



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

03021  
15

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

INSTITUTO DE FISILOGIA CELULAR  
BIOFISICA Y NEUROCIENCIAS

PARTICIPACION DE LA CORTEZA INSULAR EN  
LA MEMORIA DE RECONOCIMIENTO GUSTATIVO.

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:  
**LICENCIADO EN INVESTIGACION  
BIOMEDICA BASICA**  
P R E S E N T A :  
**LUIS ALBERTO TELLEZ LIMA**

DIRECTOR DE TESIS: DR. FEDERICO BERMUDEZ RATTONI

MEXICO, D. F.

2003

1



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

**UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE MÉXICO**

Instituto de Fisiología Celular  
Biofísica y Neurociencias

**PARTICIPACIÓN DE LA CORTEZA  
INSULAR EN LA MEMORIA DE  
RECONOCIMIENTO GUSTATIVO**

Tesis que para obtener el grado de  
**Licenciado en Investigación Biomédica Básica**  
presenta:

**LUIS ALBERTO TÉLLEZ LIMA**

Director de Tesis:  
Dr. Federico Bermúdez Rattoni

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Solomon saith: *There is no new thing upon the earth.* So that as Plato had an imagination, *that all knowledge was but remembrance;* so Solomon given his sentence, *that all novelty is but oblivion.*

**Francis Bacon, Essays, LVIII**

# ÍNDICE

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Pag.

Abreviaturas .....	2
Resumen .....	3
Introducción .....	4
El sistema gustativo .....	4
Organización del sabor .....	4
Integración de información en el sistema gustativo .....	5
Representación néural del sabor .....	5
Sustratos anatómicos de la AN y el CAS .....	7
Planteamiento del problema .....	9
Materiales y Métodos .....	10
Sujetos .....	10
Fármacos .....	10
Procedimiento quirúrgico .....	10
Microinyección .....	11
Histología .....	11
Procedimiento conductual .....	12
Resultados .....	14
E.1.-Participación de los receptores NMDA y muscarínicos en la neofobia y AN .....	14
E.2-Participación de los receptores muscarínicos en la consolidación de la AN.....	16
E.3-Ventana temporal de participación de los receptores muscarínicos en la AN.....	18
E.4-Administración repetida deEscopolamina .....	20
E.5- Efecto de la escopolamina y el AP-5 sobre el CAS .....	22
E.6- ¿Funciona la Escopolamina como estímulo incondicionado?.....	24
Discusión .....	26
El efecto de la escopolamina .....	26
La atenuación de la neofobia y la neofobia como procesos disociables .....	26
Función de los receptores muscarínicos y la Ach .....	27
Los receptores muscarínicos .....	28
Los receptores NMDA .....	30
Conclusiones .....	32
Bibliografía .....	36

1

ABREVIATURAS

<b>Ach</b>	<i>Acetilcolina</i>
<b>AN</b>	<i>Atenuación de la Neofobia</i>
<b>AP-5</b>	<i>D,L-2amino-5-acido fosfonovalerico</i>
<b>CAS</b>	<i>Condicionamiento Aversivo al Sabor</i>
<b>CI</b>	<i>Corteza Insular</i>
<b>EC</b>	<i>Estímulo Condicionado</i>
<b>EI</b>	<i>Estímulo Incondicionado</i>
<b>NMDA</b>	<i>N-Metil-D-Aspartato</i>
<b>TMG</b>	<i>Trazo de la Memoria Gustativa</i>

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## RESUMEN

Cuando un animal consume por primera vez una sustancia, una gran variedad de procesos celulares ocurren en diferentes estructuras cerebrales, algunos de ellos involucrados en la integración de la **información sensorial** (químico-somato-sensorial); otros destinados a relacionar, aprender y recordar las **consecuencias** de esta ingestión. La ingestión puede tener una variedad de consecuencias y un animal que se enfrenta con un **sabor novedoso** no tiene forma de predecirlas, así que de manera innata, tiende a consumirlo. A esta conducta se le conoce como **Neofobia**. Mientras no se presente malestar el animal incrementará el consumo (**Atenuación de la Neofobia**); pero, si el sabor es seguido de malestar, este pasa de **estímulo novedoso** a **señal familiar aversiva** y el animal desarrolla una aversión a consumirlo. A esto se le llama **Condicionamiento Aversivo al Sabor**.

La corteza insular está especialmente involucrada en el aprendizaje y la retención de conductas guiadas por el gusto. Existe evidencia experimental que sugiere que la corteza insular participa activamente en la representación mnemónica del sabor y de sus consecuencias viscerales post-ingestión, sin embargo, la mayor parte de estos estudios están hechos en CAS, y el papel de la corteza insular en la atenuación de la neofobia es aún desconocido. Se piensa que la activación de los receptores muscarínicos en la corteza insular codifica la novedad, mientras que los receptores NMDA están relacionados con la consolidación de dicha asociación. Este trabajo fue diseñado con el fin de valorar el papel que desempeña la corteza insular en la atenuación de la neofobia, en particular el de los receptores muscarínicos y NMDA, mediante el uso de sus respectivos antagonistas (Escopolamina y AP-5).

