la banda de 4-Hz, se observaron diferencias significativas de efecto pequeño entre las entradas al puerto post CS+ y post CS- en la BLA y el IL (ambos: $p < 0,001$, $d < -0,37$), con un aumento de la potencia durante el post CS+ sobre la línea de base (ambos: $p < 0,001$, $d > 0,32$). En la banda beta, se observaron diferencias significativas entre las entradas al puerto post CS+ y post CS- en las tres regiones analizadas (todos: $p < 0,001$, $d < -0,20$), con un aumento de la potencia en el grupo post CS+ sobre la línea de base (todos: $p < 0,001$, $d > 0,54$) y una disminución en el post CS- (todos: $p < 0,001$, $d < -0,25$). Por otro lado, en la banda de gamma lento, la diferencia entre ambos grupos fue significativa y de efecto considerable únicamente en el IL ($F_{(1,3682)} = 201,09$, $p < 0,001$, $d = -0,23$), con un aumento de la potencia en el grupo post CS+ ($z = 20,15$, $p < 0,001$, $d = 0,30$). Finalmente, en la banda de gamma rápido, se observaron diferencias significativas en las tres regiones analizadas (todos: $p < 0,001$, $d > 0,46$), con una disminución de la potencia en el grupo post CS+ con respecto a la línea de base (todos: $p < 0,001$, $d < -0,62$) y un aumento en el grupo post CS- (todos: $p < 0,001$, $d > 0,48$). En conjunto, estos resultados confirman que los patrones de actividad oscilatoria observados se expresan de manera consistente en la BLA, el PL y el IL y podrían estar reflejando dos estados funcionales distintos: por un lado, una señal de expectativa generalizada ante la posible entrega de una recompensa, y por otro, una señal más específica vinculada al momento del consumo de esa recompensa.

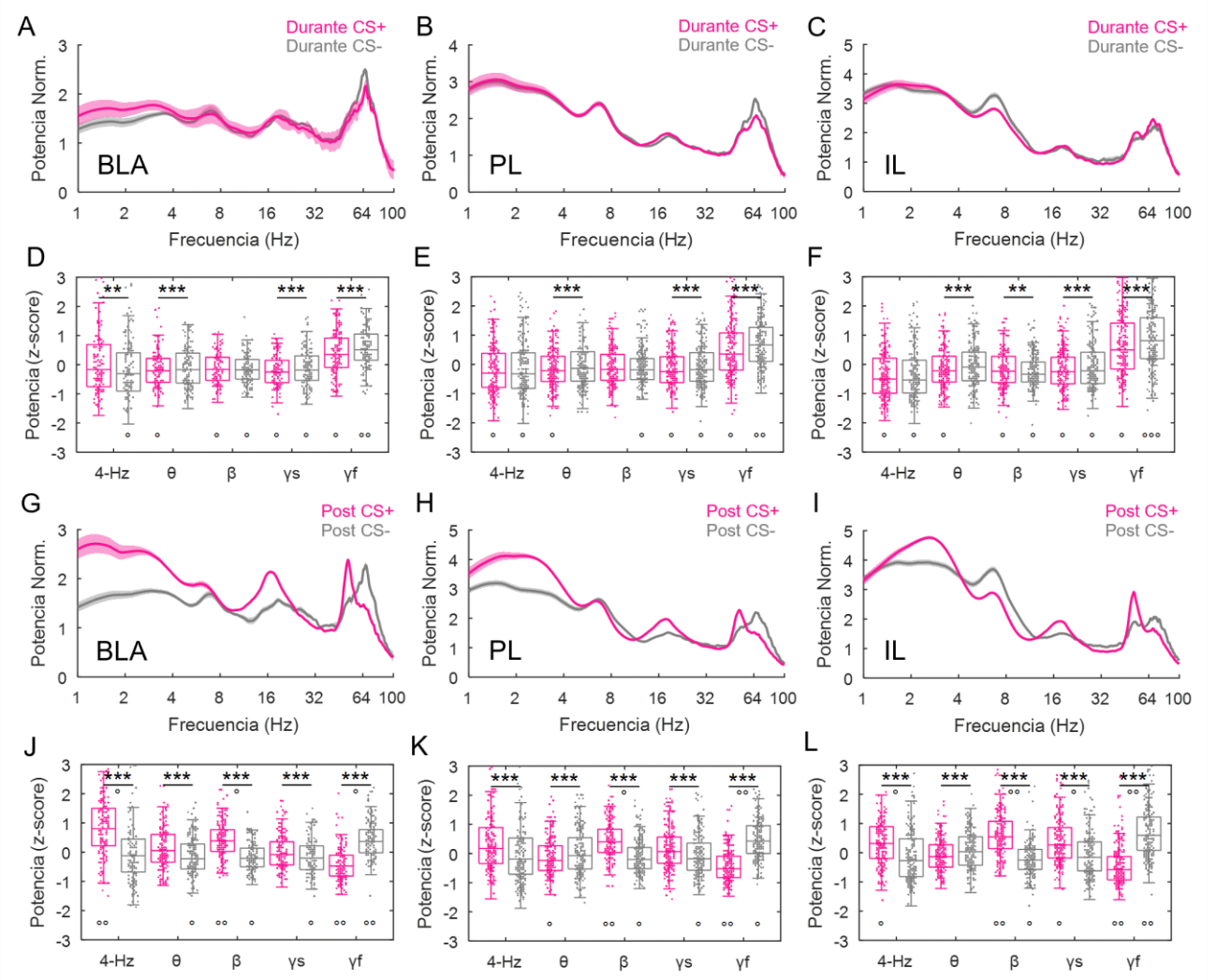


Figura 47. Análisis espectral y cuantificación de la potencia oscilatoria durante los eventos de entrada al puerto. **A-C**. Espectros de potencia (PSD) promedio por región cerebral para eventos de entrada al puerto ocurridos durante los tonos CS+ (rosa) y CS- (gris), representando la potencia normalizada en función de la frecuencia en escala logarítmica. **D-F**. Cuantificación de la potencia oscilatoria en distintas bandas de frecuencia (4-Hz, θ: theta; β: beta; γs: gamma lento; γf: gamma rápido) por región cerebral, comparando la actividad durante el CS+ y el CS-. **G-I**. PSD promedio para eventos de entrada al puerto ocurridos en el período post CS+ (rosa) y post CS- (gris). **J-L**. Cuantificación de la potencia oscilatoria por banda de frecuencia durante los eventos de entrada al puerto post CS, en cada región analizada. En los PSD, las líneas indican la mediana y las áreas sombreadas el desvío absoluto de la mediana (MAD). Los boxplots muestran la mediana (línea horizontal), el rango intercuartílico (caja) y los percentiles 10 y 90 (extremos de los bigotes). Los valores individuales se representan como puntos superpuestos. Los asteriscos en la parte superior de cada comparación indican diferencias significativas entre condiciones (CS+ vs CS-), mientras que los círculos (°) indican tamaños del efecto significativos entre condiciones. Los círculos (°) en la parte inferior indican tamaños del efecto significativos respecto a la línea de base. (p-valor: p < 0,01: **; p < 0,001: ***; tamaño del efecto: d > 0,2: °; d > 0,5: °°; d > 0,8: °°°; $N_{Durante\ CS+}$ = 2934, $N_{Durante\ CS-}$ = 1965, $N_{Post\ CS+}$ = 2226, $N_{Post\ CS-}$ = 1456).

En la *Extinción 1 Temprana*, correspondiente al momento de testeo de la memoria apetitiva, los eventos de entrada al puerto ocurridos durante el CS+ y post CS+ mostraron un patrón de actividad muy similar entre si (Fig. 48). La comparación entre condiciones en las distintas bandas frecuenciales no mostró diferencias significativas con un tamaño del efecto considerable (Fig. 48B-D; todos: p > 0,05, |d| < 0,17), lo que sugiere que la dinámica oscilatoria fue prácticamente indistinguible entre ambas condiciones en las tres regiones. Este patrón replicó lo observado previamente en la misma fase cuando se analizó la actividad oscilatoria durante los tonos (ver Fig. 45B), así como durante las entradas al puerto durante los CS en el *Entrenamiento Tardío* (ver Fig. 46A y 47A-F). En conjunto,

estos resultados refuerzan la interpretación de que el patrón oscilatorio caracterizado por un aumento en la potencia de gamma rápido, acompañado por una supresión de otras bandas, constituye un marcador general de expectativa motivacional vinculada al comportamiento dirigido hacia la recompensa, como la entrada al puerto en un contexto de anticipación, pero en ausencia de la recompensa.

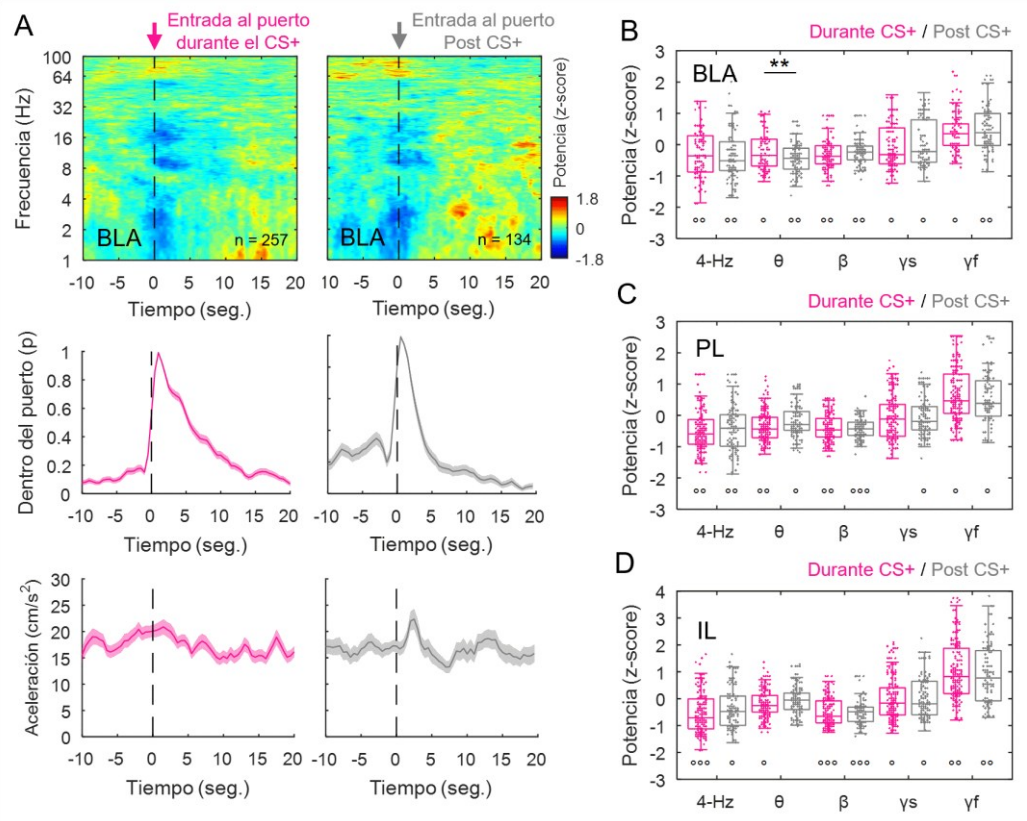


Figura 48. Dinámica oscilatoria y cuantificación de la potencia durante los eventos de entrada al puerto en la *Extinción 1 Temprana*. A. Espectrogramas promedio de la potencia oscilatoria (expresada en z-score) en la BLA alineados a los eventos de entrada al puerto ocurridos durante el tono CS+ (izquierda, en rosa) y en el período post CS+ (derecha, en gris). Se indica el número de eventos incluidos (n). Debajo, se muestra la probabilidad promedio de estar dentro del puerto y la aceleración promedio de los animales, alineadas al mismo evento. **B-D**. Cuantificación de la potencia oscilatoria en distintas bandas de frecuencia (4-Hz, θ: theta; β: beta; γs: gamma lento; γf: gamma rápido) en BLA (B), PL (C) e IL (D), comparando la actividad durante entradas al puerto ocurridas durante el CS+ (rosa) y post CS+ (gris). Los boxplots muestran la mediana (línea horizontal), el rango intercuartílico (caja) y los percentiles 10 y 90 (extremos de los bigotes). Los valores individuales se representan como puntos superpuestos. Los asteriscos en la parte superior de cada comparación indican diferencias significativas entre condiciones (Durante CS+ vs Post CS+), mientras que los círculos (°) indican tamaños del efecto significativos entre condiciones (arriba) o respecto a la línea de base (abajo). (p-valor: p< 0,01: **; tamaño del efecto: d > 0,2: °; d > 0,5: °°; d > 0,8: °°°; $N_{Durante\ CS+}$ = 257, $N_{Post\ CS+}$ = 134).

Con el objetivo de evaluar si la dinámica oscilatoria asociada a los eventos de entrada al puerto se reorganiza durante la transición del *Entrenamiento* a la *Extinción* de la memoria apetitiva, se comparó la potencia en distintas bandas de frecuencia durante estos eventos ocurridos específicamente durante la presentación del CS+ (Fig. 49). La potencia en la banda de 4-Hz mostró una modulación significativa entre fases en la BLA y el PL (BLA: $F_{(2,316)}$ = 6,09, p = 0,003, d = 0,20; PL: $F_{(2,449)}$ = 3,15, p = 0,04, d = 0,12). De manera similar, en el PL (Fig. 49B) también se observó una modulación significativa de la potencia en la banda theta entre fases ($F_{(2,449)}$ = 10,32, p < 0,001, d = 0,21), con una caída que se mantuvo durante la *Extinción 1* (ambos: p < 0,002, d < -0,44). En la banda beta, se

observó una modulación significativa de la potencia entre fases en el PL y el IL (Fig. 49B-C; ambos: $p < 0,001$, $d > 0,23$), disminuyendo en la *Extinción 1* (ambos: $p < 0,001$, $d < -0,59$). En contraste, en las tres regiones analizadas se observó una diferencia significativa de la potencia en la banda de gamma lento (Fig. 49A-C; todos: $p < 0,001$, $d > 0,34$), con un aumento durante la *Extinción 1* (todos: $p < 0,001$, $d > 0,57$). En la banda de gamma rápido también se observó una diferencia significativa de la potencia entre fases en el PL y el IL (Fig. 49B-C; ambos $p < 0,001$, $d > 0,29$), con un durante la *Extinción 1* (todos: $p < 0,01$, $d > 0,39$). A partir de estos resultados, realizamos un análisis complementario para estudiar la dinámica oscilatoria durante los eventos de entrada al puerto posteriores a la presentación del CS+.

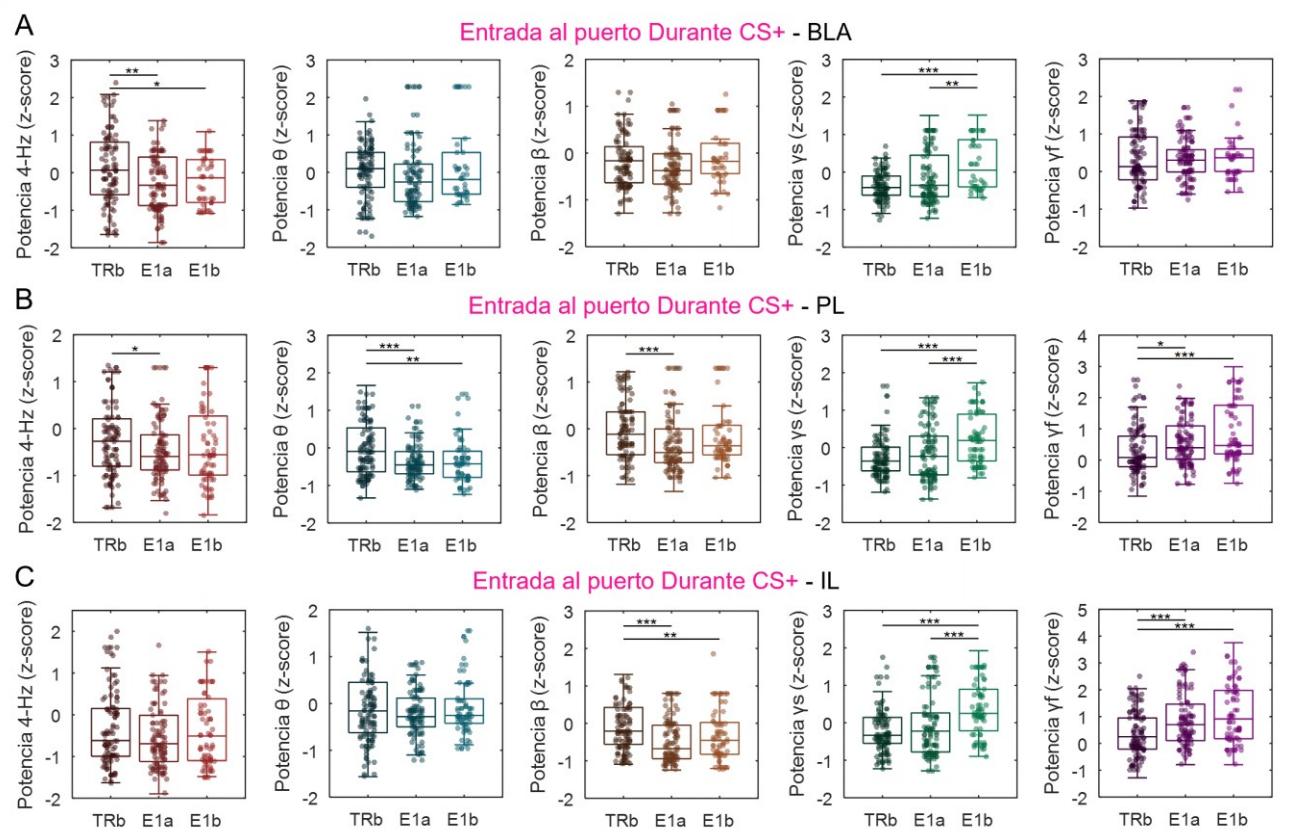


Figura 49. Evolución de la potencia oscilatoria durante eventos de entrada al puerto ocurridos durante el CS+ a lo largo del *Entrenamiento Tardío* y la *Extinción 1*. A-C. Comparación de la potencia oscilatoria (expresada en z-score) en las distintas bandas de frecuencia (4-Hz, θ: theta; β: beta; γs: gamma lento; γf: gamma rápido) durante eventos de entrada al puerto durante el CS+, en BLA (A), PL (B) e IL (C), entre las fases de *Entrenamiento Tardío* (TRb), *Extinción 1 Temprana* (E1a) y *Extinción 1 Tardía* (E1b). ($p < 0,05$: *; $p < 0,01$: **; $p < 0,001$: ***; $N_{TRb} = 187$, $N_{E1a} = 190$, $N_{E1b} = 72$).

Durante los eventos de entrada al puerto ocurridos luego del CS+, se observó también una reorganización sistemática de la dinámica oscilatoria a lo largo de las distintas fases de la tarea, reflejando una transición desde un estado de consumo de la recompensa hacia uno dominado por la expectativa no cumplida (Fig. 50). La potencia en la banda de 4-Hz mostró una modulación significativa entre fases en la BLA, el PL y el IL (todos: $p < 0,001$, $d > 0,20$). En la BLA, la caída fue significativa entre el *Entrenamiento Tardío* y ambas fases de la *Extinción 1* (ambos: $p < 0,001$, $d < -1,41$), mientras que en el PL y el IL también se observaron disminuciones de la potencia (todos: $p < 0,008$, $d < -0,92$). En theta, se registraron modulaciones significativas en la BLA y el PL (ambos: $p < 0,014$, $d > 0,23$), pero no en el IL ($p = 0,06$, $d = 0,13$). En la BLA, se observó una disminución de la potencia entre el *Entrenamiento Tardío* y la *Extinción 1* ($F_{(1,152)} = 28,45$, $p < 0,001$, $d = -1,09$), pero un

aumento entre ambas fases de la *Extinción 1* ($F_{(1,140)}$ = 13,24, p = 0,001, d = 0,18). Mientras que, en el PL, la potencia theta también aumentó entre ambas fases de la *Extinción 1* ($F_{(1,140)}$ = 8,62, p = 0,011, d = 0,61). La banda beta también mostró una modulación clara entre fases en las tres regiones (todos: p < 0,001, d > 0,26). La potencia disminuyó entre el *Entrenamiento Tardío* y ambas fases de la *Extinción 1* en todas las regiones (todos: p < 0,001, d < -1,31). En gamma lento, también se observaron modulaciones significativas en las tres regiones (todos: p < 0,001, d > 0,21). La potencia disminuyó entre el *Entrenamiento Tardío* y la *Extinción 1* (todos: p < 0,012, d < -0,56), y luego aumentó significativamente entre ambas fases de la *Extinción 1* (todos: p < 0,001, d > 0,85). Finalmente, la banda de gamma rápido mostró un patrón de aumento progresivo a lo largo de la *Extinción 1*, con modulaciones significativas en las tres regiones (todos: p < 0,001, d > 0,41). Este aumento fue significativo desde el *Entrenamiento Tardío* hacia ambas fases de la *Extinción 1* (todos: p < 0,001, d > 1,78). En conjunto, estos resultados muestran que la dinámica oscilatoria luego del CS+ también se reorganiza a lo largo de la extinción.

La disminución de la potencia observada en las bandas de 4-Hz, theta y beta, junto con el aumento en gamma rápido, parecería soportar la idea de una expectativa creciente no resuelta. Durante el *Entrenamiento*, estas oscilaciones reflejan un estado de anticipación frente a un estímulo que predice el refuerzo, mientras que, en la *Extinción*, al no haber recompensa, esa misma expectativa podría intensificarse, expresándose como una mayor activación motivacional en los momentos que el animal decide entrar al puerto, independientemente de si esas entradas se dan de manera temprana o tardía en la sesión de extinción. En cambio, el patrón de la banda de gamma lento podría sugerir un proceso distinto, más estrechamente ligado al error de predicción. Durante el CS+ en el *Entrenamiento* y en la *Extinción 1 Temprana*, cuando la expectativa es alta pero la recompensa no llega, la disminución de gamma lento posiblemente señala ese desajuste entre lo esperado y lo recibido y por lo tanto la falta de cumplimiento de la expectativa (**Fig. 49**). Sin embargo, hacia la fase tardía de la extinción, cuando el animal ya ha actualizado el valor del CS+ y no espera el refuerzo, la potencia aumenta, lo que indicaría un cumplimiento de la expectativa y una reducción del error de predicción. De manera consistente, durante el periodo posterior al CS+, los mismos mecanismos parecen ponerse en juego en función de la presencia o ausencia de la recompensa (**Fig. 50**). En el *Entrenamiento*, este momento coincide con la entrega del refuerzo, cumpliéndose la expectativa y, por lo tanto, sin generar error de predicción. En las etapas tempranas de la extinción, en cambio, el animal aún espera la recompensa tras el CS+, pero esta ya no está presente, generando un fuerte error de predicción que se refleja en los patrones oscilatorios como una falta de cumplimiento de la expectativa, particularmente con la disminución de gamma lento. Finalmente, en la fase tardía de la extinción, cuando la asociación ya ha sido actualizada y el animal no espera recompensa tras el CS+, la ausencia de refuerzo ya no constituye un error, y gamma lento vuelve a los niveles que tenía durante el *Entrenamiento*. En conjunto, estos patrones reflejan la transición de un estado dominado por la expectativa de la recompensa y el error de predicción hacia uno en el que se consolida activamente una nueva asociación de la falta de contingencia entre el CS+ y el US, con una reorganización funcional del circuito BLA-mPFC que subyace al proceso de extinción de memorias apetitivas.

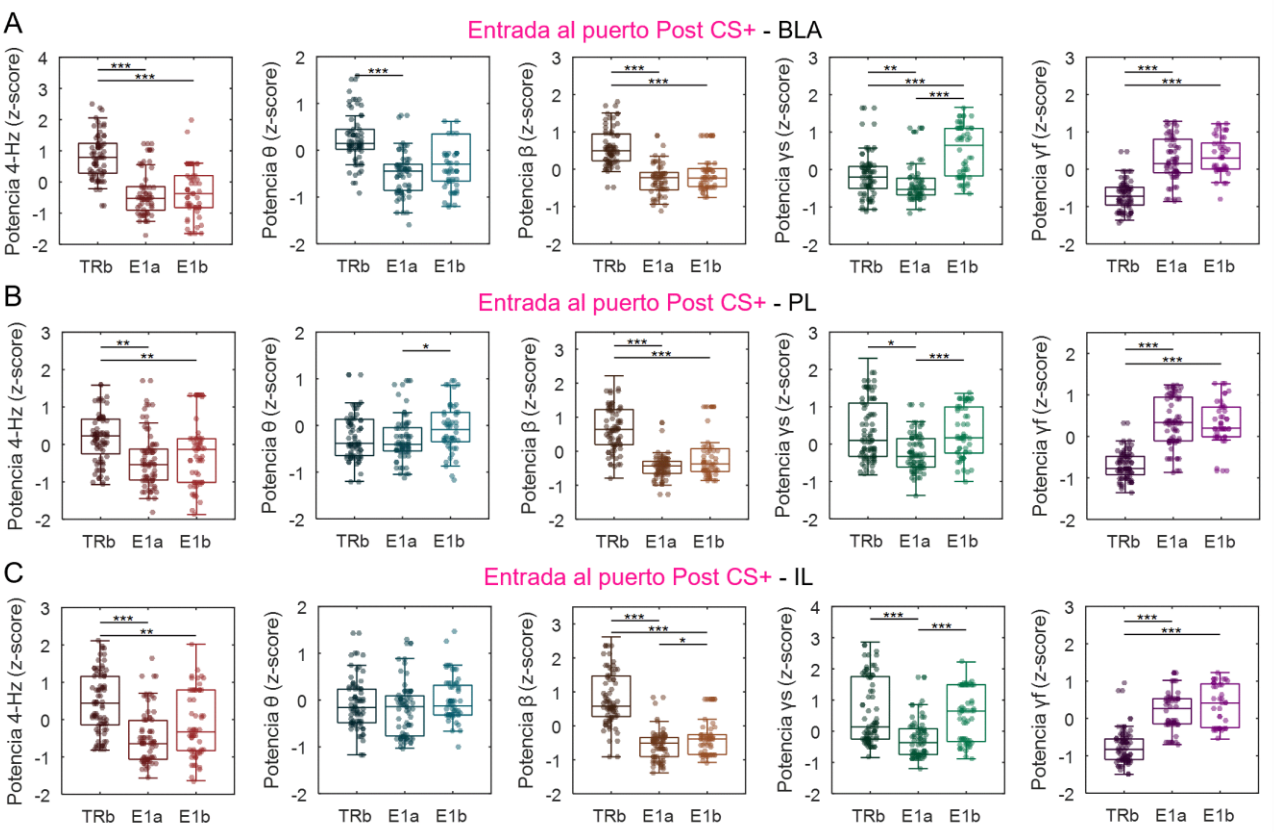


Figura 50. Evolución de la potencia oscilatoria durante eventos de entrada al puerto ocurridos en el período post CS+ a lo largo del *Entrenamiento Tardío* y la *Extinción 1*. A-C. Comparación de la potencia oscilatoria (expresada en z-score) en las distintas bandas de frecuencia (4-Hz, θ: theta; β: beta; γs: gamma lento; γf: gamma rápido) durante eventos de entrada al puerto post CS+, en BLA (A), PL (B) e IL (C), entre las fases de *Entrenamiento Tardío* (TRb), *Extinción 1 Temprana* (E1a) y *Extinción 1 Tardía* (E1b). ($p < 0,05$: *; $p < 0,01$: **; $p < 0,001$: ***; $N_{TRB} = 77$, $N_{E1A} = 75$, $N_{E1B} = 65$).