Este estudio constituye la primera evidencia de que los receptores muscarínicos en la corteza insular juegan un papel importante en la atenuación de la neofobia, la cual es un atractivo modelo para investigar los mecanismos involucrados en el trazo de la memoria gustativa.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## INTRODUCCIÓN

### El sistema gustativo

El sistema gustativo es un aparato complejo y dinámico, capaz entre otras cosas, de funcionar como un filtro que selecciona nutrientes y evita alimentos tóxicos. Cuando un animal ingiere una sustancia, una gran variedad de procesos celulares ocurren en diferentes estructuras cerebrales, algunos de ellos involucrados en la integración de la información sensorial (quimiosensorial/somatosensorial), otros destinados a relacionar, aprender y recordar las consecuencias de dicha ingesta.

### Organización del sabor

Las células receptoras del sabor traducen estímulos químicos solubles en señales eléctricas que pueden ser transmitidas al cerebro. Las células receptoras se encuentran en órganos sensoriales llamados corpúsculos gustativos los cuales están localizados en numerosas proyecciones (papilas) en el epitelio de la lengua, el paladar y la faringe. Cada célula receptora es inervada por una rama periférica de una fibra aferente primaria, cada fibra aferente se ramifica varias veces inervando a varias papilas y, dentro de cada corpúsculo gustativo, a varias células receptoras. De esta manera la actividad eléctrica registrada en una sola fibra aferente conduce información proveniente de muchas células receptoras. La información gustativa es transmitida desde los corpúsculos hacia la corteza cerebral a lo largo de una vía postsináptica (Kandel et al. 1991).



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## **Integración de información en el sistema gustativo**

La conducta de consumo de alimento representa uno de las interacciones más íntimas entre un animal y su ambiente. El sistema gustativo extrae una variedad de información de las sustancias que consume: a) reconoce y codifica los atributos físicos del sabor, b) determina el valor hedónico de cada sustancia (Smith y St 1999), c) integra la información proveniente de los procesos de digestión y absorción y d) realiza una asociación entre el sabor de las sustancias y las consecuencias fisiológicas de la ingesta. La ingestión puede tener una variedad de consecuencias, un animal que se enfrenta con un sabor novedoso no tiene forma de predecirlas y, de manera innata, titubea al consumirlo. A esta conducta se le conoce como **Neofobia**. Mientras no se presente malestar, el animal incrementará el consumo. A esta conducta se le denomina **Atenuación de la Neofobia (AN)** (Domjan, 1976). Aún no es claro qué es lo que los animales aprenden sobre el sabor, pero se ha propuesto una posible asociación entre el sabor y la ausencia de malestar (**consecuencias no-aversivas**), i.e. aprenden que lo ingerido es "seguro" (Best et al 1978, Kalat y Rozin 1973). Sin embargo, si el sabor es seguido de malestar, este pasa de estímulo novedoso a señal familiar aversiva y el animal desarrolla una aversión a consumirlo. A esto se le llama **Condicionamiento Aversivo al Sabor (CAS)**.

## **Representación neural del sabor**

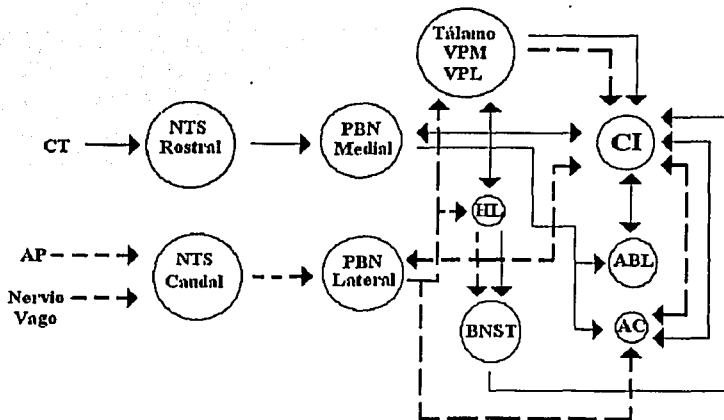
Debido a las características inherentes del proceso de digestión, la manifestación de consecuencias gástricas generalmente no ocurre de manera inmediata, por lo cual se piensa que, tanto la AN como el CAS, dependen de una representación neural del sabor que permanece activa (probablemente de forma paralela en varias regiones del cerebro) aún

cuando el sabor ya no está físicamente presente. A esta memoria se le denomina Trazo de la Memoria Gustativa (TMG) (Welzl et al 1990), o memoria gustativa de corto plazo (Bures 1998b). Así pues, se postula que el TMG persiste durante un Intervalo crítico que inicia con la codificación de los atributos físicos del sabor y termina cuando la asociación ocurre. Por otra parte, intervalos muy largos (horas) entre el sabor y el malestar, reducen la probabilidad de asociación aversiva, esto sugiere que el TMG permanece en un estado transitorio que decae lentamente para la asociación aversiva pero, simultánea y gradualmente, aumenta para consecuencias no-aversivas (Nachman y Jones 1974) (figura 7). Dicha capacidad transitoria de asociación del TGM varía en función de las características y propiedades, tanto del estímulo gustativo como de sus consecuencias (García, et al 1966, Revusky 1968, Smith y Roll 1967, Etscom y Stephens 1973, Green y Parker 1975). Una vez formada la asociación, es decir, una vez que se ha etiquetado el sabor como seguro o aversivo, esta asociación se almacena en una memoria a corto plazo que eventualmente pasa a largo plazo. Sin embargo, aun cuando un sabor ya haya sido asociado a una consecuencia en lo particular, nuevas asociaciones dependientes de experiencias posteriores, resultantes del consumo de dicho sabor son posibles.

Adicionalmente, se ha reportado que algunos tratamientos afectan diferencialmente a la AN y el CAS, por ejemplo la aplicación de pentobarbital inmediatamente después de la presentación de un sabor novedoso retrasa la AN, mientras que este mismo tratamiento no afecta la formación del CAS. Por esto, se ha propuesto la existencia de dos sistemas de etiquetamiento independientes que utilizan un mismo TMG pero diferentes mecanismos neurales, los cuales varían en función de la asociación (AN/CAS) ha realizarse. (Bures y Buresova 1982-1983).

### **Substratos anatómicos de la AN y el CAS**

Existen varios reportes acerca de los substratos anatómicos involucrados en estos aprendizajes, por ejemplo, se conoce la participación de un gran número de estructuras límbicas y neocorticales involucradas en la formación del CAS, y se sabe que lesiones del núcleo accumbens, el subiculum ventral y la amígdala afectan la neofobia. Las conexiones anatómicas de la **Corteza Insular (CI)** sugieren que esta región del cerebro juega un papel importante en la integración, mediación y posiblemente en el almacenamiento y asociación de información gustativa (Bures 1998a) (ver Esquema 1).



**Esquema 1 - Principales vías del procesamiento de la información gustativa y visceral.**

**Información gustativa:** El estímulo gustativo genera, en la lengua, un potencial de acción conducido a través del nervio el nervio VII (Corda Timpani CT) hasta el Núcleo del Tracto Solitario Rostral (NTS rostral) (Kieker 1985). Posteriormente la información gustativa es enviada a las células del Núcleo del Parabraquial medial (PBN medial). Esta estructura presenta comunicación directa con la Corteza Insular (CI) (Lasiter et al 1982) y una bifurcación en donde la información gustativa asciende y desciende: la vía ascendente se dirige al Tálamo Ventroposteromedial (VPM), de donde se proyecta a la CI; la vía descendente se dirige hacia diversas estructuras del cerebro basal como el hipocampo, sustancia innominata y al Hipotálamo Lateral (HL) que proyecta al núcleo de la base estriada terminalis (BNST), el cual a su vez se encuentra comunicado con la CI. Otra proyección del parabraquial se dirige a la Amígdala Central (AC) y a la Amígdala Basolateral (ABL), ambas estructuras envían la información gustativa a la CI (Bures et al 1998).

**Información visceral:** El nervio vago censa y envía la información visceral (malestar) del tracto gastrointestinal al Núcleo del Tracto Solitario Caudal (NTS caudal). En el torrente sanguíneo el Área Postrema (AP), que actúa como quimiorreceptor para ciertas toxinas (e.g. LiCl), conduce la información hasta el NTS caudal. De esta estructura, la información visceral es mandada al Núcleo Parabraquial lateral (PBN lateral), donde la información visceral se bifurca: la vía ascendente se dirige al núcleo del Tálamo Ventroposterolateral (VPL) que proyecta a la CI; la vía descendente se dirige hacia diversas estructuras del cerebro basal como el hipocampo, sustancia innominata y al hipotálamo lateral (HL) que proyecta al núcleo de la base estriada terminalis (BNST), este a su vez se comunica con la CI. Otra proyección de esta vía se dirige a la Amígdala Central (AC), donde la información visceral es enviada a la CI (Bures et al 1998).

Como se observa la CI recibe aferencias de prácticamente todas las estructuras involucradas en el procesamiento de la información gustativa y visceral.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La corteza insular está especialmente involucrada en el aprendizaje y la retención de conductas guiadas por el gusto, existe evidencia experimental que indica que la corteza insular participa activamente en la representación mnemónica del sabor y de sus consecuencias viscerales post-ingestión. Tanto el CAS como la AN son paradigmas que dependen de la asociación entre un estímulo gustativo (preferentemente novedoso) y sus consecuencias viscerales postingestionales. Se ha reportado que la inyección bilateral de Escopolamina y AP-5 (2-amino-5-acido fosfonovalerico) en la corteza insular antes de la presentación del estímulo novedoso interfieren con el aprendizaje gustativo (degradan el aprendizaje del CAS) (Naor y Dudai 1996, Rosenblum et al. 1997, Gutierrez et al. 1999b, Berman et al. 2000); sin embargo el papel de la corteza insular en la atenuación de la neofobia es aún desconocido.