Si bien los análisis previos sugieren que la actividad oscilatoria observada durante las entradas al puerto en ausencia de recompensa refleja procesos asociados a la expectativa del refuerzo, cabe la posibilidad de que estas señales estén determinadas simplemente por la actividad motora. Dado que el ingreso al puerto implica movimiento, resulta necesario descartar que las diferencias oscilatorias observadas se deban únicamente a este factor. Para ello, se analizó la dinámica oscilatoria durante los episodios de movimiento espontáneos, que ocurren fuera del puerto sin intención aparente, comparándolos con movimientos dirigidos al puerto (**Fig. 51**). Los espectrogramas alineados al inicio del movimiento muestran que ambos tipos de eventos generan perfiles oscilatorios diferentes en las tres regiones analizadas (**Fig. 51A**).

El patrón oscilatorio difirió significativamente entre ambos tipos de movimiento, con diferencias claras en varias bandas de frecuencia (**Fig. 51B-E**). En la banda de 4-Hz y de theta, se observaron diferencias significativas, pero de efectos marginales entre los dos tipos de movimiento en la BLA y el IL (todos: $p < 0,001$, $d < -0,07$), particularmente con una disminución significativa de la potencia de 4-Hz en la BLA durante el movimiento dirigido al puerto con respecto a la línea de base ($z = -4,87$, $p < 0,001$, $d = -0,22$), y un aumento de la potencia de theta durante el movimiento espontáneo en ambas regiones (ambos: $p < 0,001$, $d > 0,21$). La banda beta mostró diferencias significativas entre condiciones en las tres regiones analizadas (todos: $p < 0,001$, $d = 0,09$), aunque solo en la BLA el tamaño del efecto alcanzó un valor considerable y pequeño (BLA: $F_{(1,2767)} = 179,64$, $p < 0,001$, $d = -0,25$). Además, en las tres regiones se observó una disminución significativa de la potencia de beta durante el movimiento dirigido al puerto con respecto a la línea de base (todos: $p < 0,001$, $d < -0,23$).

En contraste, gamma rápido no presentó diferencias significativas entre los tipos de movimiento en ninguna región (todos: $p > 0,14$, $d < 0,05$), aunque sí aumentó de forma significativa en ambos grupos (todos: $p < 0,001$, $d > 0,57$). La diferencia más marcada se dio en gamma lento, donde el movimiento espontáneo tuvo una mayor potencia que el movimiento dirigido al puerto en todas las regiones (todos: $p < 0,001$, $d < -0,23$). Esta diferencia se debió efectivamente a un aumento significativo de la potencia durante el movimiento espontáneo (todos: $p < 0,001$, $d > 0,24$). En el PL, además, la potencia de gamma lento disminuyó durante el movimiento dirigido ($z = -4,91$, $p < 0,001$, $d = -0,23$).

Estos resultados muestran que el movimiento dirigido al puerto no es equivalente al movimiento espontáneo en términos de su patrón oscilatorio. El aumento de gamma rápido por sí solo no define el estado de expectativa, ya que también se observa durante el movimiento espontáneo. En cambio, el patrón asociado a la expectativa de recompensa se caracteriza por una combinación específica: disminución de la potencia en 4-Hz, beta y gamma lento, junto con un aumento de gamma rápido. Este perfil difiere claramente del observado durante el movimiento espontáneo, donde predominan los aumentos en theta y gamma rápido. Así, es la configuración conjunta de estas modulaciones, y no una sola banda en particular, lo que distingue funcionalmente este estado de expectativa.

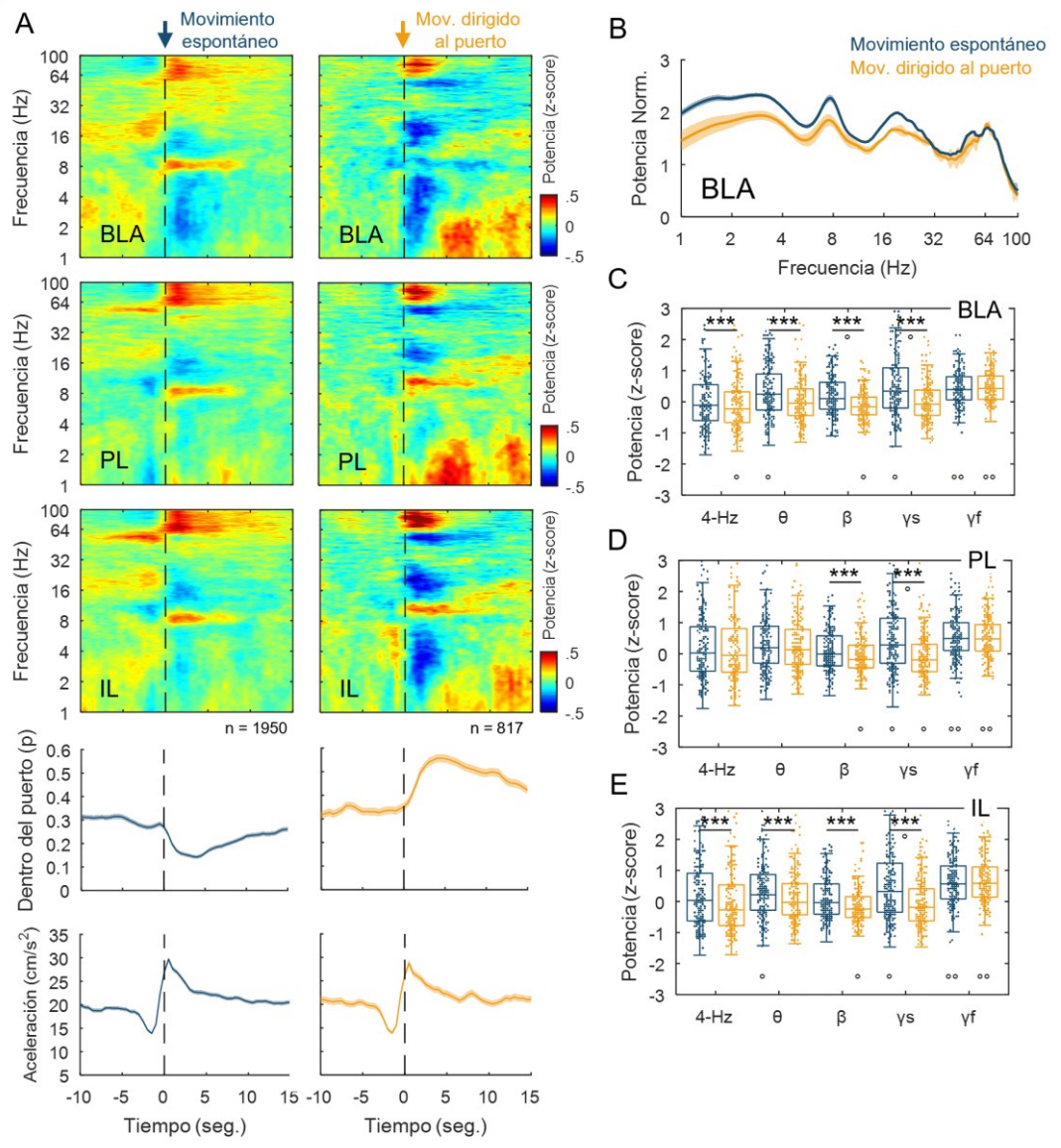


Figura 51. Patrones oscilatorios durante movimientos espontáneos y dirigidos al puerto. A. Espectrogramas promedio de la potencia oscilatoria (expresada en z-score) en BLA (arriba), PL (medio) e IL (abajo), alineados al inicio de eventos de movimiento espontáneo que ocurren fuera del puerto (izquierda, en azul) o de movimiento dirigido al puerto (derecha, en naranja). Se indica el número de eventos incluidos (n). Debajo se muestra la probabilidad promedio de estar dentro del puerto y la aceleración promedio de los animales, alineadas al mismo evento. **B**. Espectros de potencia (PSD) promedio en BLA para ambos eventos. Las líneas indican la mediana y las áreas sombreadas el desvío absoluto de la mediana (MAD). **C-E**. Comparación de la potencia oscilatoria (expresada en z-score) en distintas bandas de frecuencia (4-Hz, θ: theta; β: beta; γs: gamma lento; γf: gamma rápido) durante los eventos de movimiento en BLA (C), PL (D) e IL (E). Los boxplots muestran la mediana (línea horizontal), el rango intercuartílico (caja) y los percentiles 10 y 90 (extremos de los bigotes). Los valores individuales se representan como puntos superpuestos. (p-valor: p< 0,001: ***; tamaño del efecto: d > 0,2: °; d > 0,5: °°; $N_{Mov.Esp}$ = 1950, $N_{Mov.Dir}$ = 817).

En conjunto, estos resultados sugieren que la dinámica oscilatoria en la BLA, el PL y el IL se reorganiza sistemáticamente a lo largo del *Entrenamiento* y la *Extinción* de memorias apetitivas, estructurándose en torno a los eventos de entrada al puerto. La red BLA-mPFC presenta una organización funcional que acompaña tanto la adquisición como la extinción de la respuesta condicionada, ajustando su perfil oscilatorio en función de la expectativa de recompensa y el cumplimiento de esta. El patrón oscilatorio de aumento de la potencia de gamma rápido y disminución de las otras bandas representaría un estado de expectativa motivacional, presente tanto durante las entradas al puerto ante la presentación de los CS como en los movimientos dirigidos al puerto. Por otro lado, el canal de información que involucra a las bandas de 4-Hz, beta y gamma lento, muestra modulaciones más específicas, que parecen codificar información relacionada con el consumo de la recompensa y el cumplimiento de la expectativa del animal. Esta modulación distribuida a lo largo de la red sugiere que el sistema oscilatorio participa activamente tanto en la representación del valor aprendido como en su actualización.

R.4.2. Dinámica de la interacción entre la BLA y la mPFC durante la evocación y extinción de la memoria apetitiva

A diferencia de lo que ocurre con las memorias aversivas, donde se ha caracterizado extensamente la dinámica oscilatoria entre la BLA y la mPFC, los mecanismos de interacción entre estas regiones durante la evocación y extinción de memorias apetitivas han sido muy poco explorados. Aunque se ha demostrado que la BLA se sincroniza con regiones como el núcleo accumbens (NAc) o las cortezas rinales durante el aprendizaje asociado a recompensas (Bauer et al., 2007; Popescu et al., 2009; Hsu et al., 2020), aún se desconoce cómo se organiza funcionalmente su interacción con las subregiones de la mPFC: el PL y el IL. La BLA cumple un rol clave en la codificación y actualización flexible del valor de los estímulos según el estado interno del animal (Wassum e Izquierdo, 2015; Malvaez et al., 2019), y se ha propuesto que este procesamiento se apoya en patrones oscilatorios rítmicos que vinculan funcionalmente a la BLA con regiones como la corteza orbitofrontal y el NAc (Janak y Tye, 2015; Koloski et al., 2022; Amaya et al., 2024).

Algunos estudios han demostrado que la coherencia en las bandas gamma y theta, así como el acoplamiento de fase, actúan como mecanismos de sincronización interregional durante el aprendizaje de asociaciones apetitivas. Por ejemplo, la coherencia theta entre la BLA y el NAc aumenta ante la presentación de un estímulo asociado a una recompensa y desaparece con la extinción (Hsu et al., 2020), mientras que el acoplamiento de fase en gamma alto potencia la sincronización entre subpoblaciones neuronales, especialmente en proyecciones desde la BLA hacia la mPFC (Amir et al., 2018). Además, en tareas relacionadas con una recompensa se ha reportado una mayor coherencia de gamma entre la BLA y el estriado ventral (Popescu et al., 2009), o entre la BLA y las cortezas rinales (Bauer et al., 2007) durante la anticipación de recompensas, lo cual podría reflejar un mecanismo general por el cual la BLA impone un ritmo que sincroniza la actividad de otras

regiones para facilitar la formación de asociaciones relevantes. Dado que en el paradigma aversivo observamos que la sincronización entre la BLA y la mPFC se reconfigura según el valor del estímulo, el estado conductual del animal y el proceso de extinción de la memoria, en esta sección no propusimos caracterizar estos mecanismos en el contexto del aprendizaje apetitivo y analizar de forma comparativa con lo observado durante la memoria aversiva, analizando la direccionalidad funcional (mediante la causalidad de Granger), la coherencia espectral y el acoplamiento de fase entre la BLA y el PL o el IL durante eventos de entrada al puerto asociados al CS+, al CS- y al periodo post CS. Esta aproximación, similar a la implementada en el paradigma aversivo (ver **R.2.7**), no solo permite explorar cómo se reconfigura dinámicamente el circuito BLA-mPFC según el valor aprendido del estímulo y el estado comportamental del animal, sino que también ofrece una herramienta para caracterizar los mecanismos de sincronización específicos para cada subregión prefrontal, revelando posibles roles diferenciados del PL y el IL en la evocación y extinción de memorias apetitivas.

La direccionalidad del flujo de información entre regiones varió en función del estado comportamental y de la fase de la tarea, con periodos en los que una región ejerció un control predominante sobre la otra, y momentos en los que esta relación se invirtió. En particular, y también como se mostró anteriormente, durante los eventos de entrada al puerto post CS+ en el *Entrenamiento*, se registró una oscilación en la banda de 4-Hz en las tres regiones analizadas (**Fig. 52A**; ver también **Fig. 46B**), mostrando una fuerte sincronización entre la BLA, el PL y el IL. Las frecuencias dominantes durante los eventos de entrada al puerto en CS+, CS- y post CS+ fueron determinadas a partir de los análisis previos y del espectro cruzado (**Fig. 52B**), y sirvieron como base para los análisis de direccionalidad funcional incluidos en esta sección. El análisis de causalidad de Granger mostró una direccionalidad significativa, pero de efecto marginal, en la banda theta desde el PL hacia la BLA para las entradas al puerto durante los CS en el *Entrenamiento Tardío* (**Fig. 52C-E,** ambos: $p < 0,005$, $d > 0,06$), volviéndose bidireccional a partir de la *Extinción 1 Temprana* (todos: $p > 0,24$, $d < 0,20$). En la banda de gamma rápido, en cambio, se observó una direccionalidad desde la BLA hacia el PL (ambos: $p < 0,001$, $d > 0,22$) y desde el IL hacia la BLA (ambos: $p < 0,001$, $d > 0,80$) durante el *Entrenamiento*. Con la *Extinción*, la interacción entre la BLA y el PL se volvió bidireccional (ambos: $p > 0,56$, $d < 0,08$), mientras que la dirección IL → BLA se mantuvo a lo largo de todas las fases (todos: $p < 0,001$, $d > 0,38$). Durante las entradas al puerto post CS+ en el *Entrenamiento Tardío* (**Fig. 52F-G**), se observó una direccionalidad significativa, pero de efecto marginal, en la banda de 4-Hz desde el PL hacia la BLA ($F_{(1,2284)} = 6.50$, $p = 0,011$, $d = 0,01$), y una diferencia significativa de efecto moderado desde el IL hacia la BLA ($F_{(1,2284)} = 307.29$, $p < 0,001$, $d = 0,59$). En la banda beta se observó una direccionalidad desde el PL hacia la BLA ($F_{(1,2284)} = 18.28$, $p < 0,001$, $d = 0,03$) y desde la BLA hacia el IL ($F_{(1,2284)} = 78,54$, $p < 0,001$, $d = -0,05$), aunque en ambos casos con tamaños de efecto marginales. En cuanto a la banda de gamma lento, se observó un flujo significativo desde la BLA hacia el PL ($F_{(1,2284)} = 10,93$, $p = 0,001$, $d = -0,17$) y desde el IL hacia la BLA ($F_{(1,2284)} = 165.67$, $p < 0,001$, $d = 0,15$), aunque de efectos marginales. A partir de la *Extinción 1 Temprana*, las entradas al puerto post CS+ estuvieron dominadas por oscilaciones en las bandas de theta y gamma rápido. Por este motivo, el análisis de direccionalidad durante la *Extinción 1 y 2* se centró en dichas bandas, representativas del nuevo estado oscilatorio del sistema. Tanto en la banda de theta como en gamma rápido se observó una bidireccionalidad entre la BLA y el PL (todos: $p > 0,17$, $d < 0,11$), así como una bidireccionalidad entre la BLA y el IL en la banda de theta (todos: $p > 0,05$, $d < 0,12$). En la banda de gamma rápido, en cambio, la direccionalidad fue principalmente desde el IL hacia la BLA (todos: $p < 0,001$, $d > 0,89$), manteniendo la misma direccionalidad que tenía gamma lento durante el *Entrenamiento Tardío*.

En conjunto, estos resultados muestran que la direccionalidad en el flujo de información entre la BLA y las subregiones de la mPFC varía de manera sistemática según la frecuencia oscilatoria, el estado comportamental del animal y el momento de la tarea. Durante el *Entrenamiento*, las interacciones mostraron patrones definidos de control descendente (PL → BLA en 4-Hz, theta y beta) y de retroalimentación desde la BLA (BLA → PL en ambos gamma), junto con un marcado flujo desde el

IL hacia la BLA en múltiples bandas. Sin embargo, muchas de estas direccionalidades comenzaron a diluirse ya en la *Extinción 1 Temprana*, momento de testeo de la memoria apetitiva. Este cambio temprano en la direccionalidad podría reflejar una rápida reevaluación del valor del estímulo ante la ausencia de recompensa, o bien una reorganización anticipada del circuito BLA-mPFC que facilite la transición hacia el aprendizaje de extinción.

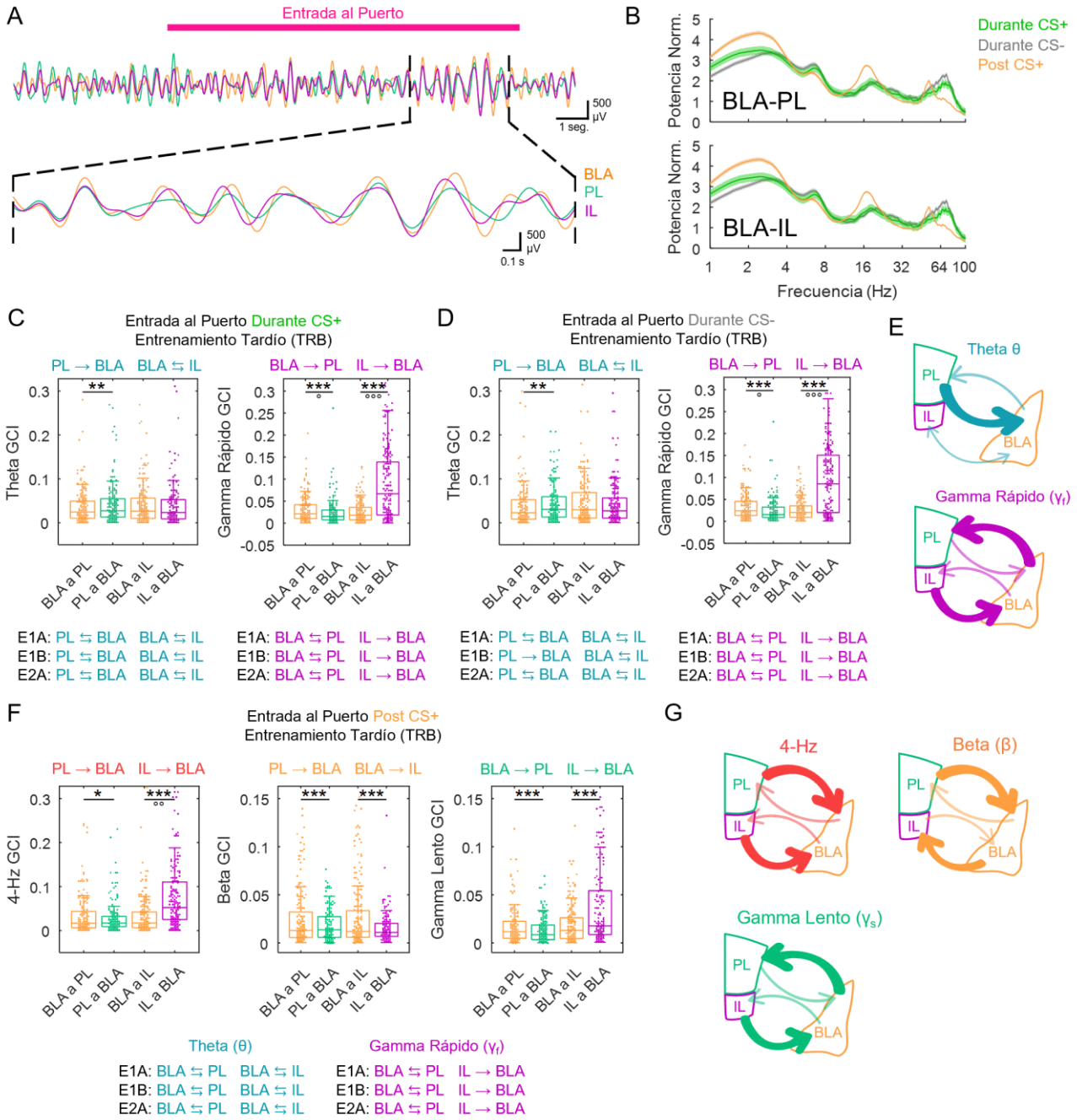


Figura 52. Direccionalidad funcional entre la BLA, el PL y el IL durante la evocación y extinción de la memoria apetitiva. A. Señales de LFP filtradas en la banda de 4-Hz y registradas simultáneamente en BLA (naranja), PL (verde) e IL (violeta) durante eventos de entrada al puerto en el post CS+, en un animal representativo. Abajo se muestra un segmento ampliado. **B**. Espectros de potencia cruzados y normalizados entre BLA-PL (arriba) y BLA-IL (abajo) en los eventos de entrada al puerto durante CS+ (verde), durante CS– (gris) y post CS+ (naranja). **C-D**. Índice de causalidad de Granger (GCI) entre pares de regiones para la banda theta (izquierda) y gamma rápido (derecha) durante eventos de entrada al puerto en CS+ (C) y CS– (D). **E**. Resumen esquemático que indica las direcciones predominantes de acoplamiento en cada

banda, con líneas más gruesas indicando direccionalidad significativa. **F**. GCI en bandas de 4-Hz (izquierda), beta (centro) y gamma lento (derecha) durante eventos de entrada al puerto post CS+. Abajo: GCI en bandas theta (izquierda) y gamma rápido (derecha). **G**. Resumen esquemático de la direccionalidad predominante observada para cada banda durante eventos post CS+. En cada gráfico se indican los resultados correspondientes al *Entrenamiento Tardío* (TRB) y debajo, el resultado para otras fases de la tarea (E1A, E1B y E2A). (*p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001; tamaño del efecto: d > 0,2: °; d > 0,5: °°; d > 0,8: °°°; $N_{Durante\ CS+}$ = 3408, $N_{Durante\ CS-}$ = 1700, $N_{Post\ CS+}$ = 2284).

Luego del análisis de direccionalidad de información, se evaluaron la coherencia espectral y el acoplamiento de fase (PLV) como métricas que permiten caracterizar la sincronización entre regiones tanto en términos de coincidencia en potencia oscilatoria como de alineamiento preciso de fases. Dado que no se observaron diferencias sistemáticas en estos parámetros entre las distintas fases, los datos fueron agrupados para facilitar la comparación. Por lo tanto, el análisis se focalizó en los distintos eventos de entrada al puerto de forma generalizada, tal como se hizo previamente en el paradigma aversivo. Durante las entradas al puerto en el CS+ y en el CS- (**Fig. 53A-B**), la coherencia de theta fue similar entre BLA-PL y BLA-IL, con una diferencia significativa, pero de efecto marginal en el CS+ ($F_{(1,2520)}$ = 15,91, p < 0,001, d = -0,08) y sin diferencias en el CS- ($F_{(1,1242)}$ = 3,39, p = 0,07, d = -0,05). El PLV de theta fue mayor para el par BLA-IL en ambas condiciones (CS+: $F_{(1,1574)}$ = 80,70, p < 0,001, d = 0,21; CS-: $F_{(1,798)}$ = 52,15, p < 0,001, d = 0,26), lo que indica un acoplamiento de fase más preciso de BLA con el IL. En la banda de gamma rápido, la coherencia fue similar entre regiones (ambos: p > 0,24, d < 0,08), mientras que el PLV fue también significativamente mayor para BLA-IL (CS+: $F_{(1,1574)}$ = 60,51, p < 0,001, d = 0,20; CS-: $F_{(1,798)}$ = 63,36, p < 0,001, d = 0,28). Por otro lado, en las entradas al puerto post CS+ (**Fig. 53C**), se evaluaron las bandas de 4-Hz, beta y gamma lento. En la banda de 4-Hz, la coherencia entre BLA-PL y BLA-IL fue similar ($F_{(1,1018)}$ = 0,44, p = 0,51, d = 0,02), pero con un PLV significativamente mayor para el par BLA-PL ($F_{(1,1018)}$ = 188,50, p < 0,001, d = -0,43). En la banda beta, la coherencia tampoco difirió entre regiones ($F_{(1,1018)}$ = 0,07, p = 0,80, d = 0,01), mientras que el PLV fue superior para BLA-IL ($F_{(1,1018)}$ = 118,88, p < 0,001, d = 0,34). Finalmente, en gamma lento se observó una diferencia significativa tanto en la coherencia como en el PLV, con valores más altos para el par BLA-IL (coherencia: $F_{(1,1018)}$ = 54,60, p < 0,001, d = 0,21; PLV: $F_{(1,1018)}$ = 1891,56, p < 0,001, d = 1.36), lo que indica una sincronización preferencial altamente precisa con esta región en esta banda.

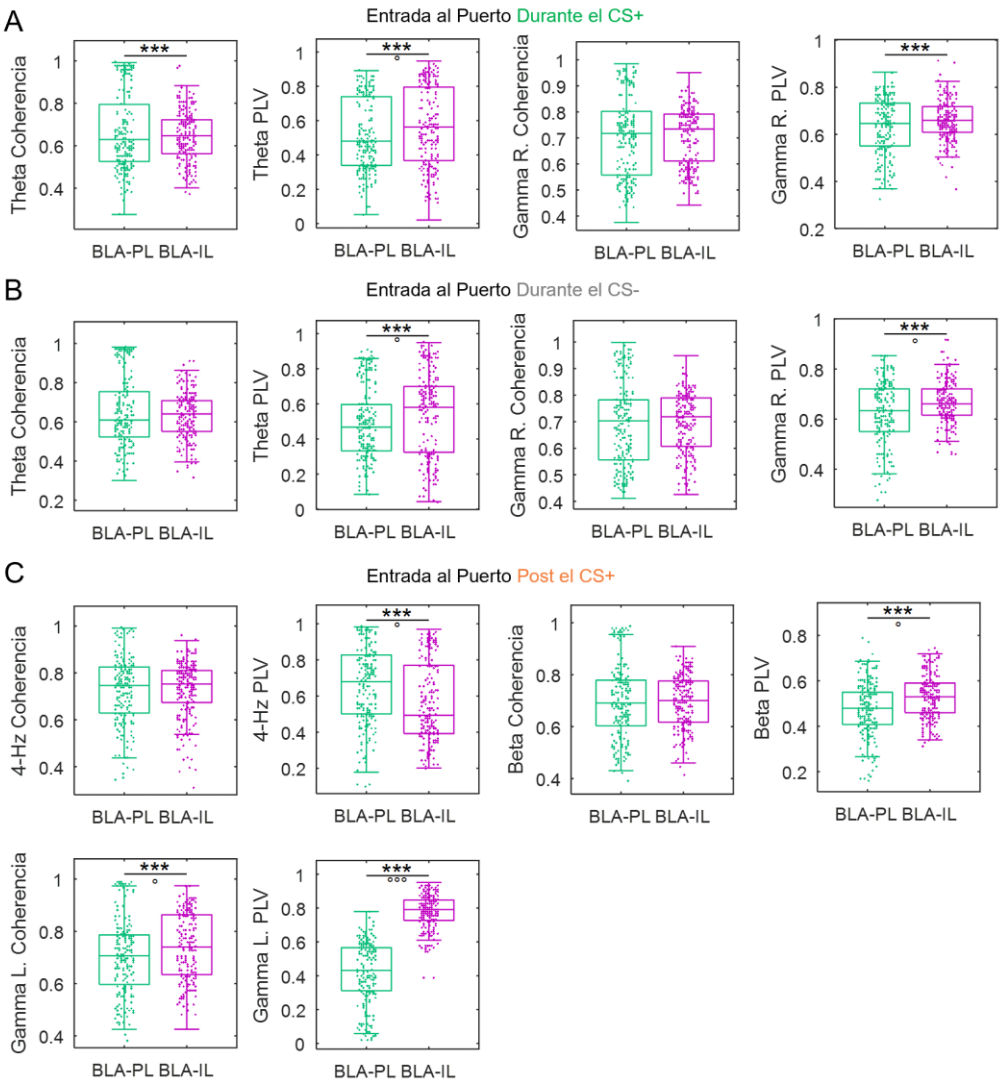


Figura 53. Sincronización entre la BLA, el PL y el IL durante eventos de entrada al puerto en el paradigma apetitivo. A-C. Comparación de la coherencia espectral (izquierda) y del acoplamiento de fase (PLV; derecha) entre pares de regiones (BLA-PL y BLA-IL) durante eventos de entrada al puerto en tres condiciones: durante el CS+ (A), durante el CS– (B) y post CS+ (C). Para cada condición se analizó la sincronización en las bandas relevantes: theta y gamma rápido durante CS+ y CS–, y 4-Hz, beta y gamma lento durante post CS+. (***p < 0,001; tamaño del efecto: d > 0,2: °; d > 0,8: °°°; Coh: $N_{Durante\ CS+}$ = 2520, $N_{Durante\ CS-}$ = 1242, $N_{Post\ CS+}$ = 1232; PLV: $N_{Durante\ CS+}$ = 1574, $N_{Durante\ CS-}$ = 798, $N_{Post\ CS+}$ = 1018).

Mientras que la coherencia no mostró diferencias sistemáticas entre la BLA y las regiones prefrontales, salvo en gamma lento, donde fue mayor con el IL, el acoplamiento de fase (PLV) fue consistentemente más alto entre la BLA y el IL, excepto en la banda de 4-Hz. Este patrón sugiere que la interacción entre estas regiones durante la evocación y extinción de la memoria apetitiva se apoya en una sincronización temporal más precisa con el IL. La disociación observada entre la coherencia y el PLV indica que ambos pares de regiones pueden estar acoplados en frecuencia, es decir, compartir ritmos oscilatorios similares, pero diferir en la precisión temporal con la que se alinean las fases de esas oscilaciones. Esto sugiere la coexistencia de mecanismos complementarios de sincronización: por un lado, la BLA mantiene con el PL una coordinación más sostenida en fase y amplitud, posiblemente reflejando un fondo oscilatorio compartido o una comunicación continua; por otro, la interacción con el IL se caracteriza por una sincronización de fase más precisa. Esta organización diferencial refuerza la idea de que la BLA coordina su actividad con las subregiones prefrontales a través de canales de comunicación oscilatoria con propiedades temporales y

funcionales distintas, reorganizando esta sincronización a lo largo del proceso de extinción mediante cambios en la direccionalidad del flujo de información, adaptándose a las nuevas demandas del estado emocional del animal.

R.4.3. Modulación fase-amplitud intraregional en la BLA y la mPFC durante la evocación y extinción de la memoria apetitiva

Si bien la modulación de fase-amplitud (PAC) ha sido extensamente caracterizada en el contexto del miedo condicionado, su estudio durante el procesamiento de estímulos asociados a recompensas permanece inexplorado. En paradigmas aversivos, se ha demostrado que la fase de oscilaciones lentas como la de 4-Hz o theta puede modular diferencialmente la amplitud de gamma lento y rápido en regiones como la BLA y la mPFC, reflejando una organización jerárquica del procesamiento oscilatorio en función del estado emocional y la memoria evocada. En particular, observamos previamente que durante episodios de *freezing* enriquecidos en 4-Hz, esta modulación presenta un patrón específico de desacople de fase entre ambas bandas gamma, con una modulación marcada en el IL. En esta sección se evaluó si la dinámica oscilatoria durante la expresión de la memoria apetitiva presenta mecanismos de acoplamiento fase-amplitud, y si estos son comparables a los del paradigma aversivo, lo que permitiría determinar si este tipo de organización rítmica constituye un principio general de codificación emocional, o si se expresa de manera diferencial según la valencia de la memoria y el estado motivacional del animal.

La PAC también se expresó de manera sistemática en el paradigma apetitivo, organizando diferencialmente la actividad oscilatoria en función del tipo de evento y la región analizada (**Fig. 54**). Durante las entradas al puerto ocurridas durante la presentación del CS+, se observó una modulación significativa entre la fase de theta y la amplitud de gamma rápido en las tres regiones analizadas (**Fig. 54A**), con diferencias entre regiones ($F_{(2,32)}$ = 5,15, p = 0,01, d = 0,57), siendo la modulación en el IL significativamente mayor que en la BLA (p = 0,01, d = 0,42). Por otro lado, durante los eventos de entrada al puerto en el CS- (**Fig. 54B**), también se registró una modulación significativa entre theta y gamma rápido, aunque sin diferencias significativas entre regiones ($F_{(2,15)}$ = 3,67, p = 0,06, d = 0,18), lo que sugiere que el acoplamiento theta-gamma rápido ocurre de forma generalizada ante estos eventos de entrada. Para las entradas al puerto posteriores al CS+ durante el *Entrenamiento* se observó una modulación significativa entre la fase de 4-Hz y la amplitud de ambas bandas gamma en todas las regiones (**Fig. 54C**). Esta modulación fue robusta en el PL y el IL, mientras que en la BLA solo se expresó para gamma lento. En el comodulograma desglosado por la fase de 4-Hz, se observó para el PL y el IL el patrón de desacople entre las fases de ambas bandas gamma, observado en el IL durante el paradigma aversivo (**Fig. 54D**). Mientras que la amplitud de gamma lento se acopló preferentemente al valle de la oscilación de 4-Hz, la de gamma rápido lo hizo en el pico. El análisis de los índices de modulación mostró que no hubo diferencias significativas entre regiones para la modulación de gamma lento (**Fig. 54E**; $F_{(2,39)}$ = 2,09, p = 0,14, d = 0,08), pero sí para la modulación de gamma rápido (**Fig. 54F**; $F_{(2,39)}$ = 3,95, p = 0,02, d = 0,45). En este caso, el IL mostró una modulación significativamente mayor que la BLA (p = 0,02, d = 0,33). Finalmente, durante los eventos de entrada al puerto post CS- se registró una modulación significativa entre la fase de theta y la amplitud de gamma rápido, aunque sin diferencias significativas entre regiones (**Fig. 54G**; $F_{(2,16)}$ = 0,89, p = 0,43, d = 0,13), similar a lo que sucede durante las entradas al puerto durante el CS-.

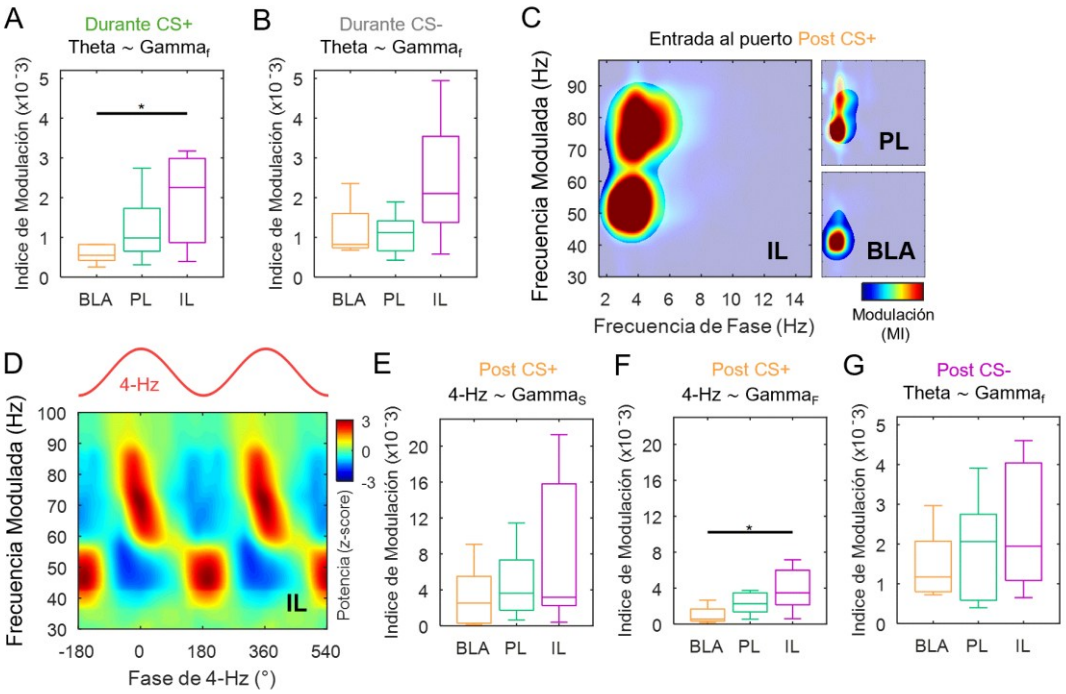


Figura 54. Modulación fase-amplitud (PAC) intraregional durante eventos de entrada al puerto. A-B. Comparación del índice de modulación entre regiones (BLA, PL, IL) para la modulación entre fase de theta y amplitud de gamma rápido en las entradas al puerto durante el CS+ (A) y durante el CS- (B). **C**. Comodulogramas promedio del índice de modulación (MI) entre la frecuencia portadora de fase (1-15 Hz, eje horizontal) y la frecuencia portadora de amplitud (30-100 Hz, eje vertical) calculado de forma intraregional en la BLA, el PL y el IL. Áreas coloreadas indican modulaciones significativas (>2 D.E. respecto al shift predictor), mientras que las áreas sombreadas corresponden a modulaciones no significativas. **D**. Ejemplo representativo del patrón de modulación entre la fase de 4-Hz y la frecuencia modulada en amplitud de las distintas bandas de gamma en el IL. **E-G**. Comparación del índice de modulación entre regiones (BLA, PL, IL) para la modulación entre fase de 4-Hz y amplitud de gamma lento (E) y gamma rápido (F) en las entradas al puerto post CS+, y la modulación de theta sobre gamma rápido durante las entradas al puerto post CS- (G). (*$p < 0,05$; $N_{Durante\ CS+} = 32$, $N_{Durante\ CS-} = 15$, $N_{Post\ CS+} = 39$, $N_{Post\ CS-} = 16$).

En conjunto, estos resultados sugieren una organización jerárquica del procesamiento oscilatorio durante la expresión de la memoria apetitiva, altamente consistente con la dinámica observada en el paradigma aversivo. En ambos contextos, la oscilación de 4-Hz modula de forma significativa tanto a gamma lento como a gamma rápido, mostrando además un desacople de fase entre ambas bandas, con picos de modulación en momentos opuestos del ciclo. Además, en este análisis observamos que la modulación de la fase de theta sobre la amplitud de gamma rápido durante las entradas asociadas al CS- ocurre de forma generalizada, sin diferencias entre regiones, mientras que durante las entradas asociadas al CS+, el acoplamiento de gamma rápido se potencia específicamente en el IL, que exhibe los niveles más altos de modulación. Este patrón sugiere que el IL cumple un rol central en la codificación oscilatoria de estímulos asociados a recompensas, ajustando la forma en que procesa la información según el estímulo. Desde un punto de vista funcional, estos resultados refuerzan la hipótesis de que el acoplamiento de fase-amplitud actúa como un mecanismo de segmentación temporal de flujos de información paralelos, permitiendo que distintas señales, como la asociada al estímulo apetitivo o al estado motivacional, sean coordinadas con precisión por los ritmos lentos dominantes. La segregación de fase observada entre gamma lento y rápido podría reflejar el procesamiento simultáneo de aspectos complementarios del comportamiento, como la expectativa de recompensa y la actualización de la información contextual, facilitando así una codificación flexible y dinámica según la memoria evocada y el estado interno del animal.

R.4.4. Variaciones en el ritmo respiratorio durante los eventos de entrada al puerto

Sabemos que la respiración es una señal fisiológica rítmica capaz de modular la actividad oscilatoria en múltiples regiones cerebrales, incluyendo estructuras límbicas y prefrontales, y de sincronizar procesos neuronales en función del estado comportamental del animal. En el paradigma aversivo, se observó que la frecuencia respiratoria variaba sistemáticamente entre estados (ver **R.2.6**), coincidiendo con las oscilaciones predominantes registradas en la BLA y la mPFC. En esta sección, nos propusimos evaluar si esta correspondencia entre respiración y actividad oscilatoria también se mantenía durante la expresión de la memoria apetitiva, lo que permitiría determinar si el acoplamiento entre ritmo respiratorio y oscilaciones constituye un principio general de organización temporal en los circuitos emocionales. Para ello, se caracterizó la frecuencia respiratoria durante los eventos de entrada al puerto en diferentes momentos de la tarea, registrando la señal del EO de forma simultánea con los LFP de la BLA, el PL y el IL, durante los eventos de entrada al puerto asociados al CS+ y al CS- (**Fig. 55A**). El análisis espectral de la señal del EO mostró que, al igual que en el paradigma aversivo, cada condición presentó un ritmo respiratorio característico. Durante las entradas al puerto ocurridas en el CS+, la frecuencia respiratoria fue en el rango de theta (~9,84 Hz), acompañando las oscilaciones theta observadas en el LFP de las regiones analizadas (**Fig. 55A-C**). En cambio, posterior al CS+, la respiración adoptó un ritmo más lento en el rango de 4-Hz (~5,72 Hz), también asociado a oscilaciones de 4-Hz en el LFP. Durante el CS-, la respiración también fue más rápida y en el rango de theta (~9,08 Hz), con un perfil similar al observado durante el CS+, mientras que posterior al CS- se mantuvo este ritmo respiratorio de theta (~9,46 Hz).

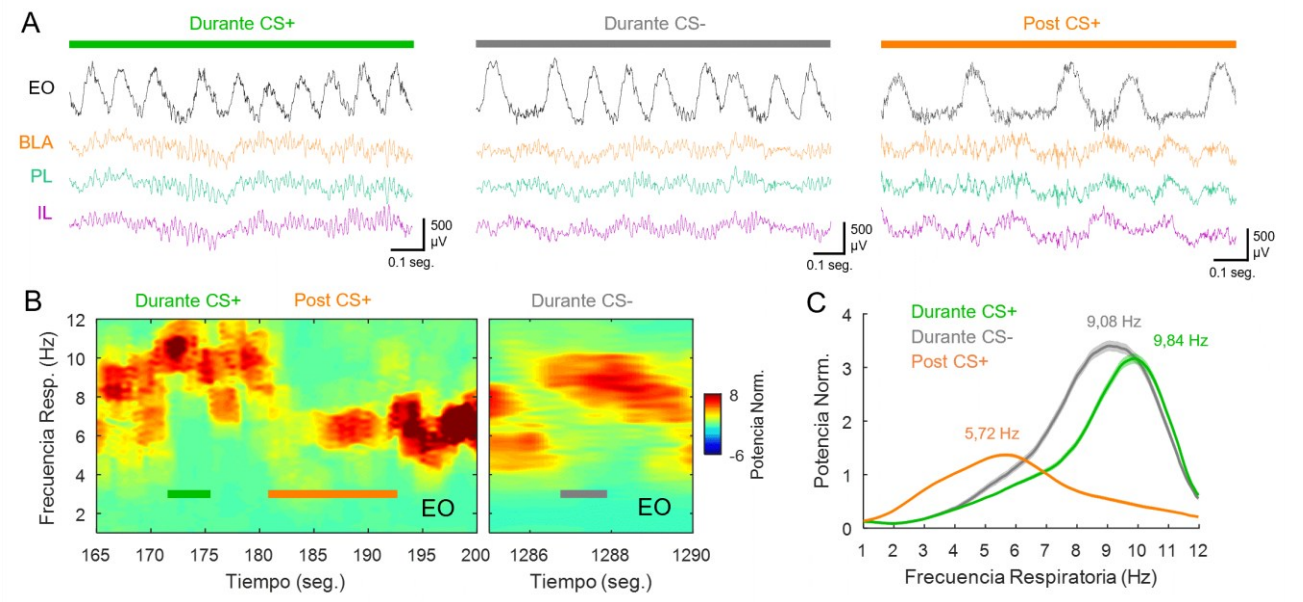


Figura 55. Ritmo respiratorio característico durante eventos de entrada al puerto en el paradigma apetitivo. A. Ejemplos representativos de registros simultáneos del epitelio olfatorio (EO), BLA (naranja), PL (verde), IL (violeta) durante eventos de entrada al puerto en tres condiciones: durante el CS+ (izquierda), durante el CS– (centro) y post CS+ (derecha). **B**. Espectrogramas del EO en ejemplos representativos de cada condición, indicando la potencia normalizada en función de la frecuencia respiratoria (eje vertical) a lo largo del tiempo (eje horizontal). Las barras horizontales de color indican los distintos eventos comportamentales. **C**. Espectro de potencia (PSD) promedio de la señal del EO para cada condición. Se indican las frecuencias respiratorias correspondientes al pico del PSD para cada una. Las curvas representan la mediana y las áreas sombreadas el desvío absoluto respecto a la mediana (MAD). $N_{Durante\ CS+}$ = 852, $N_{Durante\ CS-}$ = 425, $N_{Post\ CS+}$ = 551.

En todos los casos, y a pesar de que el registro del EO fue exitoso en solo dos de los animales, la frecuencia respiratoria coincidió con la frecuencia de las oscilaciones predominantes registradas en la BLA, el PL y el IL para cada tipo de evento. Durante las entradas al puerto en el CS+ y CS-, se observó un ritmo respiratorio de theta que acompaña el aumento de potencia en esta banda, mientras que durante el post CS+ la frecuencia respiratoria se desacelera hasta un ritmo de 4-Hz, en paralelo con el predominio de oscilaciones más lentas de 4-Hz en el LFP. Esta correspondencia refuerza la idea de una coordinación funcional entre el ritmo respiratorio y la actividad oscilatoria en el eje BLA-mPFC, también presente en la memoria apetitiva. Al igual que en el paradigma aversivo, estos resultados sugieren que la respiración se acopla dinámicamente a los estados oscilatorios dominantes, adaptándose al tipo de estímulo evocado y posiblemente modulando la excitabilidad neuronal y la integración funcional entre regiones clave para la expresión de memorias emocionales.

R.4.5. Codificación neuronal en la BLA de la dinámica de evocación y extinción de la memoria apetitiva

La BLA no solo participa en la codificación de estímulos aversivos, sino que también cumple un rol fundamental en el procesamiento de estímulos apetitivos. Este rol se basa en que la BLA puede asociar dichos estímulos con experiencias positivas, adaptar esas asociaciones cuando cambian las condiciones, y modular el comportamiento para obtener una recompensa (Baxter y Murray, 2002; Janak y Tye, 2015). Diferentes trabajos han demostrado que las neuronas de la BLA pueden responder de forma selectiva a estímulos condicionados asociados a recompensas (Ambroggi et al., 2008; Beyeler et al., 2016), y que estas respuestas se apoyan en mecanismos de plasticidad sináptica y circuitos específicos que proyectan hacia regiones como el NAc y la mPFC (Stuber et al., 2011; Namburi et al., 2015). En este contexto, se ha descripto que la codificación neuronal de la valencia positiva en la BLA involucra subpoblaciones de neuronas que responden de manera diferencial al CS+ y al CS-. Estas poblaciones pueden organizarse según sus proyecciones (Namburi et al., 2015; Beyeler et al., 2016) y su expresión genética (Zhang et al., 2020). Además, se ha observado que estas representaciones no son estáticas, sino que se reorganizan dinámicamente a lo largo del aprendizaje y de la extinción, permitiendo que los estímulos condicionados adquieran o pierdan valor positivo en función de la experiencia (Zhang y Li, 2018). Esta flexibilidad sugiere que la BLA no solo participa en la formación de memorias apetitivas, sino también en su reconfiguración ante cambios en el valor esperado del estímulo (Bocchio et al., 2017). También se ha demostrado que las neuronas de la BLA pueden activarse ante eventos como la entrada al puerto donde es administrada una recompensa (Ambroggi et al., 2008; Stuber et al., 2011). En particular, se ha propuesto que la actividad de interneuronas de parvalbúmina en la BLA regula la expresión de las oscilaciones beta, asociadas al valor aprendido del estímulo y a la actualización del comportamiento ante cambios en la recompensa (Amaya et al., 2024). A su vez, otros estudios han demostrado un acoplamiento entre la BLA y el estriado o la mPFC a través de oscilaciones gamma durante el aprendizaje apetitivo (Popescu et al., 2009), lo que sugiere un mecanismo rítmico para la integración de la información motivacional. Si bien estos hallazgos han sido fundamentales para entender el rol de la BLA en el aprendizaje y la codificación de valor apetitivo, aún persisten interrogantes clave sobre cómo y cuándo se expresa esa información a lo largo de la tarea, particularmente durante los eventos comportamentales específicos que reflejan de forma directa la expectativa o el acceso a la recompensa. En esta sección, se caracterizará la actividad de las neuronas de la BLA durante los eventos de entrada al puerto, evaluando su respuesta en diferentes momentos de la tarea y examinando cómo estas respuestas se reorganizan dinámicamente durante la extinción.

En primer lugar, se analizó la actividad neuronal en la BLA centrada al inicio de los eventos de entrada al puerto durante y post CS, y se examinó la proporción de neuronas que respondieron significativamente en cada caso, a lo largo de las distintas fases. Algunas neuronas, por ejemplo, se

activaron específicamente durante las entradas al puerto post CS+, con un incremento de la tasa de disparo (**Fig. 56A**). En términos poblacionales, un porcentaje considerable de neuronas de la BLA presentó modulaciones significativas durante alguno de los distintos tipos de entradas, y esta proporción varió con la extinción (**Fig. 56B**). Este cambio fue significativo tanto para las respuestas durante el CS+ o el CS- (**Fig. 56B**, izquierda; $\chi^2 = 13,57$; $p < 0,004$) como para las respuestas durante el CS+ y post CS+ (**Fig. 56B**, derecha; $\chi^2 = 12,14$; $p < 0,001$). Si bien se observaron disminuciones de la respuesta en los tres grupos de neuronas en ambos análisis, el efecto más marcado se dio en aquellas que respondieron a más de un tipo de entrada, cuya codificación se redujo drásticamente desde el *Entrenamiento Tardío* hacia las fases posteriores de evocación y extinción de la memoria.

Para estudiar cómo se organizó la actividad poblacional durante los eventos de entrada al puerto en el *Entrenamiento Tardío*, se construyeron mapas de calor con la tasa de disparo normalizada (z-score) para cada neurona registrada en la BLA (n = 97), centrando esta actividad al inicio del evento. Tanto durante las entradas ocurridas durante el CS+ (**Fig. 56C**), como durante el CS- (**Fig. 56D**) y durante el post CS+ (**Fig. 56E**), se observó un grupo de neuronas que se activó transitoriamente con la entrada al puerto, mientras que otras mostraron respuestas inhibitorias en ese mismo periodo. Se representó de forma jerárquica la proporción de neuronas que codificaron cada tipo de evento y sus posibles respuestas a más de uno de ellos, considerando tanto la presencia de respuesta como su dirección (excitación o inhibición) (**Fig. 56F-H**). Se observó que una proporción considerable de neuronas de la BLA (85,6%; $\chi^2 = 49,1$, $p < 0,001$) codificó activamente estos eventos de entrada, tanto durante el CS+ (63,9 %), durante el CS- (55,7%) y el post CS+ (70,1 %), mientras que la proporción fue menor en el post CS- (49,5 %; $\chi^2 = 8,58$, $p = 0,003$). En todos los casos, las respuestas inhibitorias tendieron a ser más frecuentes que las excitatorias, especialmente en los eventos post CS+, donde casi la mitad de las neuronas registradas mostró una inhibición significativa (48,5 %; $\chi^2 = 14,15$, $p < 0,001$). Además, al analizar las neuronas que respondieron a más de un tipo de entrada (**Fig. 56F-H**), se observó que en la mayoría de los casos mantuvieron el mismo signo de respuesta entre eventos, ya sea con excitación o con inhibición. Este patrón sugiere una coherencia funcional en la codificación, donde cada neurona tiende a conservar su modo de respuesta, independientemente del contexto en que ocurra la entrada al puerto.

Por último, se evaluó cómo evolucionó la proporción de neuronas que respondieron, y si lo hicieron con excitación o inhibición, al inicio de cada tipo de entrada al puerto y a lo largo de las fases de la tarea. Además, se examinó cuántas neuronas mantuvieron, modificaron o adquirieron sus respuestas entre fases. En las tres condiciones analizadas se observó una disminución significativa en la proporción total de neuronas que respondieron entre el *Entrenamiento Tardío* y las fases posteriores (**Fig. 56I-K**; todos: $p < 0,001$), lo que sugiere una caída generalizada en la codificación neuronal de estos eventos. Al analizar los cambios de respuesta entre fases dentro de la *Extinción 1*, la mayoría de las neuronas mantuvo su perfil (50 %), una fracción considerable dejó de responder (35,7 %) y un pequeño grupo comenzó a responder (14,3 %). En cambio, en el caso de las entradas durante el CS- (**Fig. 56K**), la mayoría de las neuronas dejaron de responder (87,0 %), y muy pocas mantuvieron su perfil (13,0 %). Durante las entradas post CS+ (**Fig. 56J**), la caída observada entre fases se explicó principalmente por una ganancia de nuevas respuestas (50 %), en su mayoría inhibitorias, mientras que otras neuronas dejaron de responder (35,7 %) o mantuvieron su perfil (14,3 %). Finalmente, para las entradas post CS-, también se observó una reorganización donde la mayoría de las neuronas (66,7 %) comenzó a responder en la fase tardía, mientras que el resto (33,3 %) dejó de hacerlo.