Se piensa que la activación de los receptores muscarínicos en la corteza insular codifica la novedad, mientras que los receptores NMDA están relacionados con la consolidación de dicha asociación (Ferreira et al 2002). El paradigma empleado en esta tesis utiliza solo un estímulo (sabor novedoso), y nos permite medir de manera selectiva dos componentes conductuales: uno que requiere la **detección de la novedad** (neofobia) y otro, que requiere el **reconocimiento de ocurrencia previa** (AN). Este trabajo está diseñado con el fin de valorar el papel que desempeña la corteza insular en la atenuación de la neofobia, en particular el de los receptores muscarínicos y NMDA, mediante el uso de sus respectivos antagonistas (Escopolamina y AP-5), aportando con ello información que ayude a entender cual es la función de estos receptores en la integración de la información gustativa.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Sujetos

Se utilizaron 248 animales Wistar machos con un peso entre 260-300 g. al inicio del experimento. Todos los animales fueron colocados en cajas individuales y mantenidos en un ciclo de 12 hrs. luz-oscuridad. Toda manipulación fue realizada durante la fase de luz. Al inicio de cada experimento, las ratas fueron contrabalanceadas por peso y asignadas a los distintos grupos experimentales. Las ratas tuvieron agua y comida *ad libitum* excepto durante los procedimientos conductuales.

### Fármacos

- Se utilizó como vehículo y como solvente una solución Fisiológica Ringer (118 mM NaCl, 4.7 mM KCl, 1.2 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 1.2 mM  $\text{MgSO}_4$ , 2.5 mM  $\text{CaCl}_2$ , 19 mM  $\text{NaHCO}_3$ , 3.3 mM Glucosa).
- Como antagonista de los receptores muscarínicos: hidrobromuro de escopolamina (SIGMA).
- Como antagonista de los receptores NMDA: D,L-2-amino-5- ácido fosfonovalerico (AP-5) (SIGMA).

### Procedimiento quirúrgico

#### Implantación de cánulas

Los animales fueron anestesiados con pentobarbital sódico (65 mg/Kg de peso) y colocados en un aparato estereotáxico. Se implantaron cánulas bilaterales 2.5 milímetros arriba de la corteza insular, con base en las coordenadas de Paxinos (Paxinos y Watson

1986): AP=+1.2, LAT=±5.5, DV=3 con respecto a Bregma. Las cánulas se fijaron al cráneo por medio de dos tornillos y acrílico de dentista.

### **Microinyección**

Las ratas recibieron una inyección bilateral utilizando una aguja dental conectada a una bomba de microinfusión a través de una tubería de polietileno. La aguja se introdujo y guiada por las cánulas hasta la corteza insular (DV=5.5). Se inyectó un volumen de 0.5  $\mu$ l/lado en un tiempo total de 1 minuto. Para permitir una mejor difusión del fármaco la aguja fue retirada 2 minutos después de haber terminado la inyección.

Los fármacos se disolvieron en Ringer Fisiológico. Las concentraciones empleadas de los fármacos fueron: para escopolamina 60  $\mu$ g/ $\mu$ l; y para AP-5 10  $\mu$ g/ $\mu$ l. Estas concentraciones se escogieron de acuerdo con reportes previos (Naor y Dudai 1996, Berman et al. 2000, Gutierrez et al. 1999).

### **Histología**

Al final del experimento, para verificar el sitio de inyección, las ratas fueron sacrificadas con una sobredosis de pentobarbital. Los animales fueron microinyectados con azul de pontamina y posteriormente perfundidos a través de la aorta ascendente con solución salina (0.19 M NaCl) seguida de paraformaldehído al 4% en buffer 0.1 M de fosfatos.

### **Procedimiento conductual**

Cinco días después de la implantación de las cánulas a todos los animales se les retiró el agua durante 24 hrs. En los siguientes tres días se registró el consumo diario de agua, este consumo estaba restringido a 15 minutos por día, con la finalidad de estabilizar el consumo de agua (establecer la línea base). El cuarto día el agua fue sustituida por una solución de sacarina y se realizó el ensayo correspondiente al grupo:

### **Neofobia y Atenuación de la Neofobia**

Para este procedimiento conductual se usó una versión modificada del protocolo de Domjan (Domjan 1976). En el cuarto día se midió la respuesta neofóbica mediante la presentación de sacarina 0.5% (p/v) a la que los animales tuvieron acceso durante 15 minutos; después de esto, las ratas tuvieron acceso a un bebedero con agua durante otros 15 minutos, este consumo adicional de agua se realizó para asegurar que los animales cubrieran sus requerimientos diarios de líquido. Este procedimiento se repitió durante los siguientes 4 días (días 5-8) con el fin de medir la Atenuación de la Neofobia.

La respuesta neofóbica se analizó en términos de la reducción en el consumo del sabor novedoso, es decir, comparando el primer consumo de sacarina 0.5% con el de la línea base, mientras que la atenuación de la neofobia se midió con base al incremento en el consumo de sacarina en las siguientes presentaciones.

### **Condicionamiento Aversivo a los Sabores**

En el cuarto día se realizó el ensayo de adquisición del CAS. Se presentó a los animales una solución de sacarina 0.1% (p/v) a la que tuvieron acceso durante 15 minutos; 15 minutos después de haber sido retirada la sacarina las ratas recibieron una inyección



# TESIS CON FALLA DE ORIGEN

intraperitoneal de 0.4 M LiCl (7.5 ml/Kg. de peso). En los días cinco y seis, las ratas tuvieron acceso al agua (15 min./día). 72 horas después del ensayo de adquisición se realizó el ensayo de prueba, esto es, se les presentó nuevamente sacarina. El consumo de esta presentación se usó como indicador de la aversión.

## RESULTADOS

### E.1-Participación de los receptores NMDA y muscarínicos en la neofobia y la AN

El CAS es un paradigma conductual que depende de la asociación entre un estímulo gustativo (preferentemente novedoso) y sus consecuencias viscerales postingestionales (malestar). Se ha reportado que la inyección bilateral de Escopolamina y AP-5 en la corteza insular antes de la presentación del estímulo novedoso bloquea el aprendizaje del CAS. Se piensa que la activación de los receptores muscarínicos en la CI codifica la novedad, mientras que los receptores NMDA están relacionados con la consolidación de dicha asociación (Ferreira et al 2002).

El paradigma empleado en esta tesis utiliza solo un estímulo (sabor novedoso), y nos permite medir de manera selectiva dos componentes conductuales: uno que requiere la **detección de la novedad (neofobia)** y otro, que requiere el **reconocimiento de ocurrencia previa (AN)**. Para valorar la participación de los receptores NMDA y muscarínicos tanto en la respuesta neofóbica como en la AN, los fármacos (AP-5 y Escopolamina) fueron inyectados antes de la primera presentación de sacarina.

#### Diseño Experimental

Los animales se separaron en cuatro grupos y se sometieron al procedimiento conductual para neofobia y AN. Tres grupos se canularon y 20 minutos antes de la primera presentación de la sacarina 0.5% (día 4) recibieron, de acuerdo al grupo al que pertenecían, inyecciones bilaterales en la CI de: Escopolamina (Grupo Scop n=13), AP-5 (Gpo. AP-5

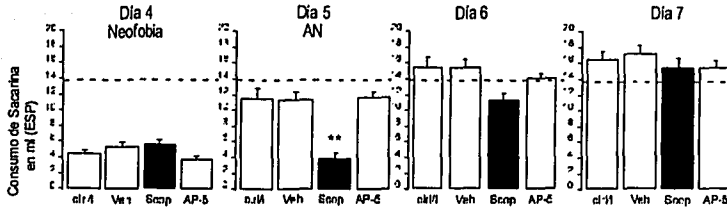
n=13) o Ringer (Gpo. Vehículo n=10). El cuarto grupo se utilizó como control intacto (Gpo. Ctrl/I n=13).

### Resultados

No hubo diferencias en el consumo de la línea base entre los grupos [ANOVA de una vía,  $F_{(3,45)}=0.24$ ;  $p>0.05$ ]. El consumo promedio de agua de la línea base (días 1-3) para cada uno de los grupos Ctrl/I, Vehículo, Scop y AP-5 fue  $13.7\pm 1$ ,  $14.1\pm 0.7$ ,  $14.3\pm 0.6$  y  $13.6\pm 0.4$ , respectivamente.

Todos los grupos mostraron una fuerte respuesta neofóbica, aun a pesar de los tratamientos farmacológicos (figura 1). En la primera presentación (día 4) no hubo diferencias significativas ni en el consumo de sacarina ( $F_{(3,45)}=1.15$ ;  $p>0.05$ ), ni en el consumo total (sacarina + agua). El consumo total promedio fue  $17.5\pm 1.1$ ,  $16.6\pm 1.3$ ,  $15.07\pm 0.8$  y  $15.5\pm 0.8$  para los grupos Ctrl/I, Vehículo, Scop y AP-5, respectivamente. Esto revela que ninguno de los tratamientos altera ni el consumo de líquidos, ni la respuesta neofóbica.