En conjunto, estos resultados muestran que la BLA contiene subpoblaciones de neuronas que codifican activamente y de manera diferenciada los eventos de entrada al puerto en distintos momentos, y que esta codificación disminuye con la extinción. Estos cambios en la codificación no solo se reflejan en una menor proporción de neuronas que responden hacia las fases de *Extinción*, sino también en una reorganización funcional de las respuestas durante la *Extinción 1*, caracterizada por neuronas que empiezan a responder a la vez que otras neuronas dejan de responder. En todos

los casos, la actividad de la BLA no solo refleja la ocurrencia de los eventos de entrada al puerto, sino que también acompaña la pérdida del valor apetitivo, especialmente al pasar del *Entrenamiento Tardío* a la *Extinción*.

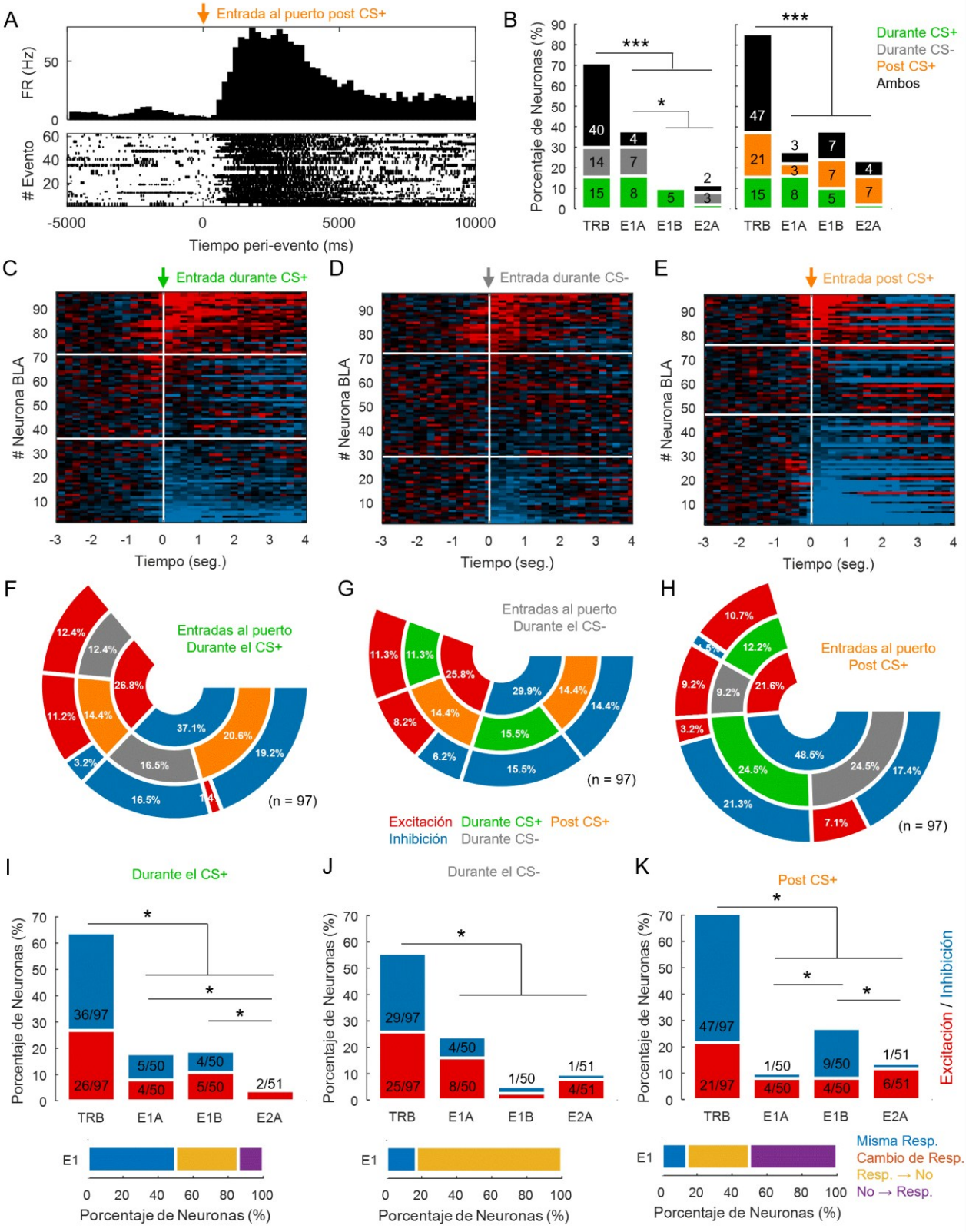


Figura 56. Codificación neuronal en la BLA durante los eventos de entrada al puerto. A. Ejemplo de una neurona individual registrada en la BLA. Se muestra su actividad centrada a los eventos de entrada al puerto post CS+, en una ventana de ±10 segundos. Arriba: histograma de tasa de disparo (FR, en Hz; bines de 100 ms). Abajo: disparos individuales (ráster) alineados temporalmente a los eventos. **B**. Porcentaje de neuronas que responden significativamente (con excitación o inhibición) al inicio de cada tipo de evento de entrada al puerto: sólo durante el CS+ (verde), sólo durante el CS– (gris), sólo post CS+ (naranja) o a ambos tipos de evento (negro). Se muestran los datos por sesión: *Entrenamiento Tardío* (TRB), *Extinción 1 Temprana* (E1A), *Extinción 1 Tardía* (E1B) y *Extinción 2 Temprana* (E2A). Se indica, sobre cada barra, el número absoluto de neuronas que responden en cada condición. **C-E**. Mapas de calor de la tasa de disparo media (FR, expresada como z-score por neurona) para todas las neuronas registradas en la BLA (n = 97), centrados al inicio de los eventos de entrada al puerto durante CS+ (C), durante CS- (D) y post CS+ (E), combinando las neuronas de las sesiones de TRB. **F-H**. Representación jerárquica en abanico del porcentaje de neuronas que responden significativamente al inicio de cada tipo de evento. Primer nivel: proporción de neuronas que se excitan o inhiben. Segundo nivel: proporción de esas mismas neuronas que también responden a otros tipos de eventos (indicados con color). Tercer nivel: tipo de respuesta frente a ese segundo comportamiento (excitación o inhibición). **I-K**. Porcentaje de neuronas que se excitan o inhiben al inicio de cada tipo de evento, separado por fase de la sesión. Se indica el número de neuronas que responden sobre el total de neuronas registradas en cada sesión. Abajo: para la comparación entre fases de la *Extinción 1* (E1), se muestra el porcentaje de neuronas que mantienen su respuesta (azul), que cambian de tipo de respuesta (naranja), que dejan de responder (amarillo) o que comienzan a responder (violeta). (*p < 0,05; ***p < 0,001; prueba de chi cuadrado).

Con el objetivo de estudiar cómo las neuronas de la BLA codifican los estímulos condicionados en el paradigma apetitivo y evaluar si la expresión de la memoria y su extinción se reflejan en la dinámica de esta codificación, se analizó su respuesta diferencial al inicio del CS+ y del CS- a lo largo de las distintas fases de la tarea (**Fig. 57**)**.** Se observaron neuronas que respondieron de forma selectiva a uno u otro estímulo, así como algunas neuronas respondieron a ambos (**Fig. 57A-B**). A nivel poblacional, una gran proporción de neuronas respondió significativamente al CS+ (22,7 %) o a ambos estímulos (38,1 %), mientras que solo un porcentaje reducido lo hizo exclusivamente al CS- (4,1 %) (**Fig. 57C**), lo que indicaría que esta codificación está dominada por la representación del CS+ o la codificación compartida. Además, al examinar el tipo de respuesta, se observó que en ambos casos tendieron a predominar las respuestas excitatorias por sobre las inhibitorias, con una diferencia significativa para el CS- (CS+: 54,2 % excitación vs. 45,8 % inhibición; $\chi^2 = 1,67$, $p = 0,20$; CS-: 65,9 % excitación vs. 34,1 % inhibición; $\chi^2 = 19,81$, $p < 0,001$; **Fig. 57C**). Luego, se analizó cómo varió la proporción de neuronas que respondieron a los CS a lo largo de las distintas fases de la tarea (**Fig. 57D**). La distribución general de respuestas cambió significativamente entre fases ($\chi^2 = 31,61$; $p < 0,001$), con una disminución significativa entre el *Entrenamiento Tardío* y las fases posteriores (todos: $p < 0,05$). Finalmente, se examinó la estabilidad de las respuestas entre las fases temprana y tardía de la *Extinción 1* (**Fig. 57E**). Para el CS+, la mayoría de las neuronas mantuvo su perfil de respuesta (54,5 %) o comenzó a responder en la fase tardía (31,8 %), mientras que muy pocas dejaron de responder (13,6 %). En cambio, para el CS- se registró una caída marcada en la proporción de neuronas codificantes, donde la mayoría dejo de responder (71,4 %) y una fracción menor que mantuvo su respuesta (28,6 %).

En conjunto, estos resultados indican que durante la extinción de la memoria apetitiva se produce una reorganización funcional de la codificación neuronal en la BLA. En el caso del CS+, este reordenamiento se manifiesta como un aumento relativo de las respuestas selectivas para el CS+. Esta transición sugiere que la representación del CS+ se reconfigura para adaptarse a su nuevo valor conductual. En contraste, para el CS- se observa una pérdida abrupta y sostenida de la codificación, lo que podría reflejar un nivel inicial de generalización al CS- durante el *Entrenamiento*, que se elimina progresivamente a medida que avanza la extinción.

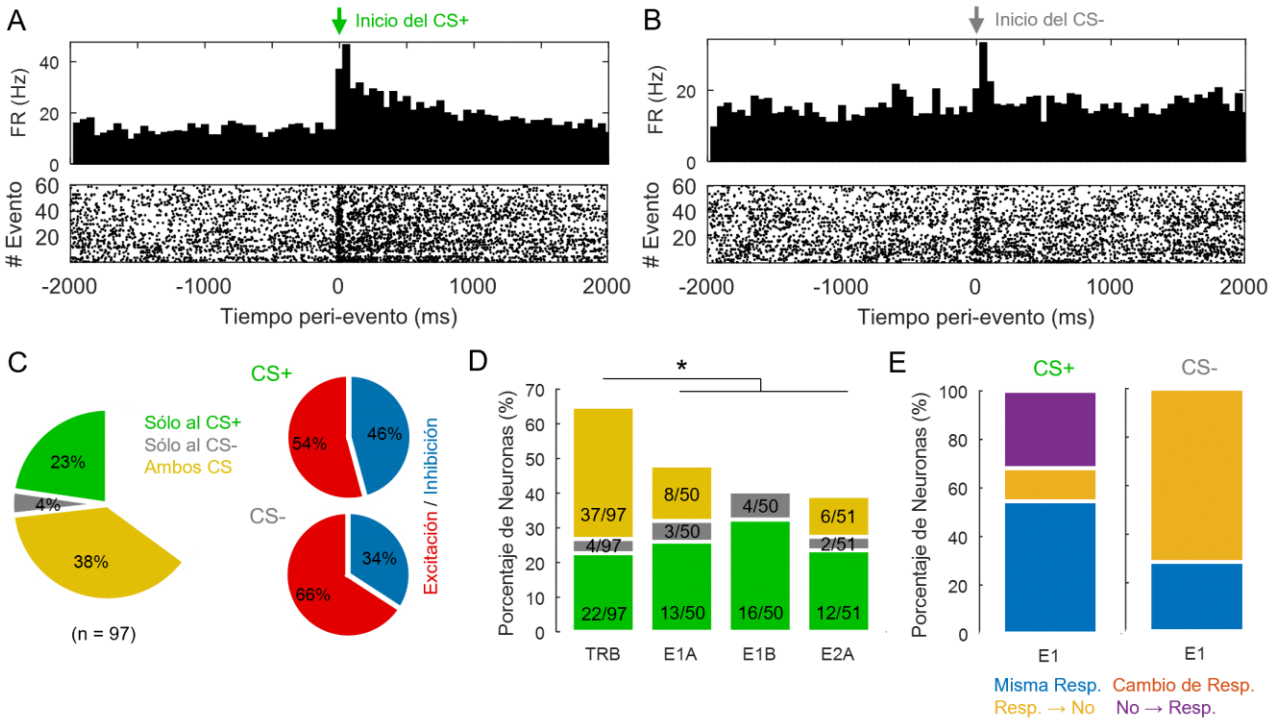


Figura 57. Respuesta de las neuronas de la BLA al CS+ y al CS- durante el paradigma apetitivo. A-B. Ejemplo de una neurona individual registrada en la BLA. Se muestra su actividad centrada al inicio del tono CS+ (A) y del tono CS- (B) durante el *Entrenamiento Tardío*, en una ventana de ±2 segundos. Arriba: histograma de tasa de disparo (FR, en Hz; bines de 50 ms). Abajo: disparos individuales (ráster) alineados temporalmente a los eventos. **C**. Porcentaje de neuronas, del total registradas en la BLA (n = 97), que responden únicamente al CS+ (verde), únicamente al CS- (gris), o a ambos estímulos (amarillo). A la derecha, se detalla, para las neuronas que responden al CS+ (n = 22) y al CS- (n = 37), el porcentaje que lo hace con excitación (rojo) o inhibición (azul). **D**. Porcentaje de neuronas que responden únicamente al CS+, únicamente al CS- o a ambos estímulos, separado por fase de la sesión: *Entrenamiento Tardío* (TRB), *Extinción 1 Temprana* (E1A), *Extinción 1 Tardía* (E1B) y *Extinción 2 Temprana* (E2A). Se indica el número absoluto de neuronas que responden en cada categoría sobre el total de neuronas de cada sesión. **E**. Para la *Extinción 1* (E1), se muestra el porcentaje de neuronas que mantienen su respuesta entre fases temprana y tardía (azul), las que cambian de respuesta (de excitación a inhibición o viceversa, en naranja), las que dejan de responder (amarillo) y las que comienzan a responder (violeta). Izquierda: neuronas que responden al CS+. Derecha: neuronas que responden al CS-. (*p < 0,05; prueba de chi cuadrado).

Dado que en el paradigma aversivo se ha demostrado que las oscilaciones lentas de la mPFC organizan temporalmente el disparo de las neuronas de la BLA, facilitando la interacción entre ambas regiones durante la evocación y extinción del miedo, se evaluó si este principio de coordinación rítmica también se manifiesta durante la expresión de memorias apetitivas, lo que indicaría que se trataría de un mecanismo general para la representación y actualización de memorias emocionales. Además, se buscó analizar las diferencias en el acoplamiento de las neuronas de la BLA a las fases del PL y el IL y así explorar si estas subregiones modulan de manera diferencial la actividad de la BLA durante la codificación de las memorias apetitivas. Para ello, se analizó el acoplamiento de fase entre el disparo de neuronas de la BLA y la fase de las oscilaciones registradas en el PL y el IL, durante los eventos de entrada al puerto durante el CS+, durante el CS- y post CS+. Durante las entradas al puerto ocurridas durante el CS+, una proporción considerable de neuronas de la BLA que respondieron a este evento mostraron acoplamiento significativo a la fase de la oscilación de gamma rápido registrada en el PL (Fig. 58A y D). En total, el 53 % de estas neuronas estuvieron significativamente acopladas ($Z = 10,68$; $p < 0,001$), con una fase media cerca del valle de la onda ($\Phi = 169°$, $|v| = 0,57$). En el caso del IL, el acoplamiento a gamma rápido tendió a ser menor (34 %), con una fase de preferencia más dispersa ($\Phi = 71°$, $|v| = 0,36$). En esta misma población, se observó

también un acoplamiento significativo a oscilaciones theta tanto en PL como en IL (PL: 84 %, Φ = 337°, |v| = 0,23; IL: 80 %, Φ = 218°, |v| = 0,27). Por otro lado, durante las entradas al puerto ocurridas durante el CS- (Fig. 58B y E), el patrón fue muy similar, con el 56 % de las neuronas que respondieron a estos eventos mostraron acoplamiento significativo a gamma rápido del PL (Z = 8,79; p < 0,001), con una fase preferida cercana al valle (Φ = 176°, |v| = 0,54). En el IL, el porcentaje de acoplamiento fue del 43 %, con una fase de preferencia en la parte descendente de la onda (Φ = 59°, |v| = 0,41). Al igual que en la condición anterior, estas neuronas también se acoplaron a theta en ambas regiones (PL: 81 %, Φ = 345°, |v| = 0,27; IL: 80 %, Φ = 200°, |v| = 0,34). Finalmente, durante las entradas al puerto post CS+ (Fig. 58C y F), las neuronas de la BLA mostraron acoplamiento significativo a la oscilación gamma lento registrada en el PL (49 %, Φ = 87°, |v| = 0,28) y en el IL (38 %, Φ = 87°, |v| = 0,28), sin una fase de preferencia tan marcada. A su vez, estas mismas neuronas que responden durante las entradas al puerto post CS+ también mostraron acoplamiento a las oscilaciones de 4-Hz registradas en el PL (80 %, Φ = 85°, |v| = 0,30) y en el IL (82 %, Φ = 170°, |v| = 0,42), disparando preferentemente en la fase descendente en el PL y en el valle de la onda en el IL , con un 73 % de las neuronas mostrando acoplamiento dual a ambas regiones, pero con diferentes fases preferidas. También se observaron acoplamientos a beta en ambas regiones (PL: 76 %, Φ = 74°, |v| = 0,55; IL: 63 %, Φ = 90°, |v| = 0,59), con magnitudes del vector poblacional elevadas, lo que indica una sincronización precisa del disparo neuronal en la fase descendente de la onda beta.

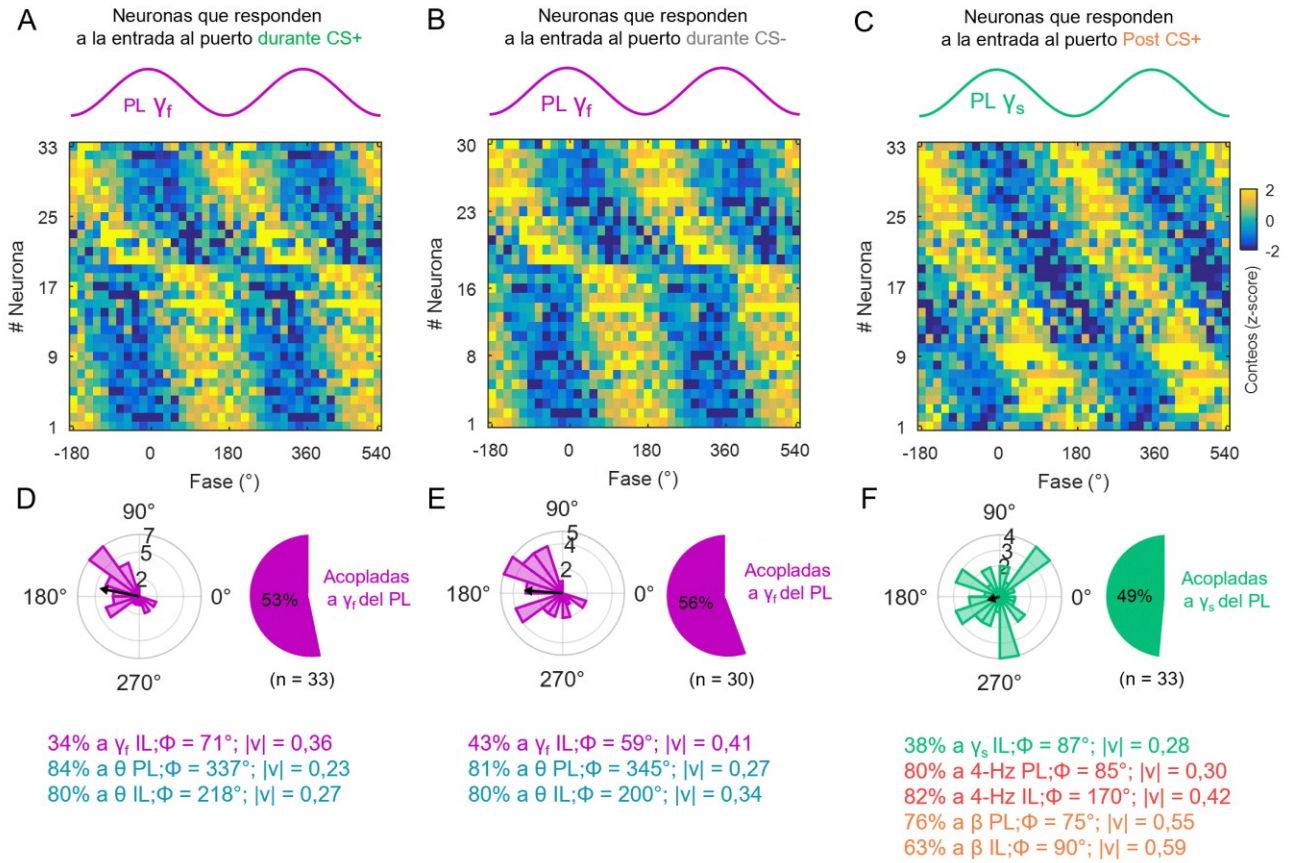


Figura 58. Acoplamiento de las neuronas de la BLA a la fase de oscilaciones del PL e IL. A-C. Mapas de calor que representan la cantidad de disparos (expresada como z-score) de neuronas individuales de la BLA, alineados con la fase de la oscilación gamma rápido (γf) o gamma lento (γs) registrada en PL. Se muestran únicamente las neuronas que presentaron acoplamiento significativo a la fase. (A) Neuronas que responden a la entrada al puerto durante el CS+ en relación con la fase de γf en PL. (B) Neuronas que responden a la entrada al puerto durante el CS- en relación con γf en PL. (C) Neuronas que responden a la entrada post CS+ en relación con γs en PL. **D-F**. Distribución de la fase preferida de disparo de la población de neuronas acopladas en cada condición, representada en gráficos polares. El ángulo indica la

fase preferida y la altura de cada bin, el número de neuronas en esa fase. El vector indica la fase media preferida de la población y su longitud refleja la magnitud del acoplamiento poblacional. A la derecha de cada gráfico polar se muestra el porcentaje de neuronas significativamente acopladas a la fase de la oscilación correspondiente en PL. Debajo de cada panel se indican, para esas mismas neuronas, los porcentajes de neuronas acopladas significativamente a otras oscilaciones tanto en PL como en IL, junto con su fase poblacional preferida (Φ) y la longitud del vector poblacional (|v|).

Estos resultados muestran que una gran proporción de neuronas de la BLA que responden a los eventos de entrada al puerto asociados a los distintos momentos del paradigma apetitivo también presentan acoplamiento significativo a las oscilaciones registradas en la mPFC. Si bien el acoplamiento fue significativo con ambas regiones, el PL tendió a reclutar, en la mayoría de los casos, una mayor proporción de neuronas acopladas que el IL, especialmente en el caso de las oscilaciones gamma lento y gamma rápido. Este patrón es consistente con lo observado en el paradigma aversivo, donde también se registró una mayor participación del PL en la modulación de la actividad de la BLA. Además, durante las entradas al puerto post CS+, se observó un acoplamiento marcado de las neuronas de la BLA a las oscilaciones beta de ambas subregiones de la mPFC. Estas neuronas, que responden durante el consumo de la recompensa, podrían estar relacionadas con el procesamiento del valor de esta, tal como proponen estudios previos (Amaya et al.,2024), en los que se ha vinculado a la oscilación beta con la representación del valor recibido. A su vez, se observó que estas neuronas se acoplan diferencialmente a las oscilaciones de 4-Hz en el PL y el IL, disparando en fases distintas del ciclo, lo que sugiere que ambas subregiones modulan la actividad de la BLA de manera específica durante el procesamiento de la recompensa. Estos resultados refuerzan la idea de que tanto el PL como el IL desempeñan un rol dominante en la sincronización funcional con la BLA, tanto en contextos de memoria aversiva como apetitiva, mediante ritmos oscilatorios específicos que podrían facilitar la integración de información relevante para guiar la conducta dirigida a la obtención de una recompensa.

Discusión

Nuestras decisiones están guiadas en muchos casos por memorias cargadas de valor emocional: evitamos situaciones que nos generaron miedo y buscamos aquellas que nos resultaron gratificantes. Esta capacidad de recordar y adaptar el comportamiento según la valencia de nuestras experiencias pasadas resulta esencial para la supervivencia. Sin embargo, cuando estas memorias persisten de manera inflexible o se reactivan en contextos inapropiados, pueden adquirir un carácter maladaptativo y contribuir al desarrollo de diversos trastornos. Entender cómo el cerebro procesa y regula estas memorias es clave para comprender tanto el funcionamiento de la memoria en un cerebro sano como su desregulación en contextos patológicos, tales como el estrés postraumático o la adicción. Desde esta perspectiva, esta tesis se propuso investigar cómo se reorganiza la actividad oscilatoria y neuronal en circuitos cortico-límbicos durante la evocación y extinción de memorias emocionales, partiendo de la hipótesis de que estos procesos reflejan una dinámica flexible modulada tanto por la valencia de la memoria como por el estado conductual del animal. Para ello, se propuso caracterizar la dinámica oscilatoria y neuronal en la BLA, el PL y el IL durante la evocación y extinción de memorias apetitivas y aversivas, evaluando cómo se expresan los distintos ritmos oscilatorios y los patrones de actividad neuronal según la memoria evocada, cómo se reorganiza la dinámica de la red a lo largo del proceso de extinción, y en qué medida esta organización difiere entre memorias de ambas valencias, con el fin de identificar regularidades compartidas y diferencias específicas en la dinámica cerebral. Esta sección de discusión tiene como objetivo integrar los resultados obtenidos con el marco teórico planteado, analizando su alcance, implicancias y limitaciones.

La evocación de la memoria de miedo se manifiesta durante el *freezing* y se acompaña de un patrón oscilatorio con actividad de 4-Hz en la red BLA-mPFC, mientras que la extinción promueve el comportamiento exploratorio junto con un patrón opuesto con actividad theta.

Uno de los objetivos centrales de esta tesis fue caracterizar cómo la actividad oscilatoria de la red BLA-mPFC se reorganiza durante la evocación y extinción de las memorias de miedo. Para ello, se analizó la dinámica oscilatoria tanto durante la presentación de los estímulos condicionados (CS+ y CS-), como es habitual en estudios previos (Lesting et al., 2011; Likhtik et al., 2014; Stujenske et al., 2014, 2022; Chen et al., 2021; Totty et al., 2023), como durante los episodios comportamentales que reflejan de forma directa la expresión efectiva de la memoria (Seidenbecher et al. 2003; Lesting et al., 2013; Karalis et al., 2016; Han et al., 2023). Este enfoque centrado en los eventos conductuales permitió superar una limitación metodológica clave, dado que el análisis promediado por estímulo condicionado no refleja con precisión los momentos en que la memoria está realmente siendo expresada. Tal como se argumentó en la introducción, la presentación del CS+ solo incrementa la probabilidad de respuesta (LeDoux, 2000; Maren et al., 2013), pero es la conducta del animal, especialmente el *freezing* en este caso, la que revela que la memoria aversiva fue evocada (Fanselow, 1994; Quirk y Mueller, 2008).

Durante la evocación del miedo condicionado, los resultados mostraron un patrón oscilatorio caracterizado por un aumento en la potencia de 4-Hz en la BLA, el PL y el IL, acompañado en algunos casos por incrementos en las bandas beta y gamma lento, y una supresión en la banda theta y gama rápido. Este aumento en la banda de 4-Hz se expresó predominantemente durante episodios de *freezing* (ver **R.2.2**, **Fig. 59A**), replicando trabajos previos que identifican a esta oscilación como una firma resonante del miedo y la expresión del *freezing* (Karalis et al., 2016; Ozawa et al. 2020; Chen et al., 2021; Han et al., 2023). En contraste, durante los eventos de movimiento, se expresó un patrón opuesto con predominancia de actividad theta y gamma rápido (ver **R.2.2**, **Fig. 59C**), bandas asociadas a la exploración activa y a estados de seguridad (O'Neill et al., 2013; Ozawa et al. 2020; Han et al., 2023). Nuestra propuesta de realizar esta distinción metodológica, basada en la segmentación por los eventos conductuales, permitió demostrar que las dinámicas oscilatorias de la

expresión de la memoria son más informativas cuando se anclan a la conducta, y no a la simple presentación de los estímulos condicionados. En relación con la hipótesis de que la evocación y extinción de memorias emocionales podrían reorganizar dinámicamente la actividad oscilatoria en el circuito BLA-mPFC según la expresión conductual de la memoria, los resultados obtenidos son consistentes con esta idea. Dicha reorganización parece manifestarse a lo largo del proceso de evocación y extinción, que comienza con un predominio de eventos de *freezing* asociados a la evocación del miedo y a un patrón oscilatorio caracterizado por actividad de 4-Hz, y progresa hacia una condición de mayor movimiento, acompañada por un incremento en la actividad theta. Este cambio en la relación entre 4-Hz y theta podría reflejar la transición del sistema desde un estado de evocación del miedo hacia uno de seguridad (Likhtik et al., 2014; Stujenske et al., 2014; Karalis et al., 2016; Ozawa et al., 2020; Totty et al., 2023).

Un aporte novedoso de esta tesis fue revelar cómo esta transición se expresa de forma diferencial en las distintas subregiones de la mPFC. En comparación, el IL mostró cambios más tempranos y robustos, especialmente un aumento en la potencia de gamma rápido desde el momento de adquisición de la memoria de extinción (ver **R.2.1**), lo cual concuerda con su rol funcional descripto en la literatura, donde se ha propuesto que el IL participa activamente en la inhibición del miedo y en la consolidación de la memoria de extinción (Milad y Quirk, 2002; Milad et al., 2009; Senn et al., 2014). Estos resultados también respaldan la hipótesis de que los patrones oscilatorios difieren entre las regiones analizadas, reflejando su especialización funcional. También sugiere que esta oscilación de gamma rápido podría actuar como un marcador funcional de seguridad aprendida durante los CS, lo cual replica trabajos previos en la mPFC (Likhtik et al., 2014; Stujenske et al., 2014), pero se agrega una dimensión regional al mostrar que este aumento se da de particularmente en el IL, lo que podría indicar un rol jerárquico en la reconfiguración de la red. Sin embargo, cabe considerar que esta señal de seguridad durante los CS podría explicarse, al menos en parte, por una reducción en los eventos de *freezing* y un aumento en el número de eventos de movimiento, los cuales se caracterizan precisamente por una mayor potencia en gamma rápido (ver **R.2.2**; **Fig. 59C**). Esto no descarta que esa señal de seguridad se exprese efectivamente a través del comportamiento, pero resalta la importancia de analizar estas dinámicas oscilatorias en relación con eventos conductuales bien definidos, y no simplemente en función de la respuesta al estímulo condicionado, como suele hacerse en muchos estudios previos (Lesting et al., 2011; Likhtik et al., 2014; Stujenske et al., 2014, 2022; Chen et al., 2021; Totty et al., 2023).

Además, no puede descartarse una interpretación alternativa, aunque no excluyente, donde el gamma lento, que se expresó durante los eventos de *freezing* 4-Hz, reflejaría la activación de representaciones internas consolidadas, compatibles con la evocación de la memoria aversiva. En cambio, gamma rápido reflejaría un estado de vigilancia atencional, más que una señal de seguridad en sentido estricto. Esta interpretación alternativa surge de diversos estudios en HPC (Colgin et al., 2009; Tort et al., 2009; Schomburg et al., 2014), los cuales han caracterizado al gamma lento como una oscilación que transporta información internamente generada, y al gamma rápido como una oscilación asociada al procesamiento activo de entradas sensoriales y al foco atencional de estímulos relevantes del entorno, particularmente durante el aprendizaje o la anticipación de eventos con valor. Desde esta perspectiva, el aumento observado en IL podría estar reflejando un estado de procesamiento sensorial dirigido, que emerge en contextos donde el animal detecta cambios en la contingencia y analiza el nuevo entorno.

En conjunto, estos resultados aportan evidencia clara de que la evocación del miedo y su extinción se manifiestan en la red BLA-mPFC a través de dos configuraciones oscilatorias diferenciadas, cada una asociada a un estado conductual y emocional distinto. Al centrarse en los momentos comportamentales donde efectivamente se expresa la memoria, y no simplemente en la presentación de los estímulos condicionados, se logró una caracterización más precisa y funcionalmente relevante de las dinámicas cerebrales que subyacen a la persistencia e inhibición del miedo. Esta aproximación

permitió revelar no solo las diferencias de estado a nivel oscilatorio, sino también la organización temporal y regional de dichos cambios, enfatizando el papel jerárquico de ciertas subregiones como el IL en la reconfiguración de la red. En conjunto, esta estrategia empírica y conceptual representa una contribución significativa a los modelos actuales de memoria emocional (Headley y Paré, 2013; Janak y Tye, 2015; LaBar y Cabeza, 2006; LeDoux, 2000) al ofrecer un marco integrador entre la actividad cerebral, la conducta y el aprendizaje.

Dos formas de *freezing*, caracterizadas por su perfil oscilatorio, representan estados funcionales diferenciados durante la evocación y la extinción del miedo.

Una de las observaciones más destacadas de este trabajo fue que la conducta de *freezing* no constituye un estado fisiológico uniforme, sino que puede manifestarse a través de configuraciones oscilatorias distintas, incluso dentro de una misma fase experimental (ver **R.2.3**). La variabilidad de estos eventos ya había sido reportada en estudios previos (Han et al., 2023), aunque sin un análisis sistemático de sus implicancias funcionales. La dinámica espectral asociada los eventos de *freezing* mostró una variabilidad sistemática según el contexto en el que se manifiesta, lo que sugiere que una misma conducta observable puede estar sustentada por diferentes estados cerebrales internos. A pesar de que cada episodio individual de *freezing* mostró un perfil oscilatorio robusto y consistente a lo largo del tiempo y entre regiones, se identificaron dos formas principales de estos: aquellos enriquecidos en 4-Hz (*freezing* 4-Hz) y aquellos enriquecidos en theta (*freezing* theta). Ambos presentaron niveles comparables de inmovilidad, lo que confirma que son conductualmente similares. Sin embargo, sus perfiles espectrales diferenciados indican que corresponderían a estados fisiológicos distintos. Esta distinción permitió analizar por separado las características funcionales de cada tipo de *freezing*, con implicancias directas sobre cómo se procesa y regula el miedo en cada fase del aprendizaje.

Desde el punto de vista neurofisiológico, los resultados mostraron diferencias claras entre los dos tipos de *freezing*. El *freezing* más prevalente fue el *freezing* 4-Hz (**Fig. 59A**), que se asoció con una mayor potencia de la banda de 4-Hz en la BLA, el PL y el IL, acompañada por una supresión de la actividad theta, replicando el perfil oscilatorio reportado en trabajos previos durante la expresión del *freezing* (Karalis et al., 2016; Han et al., 2023). En contraste, el *freezing* theta (**Fig. 59C**) presentó un patrón opuesto, con mayor potencia en theta y una reducción relativa en 4-Hz, lo que sugiere que este segundo tipo podría corresponder a un estado fisiológico distinto, quizás más ambiguo o transicional, vinculado a la reevaluación emocional o a procesos de inhibición de la respuesta de miedo. Notablemente, ambos tipos de *freezing* compartieron una disminución marcada en la potencia de gamma rápido en las tres regiones analizadas, un resultado consistente con estudios previos que asocian a los aumentos de la potencia en esta banda con la codificación de un estado de seguridad (Likhtik et al., 2014; Stujenske et al., 2014). En fases más tempranas de evocación del miedo, donde el *freezing* era más frecuente, predominaron los episodios de *freezing* 4-Hz, posiblemente relacionados con la expresión activa de la memoria de miedo. A medida que avanzó la extinción, no solo disminuyó la ocurrencia general del *freezing*, sino que también emergieron con mayor frecuencia eventos clasificados como *freezing* theta, los cuales podrían representar un estado de transición entre la expresión del miedo y su inhibición. En este contexto, el patrón theta podría reflejar procesos de reevaluación o incluso codificación del aprendizaje de extinción. Esta reconfiguración en la dinámica oscilatoria muestra que los patrones oscilatorios no solo codifican la presencia o ausencia de *freezing*, sino que permiten distinguir entre distintas configuraciones emocionales subyacentes a una misma conducta observable.

Aunque estos dos tipos de *freezing* no mostraron diferencias en términos de inmovilidad general o aceleración, es posible que presenten distinciones en otras dimensiones del comportamiento o en variables fisiológicas que no fueron registradas en esta tesis. La aparente homogeneidad conductual

podría ocultar diferencias sutiles si se consideran medidas complementarias asociadas a la expresión del miedo, como la frecuencia cardíaca (Liu et al., 2013, 2014; Rorick et al., 2004; Zhang et al., 2019), las vocalizaciones ultrasónicas (Alexandrov et al., 2023; Olszyński et al., 2021, 2023; Wöhr et al., 2005), el tono muscular (Koutsikou et al., 2014; Roelofs et al., 2017), la dilatación pupilar (Sun et al., 2024), o incluso patrones de microexpresiones faciales o posicionamiento de las vibrisas (Carvell y Simons, 1990; Grant et al., 2009). El uso de estas métricas podría revelar correlatos periféricos específicos para cada tipo de *freezing*, ayudando a vincular con mayor precisión los estados oscilatorios diferenciados con estados comportamentales subyacentes. Aun así, estos resultados constituyen una contribución original al estudio de las memorias aversivas, mostrando que la conducta de *freezing* puede ser sostenida por estados oscilatorios diferenciados que reflejan el grado de activación o inhibición de la memoria de miedo. Esto no solo profundiza lo propuesto por trabajos previos (Karalis et al., 2016; Ozawa et al., 2020; Han et al., 2023), sino que permite abrir nuevas preguntas sobre los mecanismos de transición entre estados defensivos y su modulación luego de la extinción.

El flujo de información y la sincronización entre la BLA y la mPFC se reorganiza según el avance de la extinción del miedo y el comportamiento que expresa el animal.

La interacción entre la BLA y la mPFC, ha sido extensamente estudiada en el contexto del miedo condicionado. Varios estudios han demostrado que el flujo de información entre estas estructuras no es unidireccional ni estático, sino que se reorganiza dinámicamente según el valor del estímulo, la etapa del aprendizaje y el comportamiento expresado (Popa et al., 2010; Likhtik et al., 2014; Stujenske et al., 2014; Karalis et al., 2016; Han et al., 2023). Sin embargo, son pocos los trabajos que han abordado estas dinámicas diferenciando explícitamente entre las subregiones prefrontales, el PL y el IL, a pesar de sus roles funcionales distintos en la expresión e inhibición del miedo.

Además de los cambios locales en la potencia oscilatoria, la evocación y extinción del miedo se asociaron con una reorganización dinámica de la interacción entre la BLA y la mPFC, que incluyó variaciones tanto en la direccionalidad del flujo de información como en los modos de sincronización (ver **R.2.4**). Esta reorganización fue dependiente del estado conductual del animal, de la fase del aprendizaje y de la banda de frecuencia analizada, reflejando la flexibilidad dinámica del circuito cortico-límbico. Durante la expresión del *freezing* 4-Hz, se observó una direccionalidad en donde el flujo predominante de la oscilación de 4-Hz era desde el IL hacia la BLA. Este resultado resulta llamativo si se considera el rol clásico del IL como una estructura vinculada principalmente a la supresión del miedo (Milad y Quirk, 2002; Milad et al., 2009; Senn et al., 2014). Sin embargo, más que indicar una participación activa del IL en la expresión del miedo, esta direccionalidad podría reflejar un proceso paralelo vinculado a la reevaluación de la valencia emocional. En línea con esta interpretación, se ha observado una direccionalidad similar IL→BLA en la misma banda de 4-Hz durante el consumo de la recompensa, momento en el que el animal recibe información relevante del estímulo y actualiza el valor apetitivo del mismo. Así, el IL podría estar transmitiendo información a la BLA para inducir una reevaluación del estado emocional, especialmente en contextos ambiguos donde no está claro si la amenaza persiste. La inversión del flujo hacia una interacción bidireccional en fases más avanzadas de la extinción, junto con la disminución de la proporción de eventos de *freezing* 4-Hz, refuerza la idea de que esta conectividad descendente es transitoria y dependiente del estado emocional. Por otro lado, durante el *freezing* theta, comportamiento que emerge con el avance de la extinción del miedo, se observó una direccionalidad en la banda theta desde la BLA hacia ambas subregiones prefrontales luego de la extinción, lo cual sugiere un rol más activo de la BLA durante este estado comportamental, posiblemente llevando información ya integrada en la BLA y en línea con su función propuesta como nodo de decisión que asigna valor emocional a los estímulos y modula la actividad de estructuras corticales en función de esa evaluación (Herry et al., 2008; Janak y Tye, 2015; Namburi et al., 2015; Beyeler et al., 2018). Es interesante remarcar que,

durante los episodios de movimiento, otro evento conductual donde también hay predominio theta, el flujo de información en esta banda fue inicialmente bidireccional, y en fases de extinción dirigido desde el IL hacia la BLA. Este patrón contrasta con la direccionalidad observada durante el *freezing* theta, lo que refuerza la idea de que la direccionalidad BLA → mPFC en theta no representa un rasgo general de esta frecuencia, sino un mecanismo específico durante el *freezing* theta que podría estar vinculado al envío de información sobre la valencia emocional nuevamente hacia la mPFC, luego de haber sido integrada en la BLA.

Este patrón de flujo también estuvo presente en gamma lento, donde predominó la direccionalidad BLA → PL. Esta direccionalidad podría reflejar la transmisión hacia el PL de señales ya procesadas en la BLA, vinculadas a la evaluación emocional, especialmente durante el *freezing* 4-Hz. En este contexto, la BLA estaría modulando la actividad del PL en función del valor emocional previamente integrado, facilitando o inhibiendo la expresión del miedo (Senn et al., 2014; Likhtik y Paz, 2015), en línea con el rol atribuido al PL como mediador de la expresión del *freezing* (Duvarci et al. 2011; Duvarci y Paré, 2014). Por otro lado, en la banda de gamma rápido, además de presentar la direccionalidad BLA → PL, se observó una direccionalidad predominante IL → BLA, lo que indicaría que el IL influye activamente sobre la BLA en esta banda, posiblemente destinadas a guiar la evaluación en la BLA y facilitar la toma de decisión sobre la ejecución o supresión de la respuesta de miedo, especialmente en fases avanzadas de extinción, también en línea con el rol del IL en la adquisición y consolidación de la memoria de extinción (Milad y Quirk, 2002; Milad et al., 2009; Senn et al., 2014). Una interpretación alternativa, pero no excluyente, basada en estudios en HPC (Colgin et al., 2009; Carr et al., 2012; Schomburg et al., 2014), plantea que el gamma lento transportaría información internamente generada, como memorias ya consolidadas, mientras que el gamma rápido refleja el procesamiento de entradas sensoriales y atención dirigida. Desde esta perspectiva, la direccionalidad BLA → PL en gamma lento podría indicar la transmisión de representaciones emocionales desde la BLA para guiar la conducta, mientras que el flujo IL → BLA en gamma rápido señalaría un control descendente atencional que ajusta la evaluación emocional en función del contexto.

Complementariamente, los análisis de sincronización en la red BLA-mPFC revelaron dos modos distintos de acoplamiento (ver **R.2.4**). Por un lado, se observó una coherencia más alta entre la BLA y el PL en todas las bandas de frecuencia, lo que indica una mayor consistencia en la relación de fase y amplitud entre estas regiones, posiblemente vinculada al mantenimiento de la expresión del miedo (**Fig. 59B**). Por otro lado, el acoplamiento de fase (PLV) fue más alto entre la BLA y el IL, especialmente en la banda de gamma lento, lo que sugiere una sincronización más precisa, compatible con un control más fino de la actividad en la BLA (**Fig. 59B**). Esta disociación funcional podría implicar que, mientras el PL participa de manera continua en la expresión del miedo, en consonancia con su mayor coherencia con la BLA (Senn et al., 2014; Likhtik y Paz, 2015), el IL actúa como un modulador más flexible, cuya participación se ajusta según el contexto, la fase del aprendizaje y las demandas comportamentales, sugiriendo un rol más dinámico en la evaluación de la valencia emocional durante la extinción (Vertes et al., 2004).

En conjunto, estos resultados aportan evidencia concreta para abordar el objetivo de analizar la interacción entre la BLA y las regiones PL e IL durante la evocación y extinción de memorias aversivas. Los datos muestran que estas dinámicas se reorganizan de forma sistemática según el comportamiento y la etapa del aprendizaje, mostrando patrones de direccionalidad y sincronización específicos que dependen de la región cerebral y de la banda de frecuencia activa en determinado momento. Durante la evocación del miedo y la expresión del *freezing* 4-Hz, predomina un flujo desde IL hacia BLA en 4-Hz, mientras que, en contextos de extinción avanzada y con la expresión del *freezing* theta y el movimiento, la dinámica funcional se reorganizó y fue canalizada principalmente por la banda theta. Estos resultados indican que la transición entre la expresión e inhibición del miedo no depende únicamente de la actividad local, sino también de cómo se redistribuye el flujo de

información entre nodos clave del circuito, y de qué tipo de ritmo oscilatorio estructura esa comunicación funcional.

Las neuronas de la BLA codifican los estímulos y el comportamiento, se acoplan dinámicamente a las oscilaciones de la mPFC y reorganizan su actividad durante la extinción del miedo.

La BLA es una estructura clave en la codificación de memorias emocionales, no solo por su rol en la adquisición y expresión del miedo, sino por su capacidad para adaptarse dinámicamente a cambios emocionales, comportamentales y de aprendizaje (Herry et al., 2008; Janak y Tye, 2015). Los resultados de esta tesis muestran que la BLA contiene subpoblaciones neuronales funcionalmente especializadas que responden selectivamente a los estímulos condicionados y a los distintos estados comportamentales, y que además se acoplan a las oscilaciones relevantes de cada contexto emocional, modulando su actividad con la extinción del miedo.

Un primer resultado relevante fue que una gran proporción de las neuronas de la BLA respondió de forma significativa y diferenciada tanto a los estímulos condicionados como a los distintos estados comportamentales (ver **R.2.7**). En particular, varias neuronas discriminaron entre los dos tipos de *freezing* (enriquecidos en 4-Hz o theta) y entre *freezing* y movimiento, mientras que otras codificaron más de una de estas dimensiones, sugiriendo una codificación a la vez específica y multidimensional de la experiencia emocional en esta región. Estos resultados confirman que la BLA discrimina no solo entre estímulos, sino también entre distintas expresiones comportamentales, posiblemente representando distintos grados de amenaza, ambigüedad o seguridad en subpoblaciones neuronales específicas. Otro aporte importante fue que, a lo largo del proceso de extinción, las neuronas de la BLA reorganizan su patrón de actividad, mostrando cambios en la selectividad y en la respuesta frente a los estímulos y los comportamientos. Esta reorganización progresiva sugiere que la BLA actualiza su codificación en función de la experiencia y del valor emocional atribuido a la expresión comportamental, en línea con modelos de plasticidad dinámica propuestos en el marco del miedo condicionado (Duvarci y Paré, 2014; Maren, 2015). Estos resultados se alinean con estudios previos que han identificado poblaciones neuronales en la BLA especializadas en codificar valencias opuestas, y cuya dinámica puede reorganizarse durante la extinción para favorecer representaciones asociadas a la seguridad o el valor positivo (Herry et al., 2008; Burgos-Robles et al., 2017; Zhang et al., 2020).

Las neuronas de la BLA que respondieron durante los distintos estados comportamentales también mostraron una relación con las oscilaciones corticales, acoplándose a la fase de los distintos ritmos registrados en el PL y el IL. Este acoplamiento fue dependiente del comportamiento, lo que indica que la BLA no opera de forma autónoma, sino que ajusta su excitabilidad según el ritmo dominante del sistema, en línea con trabajos que plantean una sincronización jerárquica entre oscilaciones y un disparo neuronal acoplado a dichas oscilaciones (Siapas et al., 2005; Amir et al., 2018). Además, en el PL, el acoplamiento a gamma lento y gamma rápido tendió a concentrarse en las mismas neuronas, mientras que en el IL estas bandas reclutaron subpoblaciones claramente diferenciadas. Esta organización sugiere que el IL ejerce una modulación más específica sobre la BLA, posiblemente mediante la selección de canales oscilatorios distintos para activar poblaciones neuronales particulares, facilitando así la representación de estados emocionales diferenciados. Esta selectividad es consistente con la mayor precisión en el acoplamiento de fase observado entre el IL y la BLA, así como con la direccionalidad funcional desde el IL hacia la BLA durante ciertos comportamientos (ver **R.2.4**), lo que refuerza la idea de que el IL sincroniza su actividad con la BLA de manera precisa y dirigida para modular dinámicamente estas subpoblaciones neuronales diferenciadas. Esta observación sugiere un modelo donde el acoplamiento oscilatorio actúa como

una señal de control cortical, organizando cuándo y cómo la BLA puede responder a distintas señales emocionales (Schönfeld et al., 2019; Okonogi et al., 2021).

En conjunto, estos resultados muestran que las neuronas de la BLA no solo participan en la codificación y expresión del miedo, sino que reconfiguran activamente su respuesta a lo largo de la extinción, adaptándose tanto al valor de los estímulos como a las demandas conductuales. Su acoplamiento con oscilaciones corticales permite hipotetizar que la BLA actúa como un nodo modulable dentro de la red cortico-límbica (**Fig. 59B**), capaz de cambiar de estado según el ritmo dominante y el contexto emocional. Este tipo de codificación flexible podría ser clave para entender tanto la persistencia del miedo patológico como los mecanismos que permiten su extinción.

La dinámica oscilatoria en la red BLA-mPFC refleja la transición desde la expectativa de la recompensa hacia la extinción de la memoria apetitiva.

Los resultados obtenidos en el paradigma apetitivo (ver **R.4.1**) muestran, al igual que lo que ocurre en el paradigma aversivo, que la red BLA-mPFC no opera bajo una dinámica oscilatoria fija, sino que se reorganiza en función del valor motivacional del estímulo y de la expresión de la conducta, lo cual va en línea con el rol flexible y adaptativo propuesto para estas regiones en la codificación apetitiva (Wassum y Izquierdo, 2015; Malvaez et al., 2019). Esta reorganización no solo distingue entre la presencia y ausencia de la recompensa, sino que también refleja la transición que se da durante la extinción de la memoria entre los estados de expectativa de la recompensa y cumplimiento de la expectativa, en línea con el rol propuesto para estos circuitos en la actualización de estados afectivos según los resultados obtenidos o esperados (Burgos-Robles et al., 2017; Tye, 2018). Esta tesis demuestra que los distintos ritmos oscilatorios se combinan de forma flexible para codificar el valor de la experiencia, y que esta codificación se actualiza a lo largo del proceso de extinción de la memoria. Estos patrones dinámicos se observaron de manera consistente en las tres regiones analizadas, lo que sugiere una participación coordinada de toda la red en la representación y actualización del valor apetitivo, de manera similar a lo que se vio en el paradigma aversivo. La red BLA-mPFC parece organizar la información a través de patrones oscilatorios diferenciados, en los que la actividad en gamma rápido junto con la disminución de la potencia en las otras frecuencias marca estados de alta motivación y atención dirigida a la obtención de la recompensa, en línea con estudios que vinculan a gamma rápido con estados de vigilancia durante tareas de forrajeo y en paradigmas de condicionamiento de preferencia asociado a la heroína (Amir et al., 2018; Zhu et al., 2019), y en línea también con estudios en el HPC que asocian el gamma rápido con la transmisión de señales sensoriales desde la corteza entorrinal y con la codificación de nueva información durante el aprendizaje (Colgin et al., 2009; Tort et al., 2009; Schomburg et al., 2014). Este patrón se diferencia del patrón theta-gamma que se observa durante los movimientos espontáneos, el cual reflejaría más bien un estado general de activación motora. Por otro lado, el patrón conjunto de 4-Hz, beta y gamma lento refleja momentos de obtención de esa recompensa, en línea con estudios que describen una actividad coordinada entre 4-Hz y beta en comportamientos apetitivos (Clarke-Williams et al., 2024). Durante el consumo de la recompensa, la oscilación beta aparece como una actividad muy marcada, en línea con el rol propuesto en la codificación del valor de la misma (Koloski et al., 2022; Amaya et al., 2024). En particular, la actividad en gamma lento señalaría el cumplimiento de la expectativa tanto cuando se obtiene esta recompensa como cuando, tras la extinción de la memoria apetitiva, el animal ya no espera la recompensa y esta no llega. Esta dinámica es coherente con el rol atribuido al gamma lento en HPC en transmitir información internamente generada, como la recuperación de memorias consolidadas o la activación de representaciones emocionales aprendidas (Colgin et al., 2009; Carr et al., 2012), en este caso vinculadas tanto a la memoria apetitiva como a la memoria de extinción. Esta disociación sugiere una arquitectura jerárquica, en la que las distintas bandas de frecuencia conforman patrones que actúan como marcadores funcionales de estados afectivos y

motivacionales particulares. A nivel funcional, la extinción de la memoria apetitiva no implica una simple disminución de la respuesta, sino una reconfiguración activa del sistema, en la que el circuito abandona patrones asociados al consumo para adoptar nuevas configuraciones compatibles con la ausencia de la recompensa y el cumplimiento de una expectativa en donde el CS ya no predice la llegada del US.

El patrón general observado en estos resultados (ver **R.4.1**) permite pensar que la dinámica oscilatoria del sistema BLA-mPFC codificaría no solo el valor apetitivo de la memoria, sino también el resultado emocional de la conducta en tiempo real, facilitando su actualización. Esta organización rítmica permitiría al sistema ajustar su funcionamiento ante cambios en la contingencia estímulo-recompensa, mostrando que la memoria apetitiva, al igual que la aversiva, se sustenta en mecanismos cerebrales que integran el estado interno del organismo con el contexto externo (Paton et al., 2006; Gordon y Scott, 2021). Así, la actividad oscilatoria sería un componente central en la regulación de la motivación, la toma de decisiones y el aprendizaje emocional flexible.

Durante la extinción de la memoria apetitiva, la interacción entre la BLA y la mPFC se reorganiza en un flujo bidireccional, con un acoplamiento más preciso entre la BLA y el IL.