En la segunda presentación (día 5) se encontraron diferencias significativas entre grupos ( $F_{(3,45)}=13.9$   $p<0.001$ ). Un análisis Post hoc reveló que el grupo Scop, comparado con el resto de los grupos, aún presenta respuesta neofóbica (Fisher,  $p's<0.05$ ). Esto sugiere que la escopolamina previene la AN (ver día 5, figura 1). Sin embargo este efecto no es permanente, ya que a partir de la tercera presentación (día 6) los animales del grupo Scop atenuaron normalmente (ver días 6-7, figura 1). **La aplicación de AP-5 no tuvo efecto sobre la AN.**



**Figura 1.** Efecto sobre la neofobia (día 4) y la AN (días 5-7) de la inyección de Vehículo (Veh), Escopolamina (Scop) y AP-5 en CI 20 minutos antes de la presentación de la sacarina. La línea punteada representa el consumo promedio de la línea base. Diferencia significativa: \*\*  $p < 0.01$

## E.2-Participación de los receptores muscarínicos en la consolidación de la AN

Para conocer el efecto de los fármacos en la consolidación de la AN los antagonistas fueron inyectados 15 minutos después de la primera presentación del sabor (día 4).

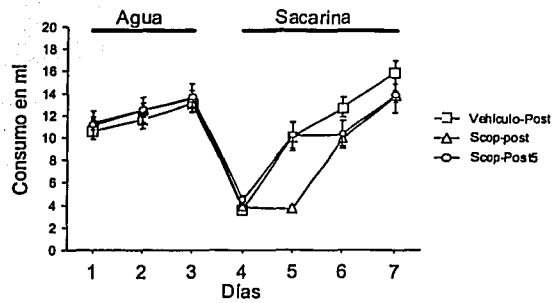
### Diseño Experimental

Se usaron cuatro grupos. Los grupos fueron los siguientes: Scop-Post (n=13), AP-5-Post (n=8) y Vehículo-Post (n=12). Adicionalmente, para descartar una posible supresión inespecífica en el consumo de sacarina inducida por la escopolamina, un grupo (Scop-Post5 n=8) recibió una inyección de escopolamina 30 minutos después de la segunda presentación (día 5).

### Resultados

No hubo diferencias significativas entre grupos tanto en el consumo de la línea base ( $F_{(3,37)}=.24$ ;  $p>0.05$ ) como en la respuesta neofóbica a sacarina ( $F_{(3,37)}=.9$ ;  $p>0.05$ ). Como se muestra en la figura 2 la inyección de escopolamina 15 minutos después de la primera presentación de sacarina también previene la AN ( $F_{(3,37)}=11.8$ ;  $p<0.001$ ). Una prueba post hoc de Fisher mostró que sólo el grupo Scop-Post es significativamente diferente al resto de los grupos ( $p<0.001$ ). Esto significa que el grupo Scop-Post consumió en la segunda presentación una cantidad similar a la primera (ver día 5, figura 2). La inyección de AP-5, 15 minutos después de la primera presentación de sacarina, no tuvo efecto sobre la AN. El consumo promedio diario para este grupo (AP-5-post) del día 4 al 7 fue (en ml) de  $3.5\pm.6$ ,  $10.3\pm1.6$ ,  $13.5\pm1$  y  $15.6\pm.8$ , respectivamente.

Por otra parte, la inyección de escopolamina no indujo un decremento inespecífico del consumo de sacarina. Una prueba de t no apareada mostró que no hay diferencias significativas entre los grupos Scop-Post5 y Vehículo-Post ( $t_{(17)}=1.69$ ;  $p>0.05$ ) en el día 6. Sin embargo, una prueba de t apareada entre los días 5 y 6 señaló que el grupo Scop-Post5 no incrementó su consumo de sacarina ( $t_{(6)}=0.57$ ;  $p>0.05$ ), mientras que el grupo vehículo si lo hizo ( $t_{(11)}=-3.1$ ;  $p<0.05$ ).



**Figura 2.** Cada punto representa el consumo promedio diario: agua de día 1 al 3; sacarina del día 4 al 5. La escopolamina (Scop-post) o el vehículo (Vehículo-post) fueron inyectadas 15 minutos después de la primera presentación de sacarina (día 4). El grupo Scop-Post5 recibió la inyección de escopolamina inmediatamente después de la segunda presentación (día 5). Diferencia significativa respecto a su correspondiente grupo control: \*\* $p < 0.01$ .

### E.3-Ventana temporal de participación de los receptores muscarínicos en la AN

Se sabe que la AN es un proceso gradual que tiene lugar entre las cuatro y ocho horas después de la primera presentación del sabor novedoso (Nachman y Jones, 1974) (Green y Parker, 1975). Por otra parte, la inyección Escopolamina en CI, antes o después de la primera presentación de sacarina previene la AN (ver figuras 1 y 2). Lo anterior sugiere que probablemente para este proceso, la actividad de los receptores muscarínicos es necesaria durante un cierto intervalo posterior a la presentación del estímulo. Por ello se trató de determinar la ventana temporal de participación de los receptores muscarínicos, mediante la inyección de escopolamina en CI a distintos tiempos después de la presentación del sabor novedoso .

### Diseño Experimental

Se usaron siete grupos a los que se les aplicó, después de la primera presentación de sacarina (día 4), una inyección de escopolamina en alguno de los siguientes tiempos: 15 min (n=8), 30 min (n=8), 2 hrs (n=5), 4 hrs (n=9), 8 hrs y 12 hrs (n=9). Un grupo adicional (Gpo. Veh) recibió solución ringer 30 minutos después de la primera presentación (día 4), este grupo se usó como control. Veinticuatro horas después del primer consumo, todos los grupos tuvieron la segunda presentación del sabor (día 5).

### Resultados

En la primera presentación se observó una fuerte respuesta neofóbica en todos los grupos ( $F_{(6,49)}=0.43$ ;  $p>0.05$ ). Sin embargo, se encontraron diferencias significativas entre grupos en la AN ( $F_{(6,49)}=9.4$ ;  $p<0.05$ ). Una prueba post hoc apareada de Fisher mostró que los grupos 15min, 30min y 2hrs eran significativamente diferentes del resto de los grupos ( $p's<0.01$ ). No se encontraron diferencias entre los grupos 8hr, 12hr y el grupo Vehículo. Esto indica que todos los grupos que recibieron la inyección de escopolamina en las 2 primeras horas después de la presentación del sabor (día 4) no incrementaron en la presentación subsecuente (día 5) su consumo de sacarina, mientras que la inyección de escopolamina en intervalos mayores o iguales a 8 horas no tienen efecto sobre la AN. El grupo de las 4hr fue diferente al resto de los grupos ( $p's<0.05$ ) indicando que la inyección de escopolamina a este tiempo afecta, aunque no con la misma intensidad que en tiempos menores, la AN.

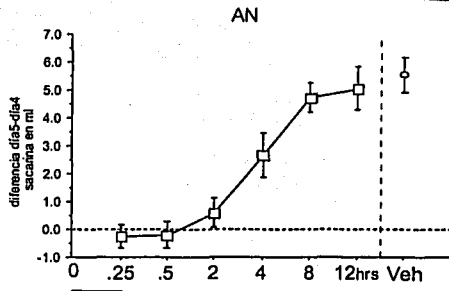


Figura 3. Curso temporal del efecto de la inyección de escopolamina después de la presentación de sacarina a distintos intervalos (0- 12 hrs.). La AN esta expresada como el promedio de las diferencia en el consumo de sacarina entre los días 4 y 5. Un valor igual a cero (línea punteada) indica un consumo igual en ambos días. Cada cuadrado corresponde a un grupo y su tiempo de inyección. La barra negra indica el tiempo de duración del estímulo gustativo novedoso. El círculo representa al grupo Vehículo. Diferencia significativa con respecto al grupo Vehículo: \* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ .

#### E.4-Administración repetida de Escopolamina

La activación de los receptores muscarínicos parece jugar un papel determinante para la AN, el bloqueo de estos receptores antes o después de la estimulación gustativa previene la AN. Una posible explicación, al menos en el caso en que la inyección es previa al estímulo novedoso, es que este tratamiento induzca un aprendizaje dependiente de estado (la atenuación inicia en estado farmacológico distinto). Con el propósito de valorar más extensamente la participación de los receptores muscarínicos en la AN y determinar si la administración repetida de escopolamina puede prevenirla, se inyectó escopolamina antes y después de la primera y segunda presentación de sacarina.



### Diseño Experimental

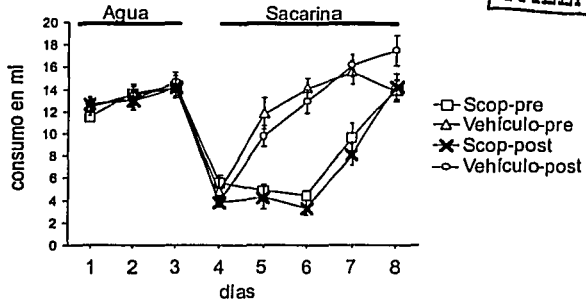
Se usaron cuatro grupos, divididos de la siguiente manera: dos grupos recibieron una inyección de escopolamina (D-Scop-Pre, n=9) o solución ringer (D-Vehículo-Pre, n=10) 20 minutos antes de la primera y segunda presentación; los dos restantes recibieron una inyección de escopolamina (D-Scop-Post, n=8) o solución ringer (D-Vehículo-Post, n=10) 30 minutos después de la primera y segunda presentación.

### Resultados

No hubo diferencias significativas entre grupos en el consumo de la línea base. Un ANOVA de medidas repetidas [días 4-8 x grupos] mostró: a) diferencias significativas entre grupos ( $F_{(3,31)}=11.3$ ;  $p<0.001$ ); b) un efecto significativo en el día de presentación ( $F_{(4,124)}= 126.4$ ;  $p<0.001$ ); c) interacción entre días y grupos ( $F_{(12,124)}= 13$ ;  $p<0.001$ ). Una prueba de Fisher post hoc indicó que los grupos D-Scop-Pre y D-Scop-Post no son diferentes entre ellos, pero sí son diferentes de los grupos Vehículo-Pre y Vehículo-Post (figura 4). Estos resultados muestran que los grupos que recibieron inyecciones de escopolamina no incrementaron su consumo de sacarina, es decir, la administración de escopolamina en las dos primeras presentaciones previno la AN.