La interacción entre la BLA y las subregiones prefrontales ha demostrado ser dinámica y dependiente del valor del estímulo y del estado conductual, especialmente en el contexto del miedo condicionado, donde se ha documentado una reorganización del flujo de información y de los patrones de sincronización a través de la expresión conductual del miedo durante el aprendizaje y la extinción, como se describió en los resultados presentados esta tesis y como se ha documentado en diversos estudios (Likhtik et al., 2014; Stujenske et al., 2014; Karalis et al., 2016). Sin embargo, esta dinámica ha sido mucho menos explorada en el contexto de memorias apetitivas, donde aún no está claro si la red BLA-mPFC adopta una organización funcional similar o si se reclutan mecanismos diferenciados según la valencia emocional.

Los resultados de esta tesis muestran que, durante la evocación y extinción de memorias apetitivas, el circuito BLA-mPFC también presenta una reorganización funcional que involucra tanto la direccionalidad del flujo de información como los modos de sincronización entre regiones (ver **R.4.2**). Se observó que la comunicación entre la BLA y las subregiones prefrontales no es uniforme, sino que varía sistemáticamente según la banda de frecuencia analizada y la fase de la tarea. Durante el entrenamiento tardío, cuando los animales ya habían aprendido la asociación entre el estímulo condicionado (CS+) y la recompensa, se observó un patrón de control descendente desde el PL hacia la BLA en bandas lentas (4-Hz, theta y beta), y un marcado flujo desde el IL hacia la BLA en casi todas las bandas, salvo theta (bidireccional) y beta (BLA → IL). En cambio, en las bandas gamma lento y gamma rápido, se destacó una dirección opuesta, con un flujo ascendente desde la BLA hacia el PL. En el caso de gamma rápido, esta flujo de información podría representar la transmisión de información asociada con una valencia ya asignada en la BLA que se transmite hacia el PL, coherente con un rol activo de la BLA en guiar la conducta ante estímulos que predicen recompensa (Ambroggi et al., 2008; Beyeler et al., 2016; Burgos-Robles et al., 2017). Sin embargo, ya en la fase de *Extinción 1 Temprana*, cuando los animales aún muestran conducta de búsqueda, pero ya no reciben la recompensa, esta dirección funcional se diluye rápidamente. En particular, la direccionalidad BLA → PL en gamma rápido pierde fuerza y se vuelve bidireccional, lo que podría reflejar una reevaluación rápida del valor del estímulo o una disminución en la influencia de la BLA sobre el PL en esta fase. Esta pérdida temprana de direccionalidad sugiere que la interacción BLA-PL en gamma rápido podría ser un marcador específico del estado de expectativa durante el aprendizaje, y que su desaparición rápida indica una transición funcional del sistema frente a la omisión del refuerzo. En contraste, el IL mantuvo sus patrones de direccionalidad en la mayoría de las bandas durante esta etapa, lo que podría señalar una función más estable en la modulación del circuito durante la extinción. Este

cambio es coherente con lo observado en el paradigma aversivo, donde también se documentó una modulación del flujo de información durante la extinción del miedo. En ambos casos, esta reorganización refleja una actualización del valor emocional del estímulo y refuerza la idea de que el sistema corticolímbico ajusta dinámicamente su configuración en función del estado conductual del animal y de la nueva contingencia estímulo-refuerzo. En términos de sincronización, la coherencia, como índice de acoplamiento global, mostró valores similares entre BLA–PL y BLA–IL en la mayoría de las bandas, lo que sugiere una coordinación en fase y amplitud con ambas regiones. Sin embargo, en la banda de gamma lento se observó una mayor coherencia entre la BLA y el PL, lo que podría estar asociado al cumplimiento de la expectativa durante el consumo de la recompensa. Esta posibilidad es consistente con el rol del PL en la expresión de respuestas condicionadas ante recompensas esperadas (**Fig. 59B**; Burgos-Robles et al., 2009; Moorman et al., 2015; Otis et al., 2017). En este sentido, el aumento de coherencia en gamma lento entre la BLA y el PL podría reflejar una integración dinámica que favorece el acceso a representaciones internas previamente aprendidas, como la memoria de la recompensa, facilitando su expresión conductual. Esta interpretación es coherente con estudios realizados en el HPC que vinculan al gamma lento con la recuperación de información internamente generada, como en el caso de la reactivación de engramas durante el *replay* o la evocación de contextos familiares (Colgin et al., 2009; Carr et al., 2012), y sugiere que, en este caso, la red BLA-PL estaría utilizando esa señal oscilatoria para evocar esa representación. Por otro lado, el PLV reveló un patrón diferencial, donde el acoplamiento de fase fue sistemáticamente mayor entre la BLA y el IL, particularmente en las bandas theta, beta y ambos gamma, pero con un aumento muy marcado para el caso de gamma lento. Este patrón sugiere que, más allá de la conexión general entre regiones, el IL establece una sincronización temporal más precisa con la BLA (**Fig. 59B**), lo que podría reflejar un mecanismo de control cortical más ajustado y sensible al estado motivacional. Este perfil se asemeja al documentado en el paradigma aversivo, donde también se observó que el PLV fue más alto entre la BLA y el IL, sobre todo para gamma lento. Esto sugiere que el IL actuaría como un modulador flexible, encargado de reevaluar la relevancia del estímulo y de suprimir respuestas aprendidas cuando las contingencias cambian (**Fig. 59B**), en línea con su rol en la extinción de memorias apetitivas y en la inhibición de conductas dirigidas a la recompensa (Peters et al., 2009; Burgos-Robles et al., 2013; Caballero et al., 2019).

En resumen, estos resultados permiten integrar la evidencia del paradigma apetitivo con lo observado en el aversivo, confirmando que la red BLA-mPFC mantiene una arquitectura funcional general que se adapta dinámicamente según la valencia del estímulo y la etapa del aprendizaje. Además, refuerzan el rol jerárquico del IL como nodo clave en la reorganización de la red frente a cambios en el valor emocional del contexto, cumpliendo una función crítica tanto en la inhibición del miedo como en la extinción de respuestas motivadas por recompensa. Así, esta reorganización del flujo de información y del acoplamiento preciso entre regiones ofrece un marco integrador para comprender cómo el cerebro ajusta sus redes funcionales en función de las demandas emocionales y conductuales.

Las neuronas de la BLA también codifican los eventos apetitivos y reorganizan su respuesta durante la extinción de la memoria apetitiva.

En esta tesis se mostró que las neuronas de la BLA codifican de manera activa y diferenciada los eventos del paradigma apetitivo, incluyendo tanto los estímulos condicionados como los comportamientos dirigidos a la obtención de la recompensa (ver **R.4.5**). De forma análoga a lo observado en el paradigma aversivo, la codificación se da a nivel de la respuesta de estas neuronas a los distintos eventos, pero también a nivel del acoplamiento a los ritmos oscilatorios del circuito BLA-mPFC. Además, las representaciones neuronales en la BLA no permanecen estáticas, sino que

se reorganizan dinámicamente a lo largo de la extinción, reflejando una actualización del valor apetitivo de los estímulos según el contexto y el aprendizaje de extinción.

Tal como se presentó en la introducción, la BLA cumple un rol clave en la codificación flexible del valor motivacional de los estímulos, tanto aversivos como apetitivos (Baxter y Murray, 2002; Janak y Tye, 2015). En línea con esta idea, los resultados presentados en esta tesis muestran que un porcentaje significativo de neuronas de la BLA respondió selectivamente al CS+, al CS- o a ambos, y que esta codificación cambió sistemáticamente con la extinción. La proporción de neuronas que respondían disminuyó, y aquellas que conservaron su respuesta lo hicieron de forma más selectiva, lo que refleja una reorganización funcional orientada a ajustar la representación del estímulo a su nuevo valor emocional. Este patrón se observa también frente a los eventos comportamentales, donde la proporción de neuronas que respondían a la entrada al puerto disminuyó progresivamente durante la extinción, sugiriendo que la BLA no solo discrimina entre estímulos, sino que también ajusta su actividad frente a cambios en la valencia atribuida a determinadas conductas.

En cuanto al acople de la actividad neuronal a la fase de las oscilaciones registradas en el PL y el IL, vimos que esta modulación es específica del comportamiento, del momento del aprendizaje y de la banda de frecuencia. Durante el momento de consumo de la recompensa, se observó un acoplamiento significativo de las neuronas de la BLA a la fase de las oscilaciones beta registradas en ambas subregiones de la mPFC. Esta modulación podría estar facilitando la sincronización entre estructuras durante el consumo, en línea con la idea de que las oscilaciones beta participan en la representación del valor recibido (Amaya et al., 2024), y sugiere que podrían estar siendo reclutadas neuronas específicas de la BLA encargadas de codificar dicho valor. Este resultado, integrado con la direccionalidad de beta desde el PL hacia la BLA sugiere que esta subregión cortical podría estar reclutando una población específica de neuronas de la BLA encargadas de esta codificación. A su vez, la direccionalidad desde la BLA hacia el IL permitiría que esta información ya integrada pueda ser transmitida de regreso a la corteza, posiblemente para actualizar el estado interno del animal o guiar respuestas adaptativas en función del resultado obtenido. Además, el PL reclutó una mayor proporción de neuronas acopladas a gamma, mientras que el IL lo hizo de forma más selectiva. A su vez, se observó que estas neuronas se acoplan diferencialmente a las oscilaciones de 4-Hz en el PL y el IL, disparando en fases distintas del ciclo, lo que sugiere que ambas subregiones modulan la actividad de la BLA de manera dependiente de la fase, y esto podría implicar una segmentación temporal de funciones, en la que el PL y el IL podrían transmitir información distinta en momentos diferenciados del ciclo oscilatorio (por ejemplo: expresión de la conducta, evaluación del resultado, inhibición de la conducta cuando cambia el valor de la recompensa). Este patrón sugiere que la mPFC regula la excitabilidad de las neuronas de la BLA mediante un mecanismo oscilatorio jerárquico, consistente con lo observado en el paradigma aversivo y con modelos de codificación temporal basados en fase (Siapas et al., 2005; Amir et al., 2018).

Estos resultados respaldan la idea de que la BLA actúa como un nodo dinámico dentro del sistema límbico, integrando el valor emocional, la experiencia previa y el estado comportamental para guiar la conducta. Esta flexibilidad en la codificación y en su sincronización con la mPFC permite que la BLA represente no solo la presencia del estímulo, sino también el valor que tiene en ese momento y cómo debería responder comportamentalmente en consecuencia. Esta capacidad se sostiene, en parte, en el acoplamiento de las neuronas de la BLA a las distintas oscilaciones de la red, lo que sugiere que los ritmos oscilatorios no solo reflejan el estado del sistema, sino que actúan como canales de comunicación que regulan qué neuronas se activan, cuándo lo hacen y cómo se propaga la información. Esta propiedad de reorganización adaptativa resulta central tanto para la persistencia de las memorias apetitivas como para su extinción, y puede ser clave para entender por qué algunas memorias disfuncionales, como las asociadas a trastornos de adicción, resultan tan resistentes al cambio.

El ritmo respiratorio se alinea a las oscilaciones dominantes del circuito BLA-mPFC durante la expresión de las memorias emocionales.

Más allá de su función fisiológica básica, la respiración cumple un rol clave en la modulación de la actividad cerebral. En modelos animales, se ha demostrado que el ritmo respiratorio se alinea a las oscilaciones neuronales en múltiples regiones, incluyendo la BLA y la mPFC, influyendo en la organización temporal de la actividad cerebral (Tort et al., 2018; Bagur et al., 2021; Karalis y Sirota, 2022). En esta tesis, esta relación se expresó de manera dependiente del estado conductual: durante el *freezing* 4-Hz, predomina una respiración lenta y regular, asociada a oscilaciones en torno a 4-Hz, mientras que en contextos de exploración o anticipación de la recompensa se impone un ritmo respiratorio más rápido, vinculado a la actividad theta (ver **R.2.6** y **R.4.4**). Este vínculo entre la respiración y las oscilaciones sugiere que los ritmos respiratorios podrían servir como marcos de referencia para sincronizar la actividad en circuitos implicados en la codificación y evocación de memorias emocionales (Karalis y Sirota, 2022; Tort et al., 2025). En ambos paradigmas emocionales, tanto el aversivo como el apetitivo, se observaron asociaciones sistemáticas entre los patrones respiratorios y las oscilaciones cerebrales. La respiración lenta, característica de estados de *freezing* 4-Hz o de consumo de la recompensa, se acompañó de oscilaciones en la banda de 4-Hz en la red BLA-mPFC. Por el contrario, en fases dominadas por la exploración o la expectativa de la recompensa, predominó una actividad theta sostenida, consistente con una respiración más rápida también en el rango de theta. A pesar de que los registros respiratorios se obtuvieron en un número reducido de animales, la correspondencia entre el ritmo respiratorio y las oscilaciones cerebrales se expresó de manera coherente en la red BLA-mPFC, reflejando una modulación conjunta por el estado comportamental del animal y la valencia del estímulo (McAfee et al., 2016; Liu y Han, 2022). La respiración emerge como un modulador rítmico que estructura la dinámica cerebral en función del estado emocional y conductual (Lockmann et al., 2016; Tort et al., 2021). La transición entre ritmos respiratorios se acopla a la reorganización oscilatoria de la red BLA-mPFC, permitiendo al sistema ajustar su actividad según las demandas del entorno. Esta integración sugiere que la respiración no solo acompaña el comportamiento emocional, sino que lo regula activamente en el tiempo (Zhong et al., 2017; Bagur et al., 2021), facilitando la sincronización entre regiones cerebrales clave para la memoria emocional.

Dos canales gamma con acoplamientos diferenciados reflejan una organización jerárquica y temporal de la evocación de las memorias emocionales y su extinción.

Desde un marco teórico, el acoplamiento de fase-amplitud (PAC) ha sido propuesto como un mecanismo jerárquico que permite coordinar la excitabilidad neuronal en múltiples escalas temporales, facilitando la integración entre señales globales lentas y el procesamiento local rápido (Canolty et al., 2006; Belluscio et al., 2012; Lisman y Jensen, 2013). En particular, se ha planteado que las oscilaciones lentas, al modular selectivamente la amplitud de oscilaciones rápidas, organizan "ventanas de oportunidad" para la transmisión sincrónica de información (Tort et al., 2010). Estudios previos han documentado patrones específicos de PAC en la BLA y la mPFC durante tareas de miedo y extinción (Stujenske et al., 2014; Karalis et al., 2016), aunque sin distinguir sistemáticamente entre regiones prefrontales.

En esta tesis se muestra que, durante el *freezing* 4-Hz, existe una modulación de la fase de 4-Hz sobre la amplitud de gamma lento y gamma rápido en la BLA, el PL y el IL, con una modulación más fuerte en el IL, y una segregación de fase: gamma lento acoplado al valle y gamma rápido al pico del ciclo de 4-Hz. En cambio, durante el *freezing* theta y el movimiento, el acoplamiento fue específico del IL y para la interacción theta-gamma rápido, con un aumento progresivo a lo largo de la extinción

durante el *freezing* theta (ver **R.2.5**). Este aumento progresivo de la modulación theta-gamma rápido en el IL durante la extinción sugiere que theta actúa modulando de forma creciente la actividad de gamma rápido, marcando una transición funcional desde el miedo hacia la seguridad. En este contexto, el *freezing* theta emerge como un estado intermedio clave, en el que se expresa esta reorganización dinámica, actuando como mediador del cambio de valencia emocional. Esta dinámica refleja un control *top-down* del IL sobre la BLA y podría estar vinculada a la codificación activa del nuevo estado interno aprendido durante la extinción. De forma análoga, durante la evocación de la memoria apetitiva, se observó un patrón complementario de modulación fase-amplitud en las mismas regiones (ver **R.4.3**). La fase de theta moduló significativamente la amplitud de gamma rápido durante las entradas al puerto asociadas al CS+, con una modulación más intensa en el IL. Además, durante las entradas posteriores al CS+, la fase de 4-Hz moduló tanto gamma lento como gamma rápido en PL e IL, mientras que en la BLA solo se observó para gamma lento. También se replicó el desacople de fase observado en el paradigma aversivo, donde gamma lento se acopló al valle de la oscilación de 4-Hz y gamma rápido al pico, lo que indica un patrón temporalmente segregado y jerárquico de integración oscilatoria. Esta dinámica regional y comportamental refuerza la idea de que el PAC no es un fenómeno uniforme, sino que se adapta al estado emocional y a la fase del aprendizaje. El acoplamiento 4-Hz-gamma se asocia con estados de expresión del miedo o de consumo de la recompensa, mientras que el acoplamiento theta-gamma rápido en IL se vincula con estados de seguridad, inhibición del miedo o expectativa positiva. La selectividad del IL para sostener este tipo de acoplamiento, sumada a su aumento progresivo durante la extinción, sugiere una forma de plasticidad oscilatoria específica de esta región. A diferencia del PL, donde el PAC se mantuvo estable, el IL parece reorganizar su acoplamiento de alta frecuencia según el nuevo valor emocional del contexto. Esta función no ha sido explorada extensamente en la literatura y abre nuevas preguntas sobre el papel activo del IL en la actualización emocional.

Los resultados de ambos paradigmas revelan que el PAC organiza la actividad oscilatoria en forma dinámica, adaptada tanto a la valencia del estímulo como al estado conductual del animal. En particular, el IL aparece como una estructura clave que ajusta de manera diferencial sus patrones de acoplamiento según el contexto emocional y la etapa del aprendizaje. Así, los dos canales gamma no solo reflejarían funciones distintas, sino que se modulan con precisión por ritmos lentos relevantes según el contexto (4-Hz o theta), configurando un sistema jerárquico flexible que regula la persistencia o la inhibición de las memorias emocionales.

Si bien las memorias de valencia opuesta comparten una arquitectura oscilatoria general basada en dos canales principales de información, expresan diferencias marcadas en su dinámica.

A lo largo de esta tesis se observó que tanto las memorias aversivas como las apetitivas reclutan una arquitectura oscilatoria común centrada en la red BLA-mPFC, que se organiza en torno a dos patrones oscilatorios generales: uno centrado en la oscilación de 4-Hz, que se asocia con beta y gamma lento, y se expresa durante el *freezing* 4-Hz o el consumo de la recompensa (**Fig. 59A**); y otro organizado en torno a theta y gamma rápido, que se expresa durante estados como el *freezing* theta, el movimiento o la expectativa de la recompensa (**Fig. 59C**). Esta arquitectura dual funciona como un sistema de marcos temporales diferenciados, donde las oscilaciones de 4-Hz y theta estructuran la dinámica de la red BLA-mPFC en función del valor emocional y del estado conductual del animal. Sin embargo, a pesar de compartir una arquitectura oscilatoria común, la red BLA-mPFC reutiliza sus patrones de actividad para codificar valencias emocionales opuestas de forma diferenciada. En ambos paradigmas, las distintas oscilaciones estructuran la dinámica del sistema, pero se asocian a estados emocionales y roles funcionales distintos. Mientras que en el paradigma aversivo las oscilaciones de 4-Hz reflejan un estado de miedo y estructuran la expresión del *freezing*,

en el paradigma apetitivo esta misma oscilación acompaña el consumo de la recompensa. En ambos casos, el 4-Hz podría estar organizando dinámicamente la actividad neuronal en torno a la recuperación de representaciones internas consolidadas, como memorias de miedo o de recompensa. Del mismo modo, la actividad de gamma rápido aparece vinculada a la transición hacia la seguridad en el paradigma aversivo, pero a la expectativa de la recompensa en el apetitivo, lo que sugiere que esta oscilación podría reflejar un estado de vigilancia atencional o procesamiento sensorial dirigido, particularmente en situaciones donde el entorno es cambiante o incierto. Así, el mismo andamiaje oscilatorio es reconfigurado para representar distintos estados cognitivos, reclutando subpoblaciones neuronales diferenciales en la BLA que se encargan de procesar dicha valencia y de generar una salida comportamental acorde al contexto emocional. Además, en ambos paradigmas el IL mostró un rol particularmente destacado como nodo de acoplamiento con la BLA, tanto en el acoplamiento de fase entre ambas señales como en la modulación fase-amplitud. Estas diferencias resaltan la especialización funcional de las subregiones de la mPFC. Mientras que el PL parece facilitar la expresión conductual tanto del miedo como de la búsqueda de recompensa (**Fig. 59B**), el IL emerge como un nodo modulador dominante en ambas memorias, especialmente durante la fase de extinción. Su acoplamiento preferencial con la BLA, con una interacción precisa en múltiples bandas, sugiere un rol jerárquico en la reorganización del circuito frente al cambio de contingencia en la asociación CS-US previamente adquirida, cumpliendo una función central en la reevaluación y actualización del valor emocional durante la extinción de la memoria (**Fig. 59B**).

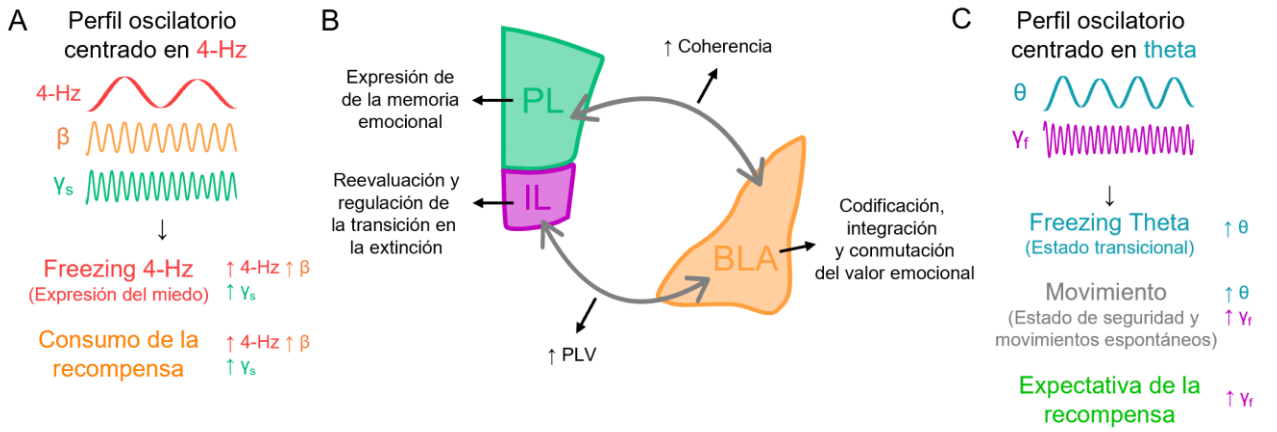


Figura 59. Dinámica oscilatoria de la red BLA-mPFC durante la evocación y extinción de memorias emocionales. A y C. Se identificaron dos configuraciones oscilatorias principales en la red BLA-mPFC: una centrada en 4-Hz, que se acompaña de beta (β) y gamma lento (γs), y que predomina durante el *freezing* 4-Hz y el consumo de la recompensa (**A**); y otra centrada en theta (θ), acompañada de gamma rápido (γf), que se expresa durante el *freezing* theta, el movimiento espontáneo y la expectativa de la recompensa (**C**). **B**. La red BLA-mPFC presenta una interacción diferenciada: la BLA codifica, integra y conmuta el valor emocional, con una interacción con el PL de mayor coherencia (↑ coherencia) vinculada a la expresión de la memoria, y una interacción precisa con el IL (↑ PLV) asociada a la reevaluación y regulación de la transición durante la extinción. A pesar de compartir una arquitectura oscilatoria común, las memorias aversivas y apetitivas reutilizan estos patrones para codificar valencias emocionales opuestas de forma diferencial y dinámica.

Estos resultados permiten demostrar que las memorias de valencia opuesta comparten una arquitectura oscilatoria general, con variaciones en la coordinación fina de estas. Además, convergen con modelos que proponen que la red BLA-mPFC opera como un sistema dinámico y jerárquico, capaz de reorganizarse mediante múltiples ritmos que actúan como canales paralelos de codificación (Buzsáki y Draguhn, 2004; Fries, 2005; Lisman y Jensen, 2013). Esta organización permite al cerebro integrar el estado interno del animal con la experiencia, ajustando su actividad de manera flexible

ante estímulos de valencia opuesta, y ofrece una base funcional para entender cómo se expresan o inhiben distintas memorias emocionales.

Conclusiones generales.

Esta tesis aporta evidencia empírica y conceptual sobre cómo se reorganiza la actividad oscilatoria y neuronal en la red BLA-mPFC durante la evocación y extinción de memorias emocionales, tanto aversivas como apetitivas. A través del análisis de los eventos conductuales específicos, asociados a la expresión de la memoria, se demostró que estas se sustentan en una arquitectura común basada en dos patrones oscilatorios característicos, pero expresan diferencias funcionales marcadas según la valencia y el contexto. La red corticolímbica no opera bajo un patrón fijo, sino que reorganiza su dinámica según el valor emocional del estímulo y el comportamiento expresado, revelando mecanismos jerárquicos y flexibles de codificación. En particular, se destaca el rol del IL como modulador de la red, caracterizado por una sincronización más precisa y adaptativa que la del PL, especialmente ante cambios en la contingencia entre estímulos o en el estado emocional del animal, lo cual se asocia con su participación en la extinción de memorias emocionales.

Estos resultados tienen importantes implicancias para la comprensión de la memoria emocional en condiciones normales y patológicas. Por un lado, profundizan el conocimiento sobre los mecanismos dinámicos que permiten al sistema nervioso codificar, expresar e inhibir memorias cargadas de valor afectivo, lo cual es relevante para modelos de toma de decisiones, aprendizaje flexible y regulación emocional. Por otro, abren nuevas vías de investigación clínica. El hecho de que ciertas configuraciones oscilatorias y patrones de acoplamiento neuronal estén selectivamente asociados a la persistencia o inhibición de memorias emocionales sugiere que podrían utilizarse como blancos para intervenciones futuras. Por ejemplo, la estimulación oscilatoria dirigida para modular la actividad del IL para restaurar patrones de conectividad funcional alterados en trastornos como el estrés postraumático, la ansiedad o la adicción. Así, esta tesis contribuye a delinear una arquitectura funcional de la memoria emocional basada en ritmos cerebrales, flujos de información y codificación neuronal, y propone un marco dinámico y dependiente de la valencia que puede ser extendido a estudios experimentales y clínicos futuros.

Bibliografía

Achermann, P., & Borbély, A. A. (1997). Low-frequency (< 1 Hz) oscillations in the human sleep electroencephalogram. Neuroscience, 81(1), 213-222.

Aggleton, J. P., & Mishkin, M. (1986). The amygdala: Sensory gateway to the emotions. Emotion: Theory, Research and Experience, 3, 281–299.

Agren, T., Engman, J., Frick, A., Björkstrand, J., Larsson, E.-M., Furmark, T., & Fredrikson, M. (2012). Disruption of reconsolidation erases a fear memory trace in the human amygdala. Science, 337(6101), 1550–1552.

Alexandrov, P., Pupikina, M., Adaeva, Z., & Sitnikova, E. (2023). The difference between male and female rats in terms of *freezing* and aversive ultrasonic vocalization in an active avoidance test. Physiologia, 3(3), 406-420.

Amaya, K. A., Teboul, E., Weiss, G. L., Antonoudiou, P., & Maguire, J. L. (2024). Basolateral amygdala parvalbumin interneurons coordinate oscillations to drive reward behaviors. Current Biology, 34(8), 1561–1568.

Ambroggi, F., Ishikawa, A., Fields, H. L., & Nicola, S. M. (2008). Basolateral amygdala neurons facilitate reward-seeking behavior by exciting nucleus accumbens neurons. Neuron, 59(4), 648–661.

Amir, A., Paré, J., & Paré, D. (2018). Vigilance-associated gamma oscillations coordinate the ensemble activity of basolateral amygdala neurons. *Neuron, 97*(3), 656–669.e7.

Bagur, S., Lefort, J. M., Lacroix, M. M., de Lavilléon, G., Herry, C., Chouvaeff, M., ... & Benchenane, K. (2021). Breathing-driven prefrontal oscillations regulate maintenance of conditioned-fear evoked *freezing* independently of initiation. Nature communications, 12(1), 2605.

Bagur, S., Lefort, J. M., Storme, R., & Karalis, N. (2018). Oscillations in the prefrontal cortex coordinate amygdala activity during fear behavior. bioRxiv, 338400.

Baldi, E., Lorenzini, C. A., & Bucherelli, C. (2004). Footshock intensity and generalization in contextual and auditory-cued fear conditioning in the rat. Neurobiology of learning and memory, 81(3), 162-166.

Balleine, B. W., & Killcross, A. S. (2006). Parallel incentive processing: An integrated view of amygdala function. Trends in Neurosciences, 29(5), 272–279.

Balleine, B. W., Killcross, S., & Dickinson, A. (2003). The effect of lesions of the basolateral amygdala on instrumental conditioning. The European Journal of Neuroscience, 17(2), 315–320.

Barnett, L., & Seth, A. K. (2014). The MVGC multivariate Granger causality toolbox: a new approach to Granger-causal inference. Journal of neuroscience methods, 223, 50-68.

Barrett, L. F., & Satpute, A. B. (2013). Large-scale brain networks in affective and social neuroscience: Toward an integrative functional architecture of the brain. Current Opinion in Neurobiology, 23(3), 361–372.

Bauer, E. P., Paz, R., & Pare, D. (2007). Gamma oscillations coordinate amygdalo-rhinal interactions during learning. Journal of Neuroscience, 27(35), 9369–9379.

Baxter, M. G., & Murray, E. A. (2002). The amygdala and reward. Nature Reviews Neuroscience, 3(7), 563–573.

Belluscio, M. A., Mizuseki, K., Schmidt, R., Kempter, R., & Buzsáki, G. (2012). Cross-frequency phase–phase coupling between theta and gamma oscillations in the hippocampus. Journal of Neuroscience, 32(2), 423-435.

Berens, P. (2025). Circular Statistics Toolbox (Directional Statistics). MATLAB Central File Exchange. https://www.mathworks.com/matlabcentral/fileexchange/10676-circular-statistics-toolbox-directional-statistics

Berner, L. A., Winter, S. R., Matheson, B. E., Benson, L., & Lowe, M. R. (2017). Behind binge eating: A review of food-specific adaptations of neurocognitive and neuroimaging tasks. Physiology & Behavior, 176, 59–70.

Berridge, K. C., & Kringelbach, M. L. (2015). Pleasure systems in the brain. Neuron, 86(3), 646–664.

Berridge, K. C., & Robinson, T. E. (2003). Parsing reward. Trends in Neurosciences, 26(9), 507–513.

Beyeler, A., Namburi, P., Glober, G. F., Simonnet, C., Calhoon, G. G., Conyers, G. F., ... & Tye, K. M. (2016). Divergent routing of positive and negative information from the amygdala during memory retrieval. *Neuron, 90*(2), 348–361.

Blundell, P., Hall, G., & Killcross, S. (2001). Lesions of the basolateral amygdala disrupt selective aspects of reinforcer representation in rats. Journal of Neuroscience, 21(22), 9018–9026.

Bocchio, M., Nabavi, S., & Capogna, M. (2017). Synaptic plasticity, engrams, and network oscillations in amygdala circuits for storage and retrieval of emotional memories. Neuron, 94(4), 731–743.

Borrell, V., & Reillo, I. (2012). Emergence and evolution of cortical folding: from signaling networks to mechanical forces. Current Opinion in Neurobiology, 22(5), 655-661.

Bouton, M. E. Bolles (1985). Contexts, event-memories, and extinction. Context and learning, 133-166.

Bouton, M. E., & Peck, C. A. (1989). Context effects on conditioning, extinction, and reinstatement in an appetitive conditioning preparation. Animal Learning & Behavior, 17(2), 188-198.

Bouton, M., Rosengard, C., Achenbach, G. G., Peck, C. A., & Brooks, D. C. (1993). Effects of contextual conditioning and unconditional stimulus presentation on performance in appetitive conditioning. The Quarterly Journal of Experimental Psychology. B, Comparative and Physiological Psychology.

Brewin, C. R. (2018). Memory and forgetting. Current Psychiatry Reports, 20, 87.

Brooks, D. C., & Bouton, M. (1993). A retrieval cue for extinction attenuates spontaneous recovery. Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes.

Buchanan, T. W. (2007). Retrieval of emotional memories. Psychological Bulletin, 133(5), 761–779.

Büchel, C., Morris, J., Dolan, R. J., & Friston, K. J. (1998). Brain systems mediating aversive conditioning: An event-related fMRI study. Neuron, 20(5), 947–957.

Burgos-Robles, A., Kimchi, E. Y., Izadmehr, E. M., Porzenheim, M. J., Ramos-Guasp, W. A., Nieh, E. H., ... & Tye, K. M. (2017). Amygdala inputs to prefrontal cortex guide behavior amid conflicting cues of reward and punishment. *Nature Neuroscience, 20*(6), 824–835.

Buzsáki, G. (2004). Large-scale recording of neuronal ensembles. Nature Neuroscience, 7(5), 446-451.

Buzsáki, G. (2005). Theta rhythm of navigation: Link between path integration and landmark navigation, episodic and semantic memory. Hippocampus, 15(7), 827–840.

Buzsáki, G. (2006). Rhythms of the Brain. Oxford University Press.

Buzsáki, G., & Draguhn, A. (2004). Neuronal oscillations in cortical networks. Science, 304(5679), 1926–1929.

Buzsáki, G., Anastassiou, C. A., & Koch, C. (2012). The origin of extracellular fields and currents — EEG, ECoG, LFP and spikes. Nature Reviews Neuroscience, 13(6), 407–420.

Caballero, J. P., Scarpa, G. B., Remage-Healey, L., & Moorman, D. E. (2019). Differential effects of dorsal and ventral medial prefrontal cortex on the acquisition and extinction of appetitive learning. Neurobiology of Learning and Memory, 163, 107045.

Canolty, R. T., & Knight, R. T. (2010). The functional role of cross-frequency coupling. Trends in Cognitive Sciences, 14(11), 506–515.

Canolty, R. T., Edwards, E., Dalal, S. S., Soltani, M., Nagarajan, S. S., Kirsch, H. E., ... & Knight, R. T. (2006). High gamma power is phase-locked to theta oscillations in human neocortex. science, 313(5793), 1626-1628.

Carew, M. B., & Rudy, J. W. (1991). Multiple functions of context during conditioning: A developmental analysis. Developmental Psychobiology.

Carlson, N. R. (2013). Physiology of Behavior (11ª ed.). Pearson.

Carr, M. F., Jadhav, S. P., & Frank, L. M. (2012). Hippocampal replay in the awake state: A potential substrate for memory consolidation and retrieval. Nature Neuroscience, 15(11), 1435–1442.

Carvell, G. E., & Simons, D. J. (1990). Biometric analyses of vibrissal tactile discrimination in the rat. Journal of Neuroscience, 10(8), 2638–2648.

Chen, S., Tan, Z., Xia, W., Gomes, C. A., Zhang, X., & Wang, L. (2021). Theta oscillations synchronize human medial prefrontal cortex and amygdala during fear learning. Science Advances, 7(34), eabf4198.

Cho, J. H., Deisseroth, K., & Bolshakov, V. Y. (2013). Synaptic encoding of fear extinction in mPFC–amygdala circuits. Neuron, 80(6), 1491–1507.

Clarke-Williams, C. J., Lopes-dos-Santos, V., Lefèvre, L., Brizee, D., Causse, A. A., Rothaermel, R., Hartwich, K., Perestenko, P. V., Toth, R., McNamara, C. G., Sharott, A., & Dupret, D. (2024). Coordinating brain-distributed network activities in memory resistant to extinction. Cell, 187(2), 409–427.

Cohen, J. (1988). Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences (2nd ed.). Hillsdale, NJ: Lawrence Erlbaum Associates.

Colgin, L. L., Denninger, T., Fyhn, M., Hafting, T., Bonnevie, T., Jensen, O., ... & Moser, M. B. (2009). Frequency of gamma oscillations routes flow of information in the hippocampus. Nature, 462(7271), 353–357.

Collins, D. R., & Paré, D. (2000). Differential fear conditioning induces reciprocal changes in the sensory responses of lateral amygdala neurons to the CS+ and CS-. Learning & memory, 7(2), 97-103.

Corkin, S. (2002). What's new with the amnesic patient H.M.? Nature Reviews Neuroscience, 3(2), 153–160.

Courtin, J., Chaudun, F., Rozeske, R. R., Karalis, N., Gonzalez-Campo, C., Wurtz, H., ... & Herry, C. (2014). Prefrontal parvalbumin interneurons shape neuronal activity to drive fear expression. Nature, 505(7481), 92–96.

Deisseroth, K. (2014). Circuit dynamics of adaptive and maladaptive behaviour. Nature, 505(7483), 309-317.

Dejean, C., Courtin, J., & Herry, C. (2016). Prefrontal neuronal assemblies temporally control fear behaviour. Nature, 535(7612), 420–424.

Dolcos, F., LaBar, K. S., & Cabeza, R. (2004). Interaction between the amygdala and the medial temporal lobe memory system predicts better memory for emotional events. Neuron, 42(5), 855–863.

Domjan, M. (2005). Pavlovian conditioning: A functional perspective. Annual Review of Psychology, 56, 179-206.

Donoghue, T., Haller, M., Peterson, E. J., Varma, P., Sebastian, P., Gao, R., ... & Voytek, B. (2020). Parameterizing neural power spectra into periodic and aperiodic components. Nature neuroscience, 23(12), 1655-1665.

Dudai, Y., & Morris, R. G. M. (2000). To consolidate or not to consolidate: what are the questions? Trends in Neurosciences, 23(12), 405–406.

Duvarci, S. (2024). Dopaminergic circuits controlling threat and safety learning. Current Opinion in Neurobiology, 84, 102314.

Duvarci, S., & Nader, K. (2004). Characterization of fear memory reconsolidation. Journal of Neuroscience.

Duvarci, S., & Pare, D. (2014). Amygdala microcircuits controlling learned fear. Neuron, 82(5), 966–980.

Duvarci, S., Bauer, E. P., & Pare, D. (2011). The bed nucleus of the stria terminalis mediates inter-individual variations in anxiety and fear. Journal of Neuroscience, 31(1), 180–185.

Dymond, S., Dunsmoor, J. E., Vervliet, B., Roche, B., & Hermans, D. (2015). Fear Generalization in Humans: Systematic Review and Implications for Anxiety Disorder Research. Behaviour Therapy, 46(5), 561–582.

Einevoll, G. T., Kayser, C., Logothetis, N. K., & Panzeri, S. (2013). Modelling and analysis of local field potentials for studying the function of cortical circuits. Nature Reviews Neuroscience, 14(11), 770–785.

Everitt, B. J., & Robbins, T. W. (1992). Amygdala–ventral striatal interactions in appetitive motivation and reward-related learning. Annals of the New York Academy of Sciences, 877(1), 412–438.

Everitt, B. J., & Robbins, T. W. (2005). Neural systems of reinforcement for drug addiction: from actions to habits to compulsion. Nature neuroscience, 8(11), 1481-1489.

Fanselow, M. S. (1980). Conditional and unconditional components of post-shock *freezing*. The Pavlovian journal of biological science: Official Journal of the Pavlovian, 15(4), 177-182.

Fanselow, M. S. (1994). Neural organization of the defensive behavior system responsible for fear. Psychonomic Bulletin & Review, 1(4), 429–438.

Fernández, R. S., Boccia, M. M., & Pedreira, M. E. (2016). The fate of memory: Reconsolidation and the case of Prediction Error. Neuroscience & Biobehavioral Reviews, 68, 423-441.

Figueira, J. S. B., David, I. P. A., Lobo, I., Pacheco, L. B., Pereira, M. G., de Oliveira, L., & Keil, A. (2020). Effects of load and emotional state on EEG alpha-band power and inter-site synchrony during a visual working memory task. Cognitive, Affective, & Behavioral Neuroscience, 20, 1122–1132.

Fitzpatrick, C. J., & Morrow, J. D. (2016). Pavlovian conditioned approach training in rats. Journal of Visualized Experiments, 108, e53580.

Fries, P. (2005). A mechanism for cognitive dynamics: neuronal communication through neuronal coherence. Trends in Cognitive Sciences, 9(10), 474-480.

Fries, P. (2015). Rhythms for cognition: communication through coherence. Neuron, 88(1), 220–235.

Fritz, C. O., Morris, P. E., & Richler, J. J. (2012). Effect size estimates: Current use, calculations, and interpretation. Journal of Experimental Psychology: General, 141(1), 2–18.

Garcia, R. (2002). Postextinction of conditioned fear: Between two CS-related memories. Learning & Memory.

Garfinkel, S. N., Minati, L., Gray, M. A., Seth, A. K., Dolan, R. J., & Critchley, H. D. (2014). Fear from the heart: Sensitivity to fear stimuli depends on individual heartbeats. Journal of Neuroscience, 34(19), 6573–6582.

Giustino, T. F., and Maren, S. (2018). Noradrenergic modulation of fear conditioning and extinction. Front. Behav. Neurosci. 12:43. doi: 10.3389/fnbeh.2018.00043.

Goldstein, R. Z., & Volkow, N. D. (2011). Dysfunction of the prefrontal cortex in addiction: neuroimaging findings and clinical implications. Nature Reviews Neuroscience, 12(11), 652–669.

González, J., Cavelli, M., Mondino, A., Rubido, N., Tort, A. B., & Torterolo, P. (2020). Communication through coherence by means of cross-frequency coupling. Neuroscience, 449, 157-164.

Goosens, K. A., Hobin, J. A., & Maren, S. (2003). Auditory-evoked spike firing in the lateral amygdala and Pavlovian fear conditioning: Mnemonic code or fear bias? *Neuron, 40*(5), 1013–1022.

Grant, R. A., Mitchinson, B., Fox, C. W., & Prescott, T. J. (2009). Active touch sensing in the rat: Anticipatory and regulatory control of whisker movements during surface exploration. Journal of Neurophysiology, 101(2), 862–874.

Grimaud, J., & Murthy, V. N. (2018). How to monitor breathing in laboratory rodents: a review of the current methods. Journal of Neurophysiology, 120(2), 624–632.

Hall, G., & Honey, R. C. (1989). Contextual effects in conditioning, latent inhibition, and habituation: Associative and retrieval functions of contextual cues. Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes.

Han, H. B., Shin, H. S., Jeong, Y., Kim, J., & Choi, J. H. (2023). Dynamic switching of neural oscillations in the prefrontal–amygdala circuit for naturalistic freeze-or-flight. Proceedings of the National Academy of Sciences, 120(37), e2308762120.

Han, S., Narayanan, R. T., Kim, M. A., Jercog, P., Georgiou, P., Kepecs, A., & Herry, C. (2023). Respiration-locked rhythm in prefrontal circuits regulates maintenance of fear behavior. Nature Neuroscience.

Haubrich, J., Machado, A., Boos, F. Z., Crestani, A. P., Sierra, R. O., & others. (2017). Enhancement of extinction memory by pharmacological and behavioral interventions targeted to its reactivation. Scientific Reports.

Hazan, L., Zugaro, M., & Buzsáki, G. (2006). Klusters, NeuroScope, NDManager: a free software suite for neurophysiological data processing and visualization. *Journal of neuroscience methods*, *155*(2), 207-216.

Headley, D. B., & Paré, D. (2013). In sync: Gamma oscillations and emotional memory. Frontiers in Behavioral Neuroscience, 7, 170.

Headley, D. B., & Paré, D. (2017). Common oscillatory mechanisms across multiple memory systems. npj Science of Learning, 2, 1.

Herry, C., & Johansen, J. P. (2014). Encoding of fear learning and memory in distributed neuronal circuits. Nature Neuroscience, 17(12), 1644–1654.

Herry, C., Ciocchi, S., Senn, V., Demmou, L., Müller, C., & Lüthi, A. (2008). Switching on and off fear by distinct neuronal circuits. *Nature, 454*(7204), 600–606.

Hikosaka, O. (2010). The habenula: from stress evasion to value-based decision-making. Nature Reviews Neuroscience, 11(7), 503–513.

Hobin, J. A., Goosens, K. A., & Maren, S. (2003). Context-dependent neuronal activity in the lateral amygdala represents fear memories after extinction. *Journal of Neuroscience, 23*(23), 8410–8416.

Hopkins, D. A., & Holstege, G. (1978). Amygdaloid projections to the mesencephalon, pons and medulla oblongata in the cat. Experimental Brain Research, 32(4), 529–547.

Howe, M. W., Atallah, H. E., McCool, A., Gibson, D. J., & Graybiel, A. M. (2011). Habit learning is associated with major shifts in frequencies of oscillatory activity and synchronized spike firing in striatum. Proceedings of the National Academy of Sciences, 108(40), 16801–16806.

Hsu, D. T., Kirouac, G. J., Zubieta, J.-K., & Bhatnagar, S. (2020). Reward-related dynamical coupling between basolateral amygdala and nucleus accumbens. Social Cognitive and Affective Neuroscience, 15(3), 275–286.

Hyafil, A., Giraud, A. L., Fontolan, L., & Gutkin, B. (2015). Neural cross-frequency coupling: Connecting architectures, mechanisms, and functions. Trends in Neurosciences, 38(11), 725–740.

Iglewicz, B., & Hoaglin, D. C. (1993). Volume 16: how to detect and handle outliers. Quality Press.

Isaacson, J. S., & Scanziani, M. (2011). How inhibition shapes cortical activity. Neuron, 72(2), 231–243.

James, W. (1884). What is an emotion? Mind, 9(34), 188–205.

Janak, P. H., & Tye, K. M. (2015). From circuits to behaviour in the amygdala. Nature, 517(7534), 284–292.

Jensen, O., & Colgin, L. L. (2007). Cross-frequency coupling between neuronal oscillations. Trends in Cognitive Sciences, 11(7), 267–269.

Ji, G., & Neugebauer, V. (2012). Modulation of medial prefrontal cortical activity using in vivo recordings and optogenetics. Molecular Brain, 5(1), 36.

Jones, M. W., & Wilson, M. A. (2005). Theta rhythms coordinate hippocampal–prefrontal interactions in a spatial memory task. PLoS Biology, 3(12), e402.

Kalisch, R., Korenfeld, E., Stephan, K. E., Weiskopf, N., Seymour, B., & Dolan, R. J. (2006). Context-dependent human extinction memory is mediated by a ventromedial prefrontal and hippocampal network. Journal of Neuroscience, 26(37), 9503–9511.

Kalivas, P. W., & Volkow, N. D. (2005). The neural basis of addiction: a pathology of motivation and choice. American Journal of Psychiatry, 162(8), 1403-1413.

Karalis, N., & Sirota, A. (2022). Breathing coordinates cortico-hippocampal dynamics in mice during offline states. *Nature communications*, *13*(1), 467.

Karalis, N., Dejean, C., Chaudun, F., Khoder, S., Rozeske, R. R., Wurtz, H., ... & Herry, C. (2016). 4-Hz oscillations synchronize prefrontal–amygdala circuits during fear behavior. Nature neuroscience, 19(4), 605-612.

Kenny, P. J. (2011). Common cellular and molecular mechanisms in obesity and drug addiction. Nature Reviews Neuroscience, 12(11), 638–651.

Kenny, P. J. (2011). Reward mechanisms in obesity: new insights and future directions. Neuron, 69(4), 664–679.

Klimesch, W., Freunberger, R., & Sauseng, P. (2011). Oscillatory mechanisms of process binding in memory. Frontiers in Psychology, 2, 106.

Knight, D. C., Waters, N. S., & Bandettini, P. A. (2009). Neural substrates of explicit and implicit fear memory. NeuroImage, 45(1), 208–214.

Koloski, J. R., Trent, S., Heinsbroek, J. A., Mahoney, M. K., & Kalivas, P. W. (2022). Cortico-striatal beta-oscillations as a marker of learned reward value. Nature Communications, 13, 3379.

Koutsikou, S., Crook, J. J., Earl, E. V., Leith, J. L., Watson, T. C., Lumb, B. M., & Apps, R. (2014). Neural substrates underlying fear-evoked *freezing*: the periaqueductal grey-cerebellar link. The Journal of Physiology, 592(10), 2197–2213.

Krabbe, S., Gründemann, J., & Lüthi, A. (2018). Amygdala inhibitory circuits regulate associative fear conditioning. Biological Psychiatry, 83(10), 800–809.

Kyriazi, P., Headley, D. B., Pare, D. (2018). Multi-dimensional coding by basolateral amygdala neurons. Neuron, 99(6), 1315–1328.e5.

LaBar, K. S., & Cabeza, R. (2006). Cognitive neuroscience of emotional memory. Nature Reviews Neuroscience, 7(1), 54–64.

Lachaux, J. P., Rodriguez, E., Martinerie, J., & Varela, F. J. (1999). Measuring phase synchrony in brain signals. Human brain mapping, 8(4), 194-208.

LeDoux, J. E. (2000). Emotion circuits in the brain. Annual Review of Neuroscience, 23(1), 155-184.

LeDoux, J. E. (2012). Rethinking the emotional brain. Neuron, 73(4), 653–676.

Lesting, J., Daldrup, T., Narayanan, V., Himpe, C., Seidenbecher, T., & Pape, H. C. (2013). Directional theta coherence in prefrontal cortical to amygdalo-hippocampal pathways signals fear extinction. *PloS one*, *8*(10), e77707.

Lesting, J., et al. (2013). Directionality of information flow between prefrontal cortex and amygdala during memory consolidation. Journal of Neuroscience, 33(20), 8526–8535.

Lesting, J., Narayanan, R. T., Kluge, C., Sangha, S., Seidenbecher, T., & Pape, H. C. (2011). Patterns of coupled theta activity in amygdala-hippocampal-prefrontal cortical circuits during fear extinction. PLoS ONE, 6(6), e21714.

Li, B., Piriz, J., Mirrione, M., Chung, C., Proulx, C. D., Schulz, D., ... & Malinow, R. (2011). Synaptic potentiation onto habenula neurons in the learned helplessness model of depression. Nature, 490(7419), 215–219.

Li, B., Piriz, J., Mirrione, M., Chung, C., Proulx, C. D., Schulz, D., Henn, F., & Malinow, R. (2011). Synaptic potentiation onto habenula neurons in the learned helplessness model of depression. Nature, 470(7335), 535–539.

Li, H., Penzo, M. A., Taniguchi, H., Kopec, C. D., & Li, B. (2013). Experience-dependent modification of a central amygdala fear circuit. Nature Neuroscience, 16(3), 332–339.

Likhtik, E., & Paz, R. (2015). Amygdala–prefrontal interactions in (mal)adaptive learning. Trends in Neurosciences, 38(3), 158–166.

Likhtik, E., and Johansen, J. P. (2019). Neuromodulation in circuits of aversive emotional learning. Nat. Neurosci. 22, 1586–1597. doi: 10.1038/s41593-019-0503-3.

Likhtik, E., Stujenske, J. M., A Topiwala, M., Harris, A. Z., & Gordon, J. A. (2014). Prefrontal entrainment of amygdala activity signals safety in learned fear and innate anxiety. Nature neuroscience, 17(1), 106-113.

Lindén, H., Tetzlaff, T., Potjans, T. C., Pettersen, K. H., Grün, S., Diesmann, M., & Einevoll, G. T. (2011). Modeling the spatial reach of the LFP. Neuron, 72(5), 859–872.

Lisman, J. E. (2005). The theta/gamma discrete phase code occurring during the hippocampal phase precession may be a more general brain coding scheme. Hippocampus, 15(7), 913–922.

Lisman, J. E., & Jensen, O. (2013). The theta-gamma neural code. Neuron, 77(6), 1002–1016.

Liu, J., & Han, Y. (2022). Simultaneous recording of breathing and neural activity in awake behaving mice. Bio-protocol, 12(20), e4531.

Liu, J., Wei, W., Kuang, H., Tsien, J. Z., & Zhao, F. (2014). Heart rate and heart rate variability assessment identifies individual differences in fear response magnitudes to earthquake, free fall, and air puff in mice. PLoS ONE, 9(3), e93270.

Liu, J., Wei, W., Kuang, H., Zhao, F., & Tsien, J. Z. (2013). Changes in heart rate variability are associated with expression of short-term and long-term contextual and cued fear memories. PLoS ONE, 8(5), e63590.

Liu, Z., & Han, X. (2022). Simultaneous recording of breathing and neural activity in awake behaving mice. Nature Protocols, 17(6), 1336–1363.

Lockmann, A. L. V., Laplagne, D. A., Leão, R. N., & Tort, A. B. L. (2016). A respiration-coupled rhythm in the rat hippocampus independent of theta and slow oscillations. The Journal of Neuroscience, 36(19), 5338–5352.

Lopes, G., Bonacchi, N., Frazão, J., Neto, J. P., Atallah, B. V., Soares, S., ... & Kampff, A. R. (2015). Bonsai: an event-based framework for processing and controlling data streams. Frontiers in neuroinformatics, 9, 7.

Lu, P., Chen, D., Xia, W., Chen, S., Tan, Z., Zhou, W., & Wang, L. (2025). Theta oscillations between the ventromedial prefrontal cortex and amygdala support dynamic representations of threat and safety: Theta Modulation of Dynamic Threat Representation. NeuroImage, 121164.

Luo, M., Perkel, D. J., & Saper, C. B. (2008). Circuit analysis of memory and emotion in the amygdala. Nature Reviews Neuroscience, 9(10), 747–757.

Luo, M., Zhou, J., & Liu, Z. (2008). Reward processing by the dorsal raphe nucleus: 5-HT and beyond. Learning & Memory, 15(9), 569–576.

Ma, L. H., Li, S., Jiao, X. H., Li, Z. Y., Zhou, Y., Zhou, C. R., ... & Wu, Y. Q. (2024). BLA-involved circuits in neuropsychiatric disorders. Ageing Research Reviews, 102363.

Ma, L., Yue, L., Liu, S., Zhang, Y., Zhang, M., Cui, S., ... & Wan, Y. (2024). Dynamic Changes of the Infralimbic Cortex and Its Regulation of the Prelimbic Cortex in Rats with Chronic Inflammatory Pain. Neuroscience Bulletin, 40(7), 872–886.

Malvaez, M., Shieh, C., Murphy, M. D., Greenfield, V. Y., & Wassum, K. M. (2019). Distinct cortical–amygdala projections drive reward value encoding and retrieval. Nature Neuroscience, 22(5), 762–769.

Marek, R., Xu, L., Sullivan, R. K. P., & Sah, P. (2018). Excitatory connections between the prelimbic and infralimbic medial prefrontal cortex show a role for the prelimbic cortex in fear extinction. Nature Neuroscience, 21(5), 654-658.

Maren, S. (2001). Neurobiology of Pavlovian fear conditioning. Annual Review of Neuroscience, 24, 897–931.

Maren, S. (2015). Out with the old and in with the new: Synaptic mechanisms of extinction in the amygdala. Brain Research, 1621, 231–238.

Maren, S., & Chang, C. H. (2006). Recent fear is resistant to extinction. Proceedings of the National Academy of Sciences, 103(47), 18020-18025.

Maren, S., & Quirk, G. J. (2004). Neuronal signalling of fear memory. Nature Reviews Neuroscience, 5(11), 844-852.

Maren, S., Phan, K. L., & Liberzon, I. (2013). The contextual brain: Implications for fear conditioning, extinction and psychopathology. Nature Reviews Neuroscience, 14(6), 417–428.

Martinez, M. C., Zold, C. L., Coletti, M. A., Murer, M. G., & Belluscio, M. A. (2022). Dorsal striatum coding for the timely execution of action sequences. elife, 11, e74929.

McDonald, R. J., Hong, N. S., & Devan, B. D. (2017). Interactions among multiple parallel learning and memory systems in the mammalian brain.

McDonald, R. J., Jones, J. A., & White, N. M. (2017). A triple dissociation of memory systems: hippocampus, amygdala, and dorsal striatum. Behavioural Neuroscience, 131(2), 174–190.

McGarry, L. M., & Carter, A. G. (2017). Prefrontal cortex drives distinct projection neurons in the basolateral amygdala. Cell Reports, 21(6), 1426–1433.

McGaugh, J. L. (2000). Memory: a century of consolidation. Science, 287(5451), 248–251.

McGaugh, J. L. (2004). The amygdala modulates the consolidation of memories of emotionally arousing experiences. Annual Review of Neuroscience, 27, 1-28.

McLean, C. P., Levy, H. C., Miller, M. L., & Tolin, D. F. (2022). Exposure therapy for PTSD: A meta-analysis. Clinical Psychology Review, 89, 102086.

Merlo, E., Milton, A. L., Goozée, Z. Y., Theobald, D. E., & Everitt, B. J. (2014). Reconsolidation and extinction are dissociable and mutually exclusive processes: behavioral and molecular evidence. Journal of Neuroscience, 34(7), 2422-2431.

Milad, M. R., & Quirk, G. J. (2002). Neurons in medial prefrontal cortex signal memory for fear extinction. Nature, 420(6911), 70–74.

Milad, M. R., & Quirk, G. J. (2012). Fear extinction as a model for translational neuroscience: Ten years of progress. Annual Review of Psychology, 63, 129–151.

Milad, M. R., Quirk, G. J., Pitman, R. K., Orr, S. P., Fischl, B., & Rauch, S. L. (2009). A role for the human dorsal anterior cingulate cortex in fear expression. Biological Psychiatry, 65(5), 392–395.

Milad, M. R., Vidal-Gonzalez, I., & Quirk, G. J. (2009). Electrical stimulation of medial prefrontal cortex reduces conditioned fear in a temporally specific manner. Behavioral Neuroscience, 118(2), 389–394.

Millan, E. Z., Lim, J. H., Power, J. M., & McNally, G. P. (2021). Rapid appetitive transitions are sculpted by amygdala to accumbens pathways. bioRxiv, 2021-04.

Miller, E. K., & Cohen, J. D. (2001). An integrative theory of prefrontal cortex function. Annual review of neuroscience, 24(1), 167-202.

Milner, B. (1962). Les troubles de la mémoire accompagnant des lésions hippocampiques bilatérales. Neuropsychologia, 1(3), 211–223.

Mitra, P. (2007). Observed brain dynamics. Oxford university press.

Moberly, A. H., Schreck, M., Bhattarai, J. P., Zweifel, L. S., Luo, W., & Ma, M. (2018). Olfactory inputs modulate respiration-related rhythmic activity in the prefrontal cortex and *freezing* behavior. *Nature communications*, *9*(1), 1528.

Monfils, M., Cowansage, K., Klann, E., & LeDoux, J. E. (2009). Extinction-reconsolidation boundaries: Key to persistent attenuation of fear memories. Science.

Moorman, D. E., & Aston-Jones, G. (2015). Prefrontal neurons encode context-based response execution and inhibition in reward seeking and extinction. Proceedings of the National Academy of Sciences, 112(30), 9472–9477.

Murray, E. A., & Izquierdo, A. (2007). Orbitofrontal cortex and amygdala contributions to affect and action in primates. Annals of the New York Academy of Sciences, 1121, 273–296.

Namburi, P., Beyeler, A., Yorozu, S., Calhoon, G. G., Halbert, S. A., Wichmann, R., ... & Tye, K. M. (2015). A circuit mechanism for differentiating positive and negative associations. Nature, 520(7549), 675–678.

Newson, J. J., & Thiagarajan, T. C. (2019). EEG frequency bands in psychiatric disorders: A review of resting-state studies. Frontiers in Human Neuroscience, 12, 521.

Nguyen Chi, V., Müller, C., Wolfenstetter, T., Yanovsky, Y., Draguhn, A., Tort, A. B. L., & Brankačk, J. (2016). Hippocampal respiration-driven rhythm distinct from theta oscillations in awake mice. The Journal of Neuroscience, 36(2), 162–177.

Nukitram, Y., Kitamura, T., Okamoto, T., & Oka, J.-I. (2021). Spectral power and theta–gamma coupling in the basolateral amygdala related with methamphetamine conditioned place preference in mice. International Journal of Neuropsychopharmacology, 24(3), 229–240.

Nyhus, E., & Curran, T. (2010). Functional role of gamma and theta oscillations in episodic memory. Neuroscience & Biobehavioral Reviews, 34(7), 1023–1035.

Nyquist, H. (1924). Certain factors affecting telegraph speed. Transactions of the American Institute of Electrical Engineers, 43, 412-422.

Nyquist, H. (1928). Certain topics in telegraph transmission theory. *Transactions of the American Institute of Electrical Engineers*, *47*(2), 617-644.

O'Keefe, J., & Dostrovsky, J. (1971). The hippocampus as a spatial map: preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. Brain Research, 34(1), 171–175.

O'Keefe, J., & Nadel, L. (1979). The hippocampus as a cognitive map. Oxford: Clarendon Press.

O'Neill, P. K., Gordon, J. A., & Sigurdsson, T. (2013). Theta oscillations in the medial prefrontal cortex are modulated by spatial working memory and synchronize with the hippocampus through its ventral subregion. Journal of Neuroscience, 33(35), 14211–14224.

O'Keefe, J., & Nadel, L. (1978). The hippocampus as a cognitive map. Oxford University Press.

Okonogi, T., & Sasaki, A. T. (2021). Theta-range oscillations in stress-induced mental disorders as an oscillotherapeutic target. Frontiers in Behavioral Neuroscience, 15, 698753.

Okun, M., & Lampl, I. (2008). Instantaneous correlation of excitation and inhibition during ongoing and sensory-evoked activities. Nature Neuroscience, 11(5), 535–537.

Olszyński, K., Polowy, R., Wróbel, A., Łęski, I., Golebiowski, O., & Fiszer, R. (2021). Increased vocalization of rats in response to ultrasonic playback as a sign of hypervigilance following fear conditioning. International Journal of Molecular Sciences, 22(17), 9431.

Olszyński, K., Polowy, R., Wróbel, A., Łęski, I., Golebiowski, O., & Fiszer, R. (2023). Rats emit aversive 44-kHz ultrasonic vocalizations during prolonged fear conditioning. eLife, 12, e88810.

Ostlund, S. B., & Balleine, B. W. (2008a). The dissimilar impact of different forms of instrumental training on outcome devaluation sensitivity in rats. Behavioural Brain Research, 193(1), 50–55.

Otis, J. M., Namboodiri, V. M. K., Matan, A. M., Voets, E. S., Mohorn, E. P., Kosyk, O., McHenry, J. A., Robinson, J. E., Resendez, S. L., Rossi, M. A., Stuber, G. D. (2017). Prefrontal cortex output circuits guide reward seeking through divergent cue encoding. Nature, 543(7643), 103–107.

Ottoson, D. (1955). Analysis of the electrical activity of the olfactory epithelium. Acta physiologica Scandinavica. Supplementum, 35(122), 1-83.

Ottoson, D. (1960). Comparison of slow potentials evoked in the frog's nasal mucosa and olfactory bulb by natural stimulation. Acta physiologica Scandinavica, 47(2-3), 149-159.

Ozawa, M., Davis, P., Ni, J., Maguire, J., Papouin, T., & Reijmers, L. (2020). Experience-dependent resonance in amygdalo-cortical circuits supports fear memory retrieval following extinction. Nature communications, 11(1), 4358.

Pachitariu, M., Sridhar, S., Pennington, J., & Stringer, C. (2024). Spike sorting with Kilosort4. Nature Methods, 21(5), 914-921.

Pachitariu, M., Steinmetz, N. A., Kadir, S. N., Carandini, M., & Harris, K. D. (2016). Fast and accurate spike sorting of high-channel count probes with KiloSort. *Advances in neural information processing systems*, *29*.

Pape, H. C., & Pare, D. (2010). Plastic synaptic networks of the amygdala for the acquisition, expression, and extinction of conditioned fear. Physiological Reviews, 90(2), 419-463.

Paré, D., & Duvarci, S. (2012). Amygdala microcircuits mediating fear expression and extinction. Current Opinion in Neurobiology, 22(4), 717–723.

Pavlov, I. P. (1927). Conditioned Reflexes: An Investigation of the Physiological Activity of the Cerebral Cortex. Oxford University Press.

Paxinos, G., & Watson, C. (2006). The rat brain in stereotaxic coordinates: hard cover edition. Elsevier.

Pessoa, L. (2017). A network model of the emotional brain. Trends in Cognitive Sciences, 21(5), 357–371.

Peters, J., Kalivas, P. W., & Quirk, G. J. (2009). Extinction circuits for fear and addiction overlap in prefrontal cortex. Learning & Memory, 16(5), 279–288.

Pettersen, K. H., Devor, A., Ulbert, I., Dale, A. M., & Einevoll, G. T. (2006). Current-source density estimation based on inversion of electrostatic forward solution: effects of finite extent of neuronal activity and conductivity discontinuities. Journal of Neuroscience Methods, 154(1–2), 116–133.

Phelps, E. A., & LeDoux, J. E. (2005). Contributions of the amygdala to emotion processing: From animal models to human behavior. Neuron, 48(2), 175-187.

Piantadosi, P. T., Khazanova, N., Schludi, M. H., Shah, A., Zhang, J., Issa, A. R., ... & Tye, K. M. (2024). Holographic stimulation of opposing amygdala ensembles bidirectionally modulates valence-specific behavior via mutual inhibition. *Cell, 187*(3), 592–610.e19.

Pickens, C. L., Saddoris, M. P., Setlow, B., Gallagher, M., Holland, P. C., & Schoenbaum, G. (2003). Different roles for orbitofrontal cortex and basolateral amygdala in a reinforcer devaluation task. Journal of Neuroscience, 23(35), 11078–11084.

Popa, D., Duvarci, S., Popescu, A. T., Léna, C., & Paré, D. (2010). Coherent amygdalocortical theta promotes fear memory consolidation during paradoxical sleep. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *107*(14), 6516-6519.

Popescu, A. T., Popa, D., & Pare, D. (2009). Coherent gamma oscillations couple the amygdala and striatum during learning. Nature Neuroscience, 12(6), 801–807.

Quirk, G. J., & Mueller, D. (2008). Neural mechanisms of extinction learning and retrieval. Neuropsychopharmacology, 33(1), 56-72.

Quirk, G. J., Repa, C., & LeDoux, J. E. (1995). Fear conditioning enhances short-latency auditory responses of lateral amygdala neurons: Parallel recordings in the freely behaving rat. *Neuron, 15*(5), 1029–1039.

Rauch, S. A. M., Eftekhari, A., & Ruzek, J. I. (2012). Review of exposure therapy: A gold standard for PTSD treatment. Journal of Rehabilitation Research and Development, 49(5), 679–686.

Rauch, S. L., Shin, L. M., & Phelps, E. A. (2006). Neurocircuitry models of posttraumatic stress disorder and extinction: Human neuroimaging research—past, present, and future. Biological Psychiatry, 60(4), 376-382.

Repa, J. C., Muller, J., Apergis, J., Desrochers, T. M., Zhou, Y., & LeDoux, J. E. (2001). Two different lateral amygdala cell populations contribute to the initiation and storage of memory. *Nature Neuroscience, 4*(7), 724–731.

Rescorla, R. A. (1968). Probability of shock in the presence and absence of CS in fear conditioning. Journal of Comparative and Physiological Psychology, 66(1), 1–5.

Rescorla, R. A., & Wagner, A. R. (1972). A theory of Pavlovian conditioning: Variations in the effectiveness of reinforcement and nonreinforcement. En A. H. Black & W. F. Prokasy (Eds.), Classical conditioning II: Current research and theory (pp. 64-99). Appleton-Century-Crofts.

Roelofs, K. (2017). Freeze for action: neurobiological mechanisms in animal and human *freezing*. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 372(1718), 20160206.

Rolls, E. T. (2000). Précis of The brain and emotion. Behavioral and Brain Sciences, 23, 177–233.

Roozendaal, B., McEwen, B. S., & Chattarji, S. (2009). Stress, memory and the amygdala. Nature Reviews Neuroscience, 10(6), 423–433.

Rorick, L. M., Finn, P. R., & Steinmetz, J. E. (2004) . Heart rate reactivity in HAD and LAD rats during Pavlovian fear conditioning. Integrative Physiological & Behavioral Science, 39(1), 24–41.

Rossato, J. I., Bevilaqua, L., Medina, J., Izquierdo, I., & Cammarota, M. (2006). Retrieval induces hippocampal-dependent reconsolidation of spatial memory. Learning & Memory.

Rothbaum, B. O., & Davis, M. (2003). Applying learning principles to the treatment of post-trauma reactions. Annals of the New York Academy of Sciences, 1008(1), 112-121.

Russo, S. J., & Nestler, E. J. (2013). The brain reward circuitry in mood disorders. Nature Reviews Neuroscience, 14(9), 609–625.

Sacchetti, B., Lorenzini, C. A., & Baldi, E. (1999). Auditory thalamus, dorsal hippocampus, basolateral amygdala, and auditory cortex contribute differentially to the consolidation of conditioned fear. Learning & Memory, 6(3), 258–266.

Schiller, D., Cain, C., Curley, N. G., Schwartz, J. S., Stern, S. A., & others. (2008). Evidence for recovery of fear following immediate extinction in rats and humans. Learning & Memory.

Schomburg, E. W., Fernández-Ruiz, A., Mizuseki, K., Berényi, A., Anastassiou, C. A., Koch, C., & Buzsáki, G. (2014). Theta phase segregation of input-specific gamma patterns in entorhinal-hippocampal networks. Neuron, 84(2), 470–485.

Scoville, W. B., & Milner, B. (1957). Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry, 20(1), 11–21.

Sehlmeyer, C., Schöning, S., Zwitserlood, P., Pfleiderer, B., Kircher, T., Arolt, V., & Konrad, C. (2009). Human fear conditioning and extinction in neuroimaging: A systematic review. PLoS ONE, 4(6), e5865.

Seidenbecher, T., Laxmi, T. R., Stork, O., & Pape, H. C. (2003). Amygdalar and hippocampal theta rhythm synchronization during fear memory retrieval. Science, 301(5634), 846–850.

Senn, V., Wolff, S. B. E., Herry, C., Grenier, F., Ehrlich, I., Gründemann, J., Fadok, J. P., Müller, C., Letzkus, J. J., & Lüthi, A. (2014). Long-range connectivity defines behavioral specificity of amygdala neurons. Neuron, 81(2), 428–437.

Sepahvand, T., Power, K. D., Qin, T., & Yuan, Q. (2023). The basolateral amygdala: The core of a network for threat conditioning, extinction, and second-order threat conditioning. Biology, 12(10), 1274.

Shannon, C. E. (1948). A mathematical theory of communication. The Bell system technical journal, 27(3), 379-423.

Shannon, C. E. (1949). Communication in the presence of noise. Proceedings of the IRE, 37(1), 10-21.

Shin, L. M., Wright, C. I., Cannistraro, P. A., Wedig, M. M., McMullin, K., Martis, B., & Rauch, S. L. (2005). A functional magnetic resonance imaging study of amygdala and medial prefrontal cortex responses to overtly presented fearful faces in posttraumatic stress disorder. Archives of General Psychiatry, 62(3), 273–281.

Siapas, A. G., Lubenov, E. V., & Wilson, M. A. (2005). Prefrontal phase locking to hippocampal theta oscillations. Neuron, 46(1), 141–151.

Siegle, J. H., López, A. C., Patel, Y. A., Abramov, K., Ohayon, S., & Voigts, J. (2017). Open Ephys: an open-source, plugin-based platform for multichannel electrophysiology. Journal of neural engineering, 14(4), 045003.

Sierra, R. O., Pedraza, L. K., Barcsai, L., Pejin, A., Li, Q., Kozák, G., ... & Berényi, A. (2023). Closed-loop brain stimulation augments fear extinction in male rats. Nature Communications, 14(1), 3972.

Sierra-Mercado, D., Padilla-Coreano, N., & Quirk, G. J. (2011). Dissociable roles of prelimbic and infralimbic cortices, ventral hippocampus, and basolateral amygdala in the expression and extinction of conditioned fear. Neuropsychopharmacology, 36(2), 529–538.

Sirota, A., Montgomery, S., Fujisawa, S., Isomura, Y., Zugaro, M., & Buzsáki, G. (2008). Entrainment of neocortical neurons and gamma oscillations by the hippocampal theta rhythm. Neuron, 60(4), 683–697.

Smith, R. J., & Torregrossa, M. M. (2021). Valence encoding in the amygdala influences motivated behavior. Neuropharmacology, 190, 108563.

Squire, L. R. (2004). Memory systems of the brain: A brief history and current perspective. Neurobiology of Learning and Memory, 82(3), 171–177.

Squire, L. R., & Alvarez, P. (1995). Retrograde amnesia and memory consolidation: a neurobiological perspective. Current Opinion in Neurobiology, 5(2), 169–177.

Squire, L. R., & Alvarez, P. (1995). Retrograde amnesia and memory consolidation: A neurobiological perspective. Current Opinion in Neurobiology, 5(2), 169–177.

Squire, L. R., & Wixted, J. T. (2011). The cognitive neuroscience of human memory since H.M. Annual Review of Neuroscience, 34, 259–288.

Steriade, M., Nunez, A., & Amzica, F. (1993). A novel slow (< 1 Hz) oscillation of neocortical neurons in vivo: depolarizing and hyperpolarizing components. Journal of neuroscience, 13(8), 3252-3265.

Stuber, G. D., Sparta, D. R., Stamatakis, A. M., van Leeuwen, W. A., Hardjoprajitno, J. E., Cho, S., ... & Bonci, A. (2011). Excitatory transmission from the amygdala to nucleus accumbens facilitates reward seeking. Nature, 475(7356), 377–380.

Stujenske, J. M., Likhtik, E., Topiwala, M. A., & Gordon, J. A. (2014). Fear and safety engage competing patterns of theta–gamma coupling in the basolateral amygdala. *Neuron, 83*(4), 919–933.

Stujenske, J. M., O'Neill, P.-K., Fernandes-Henriques, C., Nahmoud, I., Goldburg, S. R., Singh, A., Diaz, L., Labkovich, M., Hardin, W., Bolkan, S. S., Reardon, T. R., Spellman, T. J., Salzman, C. D., Gordon, J. A., Liston, C., & Likhtik, E. (2022). Prelimbic cortex drives discrimination of non-aversion via amygdala somatostatin interneurons. Neuron, 110(14), 2258–2267.e11.

Stüttgen, M. (2025). MLIB - Toolbox for analyzing spike data. MATLAB Central File Exchange. https://www.mathworks.com/matlabcentral/fileexchange/37339-mlib-toolbox-for-analyzing-spike-data

Sun, J., Zhu, L., Fang, X., Tang, Y., Xiao, Y., Jiang, S., Lin, J., & Li, Y. (2024). Pupil dilation and behavior as complementary measures of fear response in mice. Cognitive Neurodynamics, 18(6), 4047–4054.

Thomson, D. J. (1982). Spectrum estimation and harmonic analysis. Proceedings of the IEEE, 70(9), 1055-1096.

Tort, A. B. L., Brankačk, J., & Draguhn, A. (2018a). Parallel detection of theta and respiration-coupled oscillations throughout the mouse brain. Scientific Reports, 8, 6432.

Tort, A. B. L., Ponsel, S., Jessberger, J., Yanovsky, Y., Brankačk, J., & Draguhn, A. (2018b). Respiration-entrained brain rhythms are global but often overlooked. Trends in Neurosciences, 41(4), 186–197.

Tort, A. B. L., Sato, Y., Sameshima, K., Nakahara, H., & Fukai, T. (2021). Temporal relations between cortical network oscillations and breathing frequency during REM sleep. Journal of Neuroscience, 41(32), 6826–6842.

Tort, A. B., Brankačk, J., & Draguhn, A. (2018a). Respiration-entrained brain rhythms are global but often overlooked. Trends in neurosciences, 41(4), 186-197.

Tort, A. B., Komorowski, R., Eichenbaum, H., & Kopell, N. (2010). Measuring phase-amplitude coupling between neuronal oscillations of different frequencies. Journal of neurophysiology, 104(2), 1195-1210.

Tort, A. B., Kramer, M. A., Thorn, C., Gibson, D. J., Kubota, Y., Graybiel, A. M., & Kopell, N. J. (2008). Dynamic cross-frequency couplings of local field potential oscillations in rat striatum and hippocampus during performance of a T-maze task. Proceedings of the National Academy of Sciences, 105(51), 20517-20522.

Totty, M. S., & Maren, S. (2022). Neural oscillations in aversively motivated behavior. Neurobiology of Learning and Memory, 192, 107601.

Totty, M. S., Tuna, T., Ramanathan, K. R., Jin, J., Peters, S. E., & Maren, S. (2023). Thalamic nucleus reuniens coordinates prefrontal–hippocampal synchrony to suppress extinguished fear. Nature Communications, 14, 6565.

Tovote, P., Fadok, J. P., and Lüthi, A. (2015). Neuronal circuits for fear and anxiety. Nat. Rev. Neurosci. 16, 317–331. doi: 10.1038/nrn3945.

Tulving, E. (1972). Episodic and semantic memory. In E. Tulving & W. Donaldson (Eds.), Organization of memory (pp. 381–403). Academic Press.

Tulving, E. (1983). Elements of episodic memory.

Tulving, E., & Thomson, D. M. (1983). Encoding specificity and retrieval processes in episodic memory. Psychological Review, 80(5), 352–373.

Tulving, E., Schacter, D. L., & Stark, H. A. (1983). Priming effects in word-fragment completion are independent of recognition memory. Journal of Experimental Psychology: Learning, Memory, and Cognition, 9(3), 524–533.

Vandecasteele, M., Royer, S., Belluscio, M., Berényi, A., Diba, K., Fujisawa, S., ... & Buzsáki, G. (2012). Large-scale recording of neurons by movable silicon probes in behaving rodents. Journal of visualized experiments: JoVE, (61), 3568.

Vertes, R. P. (2004). Differential projections of the infralimbic and prelimbic cortex in the rat. Synapse, 51(1), 32–58.

Vervliet, B., Craske, M. G., & Hermans, D. (2013). Fear extinction and relapse: State of the art. Annual Review of Clinical Psychology, 9, 215–248.

Viviani, D., Charlet, A., van den Burg, E., Robinet, C., Hurni, N., Abatis, M., ... & Stoop, R. (2011). Oxytocin selectively gates fear responses through distinct outputs from the central amygdala. Science, 333(6038), 104–107.

Volkow, N. D., & Baler, R. D. (2015). NOW vs LATER brain circuits: implications for obesity and addiction. Trends in Neurosciences, 38(6), 345–352.

Vöröslakos, M., Petersen, P. C., Vöröslakos, B., & Buzsáki, G. (2021). Metal microdrive and head cap system for silicon probe recovery in freely moving rodent. Elife, 10, e65859.

Wang, D., Li, Y., Feng, X., Liu, J., Li, X., Ma, Y., & Cui, Y. (2021). Decreased phase–amplitude coupling between the mPFC and BLA during exploratory behaviour in chronic unpredictable mild stress model of depression. Neurobiology of Stress, 15, 100379.

Wang, X.-J. (2010). Neurophysiological and computational principles of cortical rhythms in cognition. Physiological Reviews, 90(3), 1195–1268.

Wasserstein, R. L., & Lazar, N. A. (2016). The ASA's statement on p-values: Context, process, and purpose. The American Statistician, 70(2), 129–133.

Wassum, K. M., & Izquierdo, A. (2015). The basolateral amygdala in reward learning and addiction. Neuroscience & Biobehavioral Reviews, 57, 271–283.

Weingarten, H. P. (1983). Conditioned cues elicit feeding in sated rats: A role for learning in meal initiation. Science, 220(4595), 431–433.

Whittaker, J (1935). Interpolatory Function Theory. Cambridge University Press.

Whittle, N., Fadok, J. P., MacPherson, K. P., Nguyen, R., Botta, P., Wolff, S. B. E., Müller, C., Herry, C., Tovote, P., Holmes, A., Singewald, N., Lüthi, A., & Ciocchi, S. (2021). Central amygdala micro-circuits mediate fear extinction. Nature Communications, 12, 4156.

Wöhr, M., Borta, A., & Schwarting, R. K. W. (2005). Overt behavior and ultrasonic vocalization in a fear conditioning paradigm: A dose–response study in the rat. Neurobiology of Learning and Memory, 84(3), 228–240.

Womelsdorf, T., & Fries, P. (2007). The role of neuronal synchronization in selective attention. Current opinion in neurobiology, 17(2), 154-160.

Xue, Y., Luo, Y., Wu, P., Shi, H., Xue, L., & others. (2012). A memory retrieval-extinction procedure to prevent drug craving and relapse. Science.

Yonelinas, A. P., & Ritchey, M. (2015). The slow forgetting of emotional episodic memories: An emotional binding account. Trends in Cognitive Sciences, 19(5), 259–267.

Zelano, C., Jiang, H., Zhou, G., Arora, N., Schuele, S., Rosenow, J., & Gottfried, J. A. (2016). Nasal respiration entrains human limbic oscillations and modulates cognitive function. Journal of Neuroscience, 36(49), 12448–12467.

Zhang, X., & Li, B. (2018). Population coding of valence in the basolateral amygdala. Nature Communications, 9, 5195.

Zhang, X., Kim, J., & Tonegawa, S. (2020). Amygdala reward neurons form and store fear extinction memory. *Neuron, 105*(6), 1077–1093.e7.

Zhang, Y., Ouyang, K., Lipina, T. V., Wang, H., & Zhou, Q. (2019). Conditioned stimulus presentations alter anxiety level in fear-conditioned mice. Molecular Brain, 12, 28.

Zhong, W., Ciatipis, M., Wolfenstetter, T., Jessberger, J., Müller, C., Ponsel, S., ... & Draguhn, A. (2017). Selective entrainment of gamma subbands by different slow network oscillations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *114*(17), 4519-4524.

Zhu, Y., Wienecke, C. F. R., Nachtrab, G., & Chen, X. (2019). Theta–gamma coupling in the prelimbic area is associated with heroin addiction. Neuropsychopharmacology, 44(11), 1951–1962.

Zola-Morgan, S., & Squire, L. R. (1991). The medial temporal lobe memory system. Science, 253(5026), 1380–1386.