Por otra parte, ya que la escopolamina previno la AN aun cuando los animales bebieron sacarina bajo el mismo estado farmacológico en la primera y segunda presentación, queda descartada la posibilidad de que la escopolamina induzca un aprendizaje estado dependiente (Morilak, Orndoff, et al. 1983).

TESIS CON  
 FALLA DE ORIGEN



**Figura 4.** Cada punto representa el consumo promedio. Scop o Veh indica inyección de escopolamina o vehículo respectivamente. Los grupos "pre" fueron inyectados 20 minutos antes, los grupos "post" 30 minutos después de la primera (día 4) y segunda (día 5) presentación del sabor. Diferencia significativa con respecto al grupo control: \*\*p<0.01.

### E.5- Efecto de la escopolamina y el AP-5 sobre el CAS

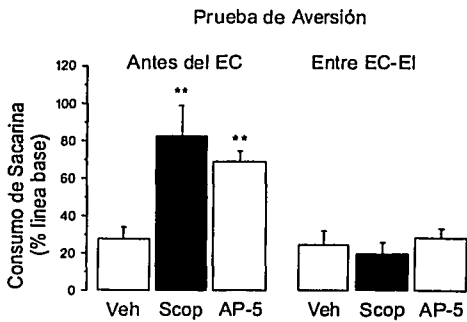
Para saber si las dosis y los volúmenes de los fármacos empleados en estos experimentos tenían efecto fisiológico, valoramos los efectos del AP-5 y la escopolamina sobre aprendizaje del CAS a sacarina a 0.1% (se sabe que esta tarea es sensible a estos tratamientos) (Ferreira et al. 2002).

#### Diseño Experimental

Se formaron 6 grupos: Vehículo-Pre (n= 9), Vehículo-Post (n= 7), Scop-Pre (n= 7), Scop-Post (n= 9), AP-5-Pre (n= 7) y AP-5-Post (n= 9). Los grupos "Pre" fueron inyectados 20 minutos antes de la primera presentación de sacarina, los grupos "Post" fueron inyectados inmediatamente después de la presentación del sabor. Un grupo adicional permaneció sin operar como control intacto (Ctrl n= 7). A todos los grupos se les indujo malestar 15 minutos después de terminada primera presentación del sabor (sacarina 0.1%).

**Resultados**

No se encontraron diferencias significativas entre los grupos en el consumo de la línea base ( $F_{(5,41)}=1.9$ ;  $p>0.05$ ). Un ANOVA de dos vías [tres tratamientos {Scop, AP-5 y Vehículo} x 2 tiempos de inyección {antes y después de la presentación del sabor}] mostró diferencias significativas entre tratamientos ( $F_{(2,41)}=5.6$ ;  $p<0.05$ ), y tiempos de inyección ( $F_{(1,41)}=27.9$ ;  $p<0.05$ ), además de interacciones significativas entre estos ( $F_{(1,41)}=6.7$ ;  $p<0.05$ ) (figura 5). Una prueba de Fisher post hoc mostró que sólo los grupos Scop-pre y AP-5-pre afectan el CAS. La escopolamina y el AP-5 interfieren con el aprendizaje del CAS sólo cuando son aplicados antes de la presentación del sabor novedoso (figura 5), esto concuerda con lo antes reportado (Ferreira et al 2002).



**Figura 5.** Efecto de la escopolamina y el AP-5 sobre el CAS. La aversión esta expresada en porcentaje respecto al consumo promedio de agua en la línea base. Los fármacos fueron inyectados antes de la primera presentación de sacarina (EC) o entre la primera presentación y el LiCl (EC-EI). Diferencia significativa respecto al grupo control: \*\* $p<0.01$ .

### **E.6- ¿Funciona la Escopolamina como estímulo incondicionado?**

Una explicación alternativa de los efectos de la escopolamina sobre la AN podría ser la siguiente: la escopolamina funciona como un estímulo incondicionado que se asocia con el sabor novedoso (desarrollan aversión al sabor), y por ello los animales no incrementen su consumo de sacarina. Con el fin de evaluar esta hipótesis se inyectó escopolamina antes y después de la primera presentación de sacarina a 0.1%. Se redujo la concentración de sacarina debido a que: la respuesta neofóbica a esta concentración no es tan fuerte (Domjan 1977); esta es la concentración comúnmente utilizada en los estudios de CAS (Bures 1998b). Entonces, si la escopolamina sirve como estímulo incondicionado, los animales mostraran en la segunda presentación una reducción significativa en el consumo con respecto a la primera presentación.

#### **Diseño Experimental**

Se formaron 4, dos grupos recibieron una inyección de escopolamina 20 minutos antes (Scop-Pre n =8) o inmediatamente después (Scop-Post n =9) de la primera presentación, los otros dos grupos recibieron ringer en los mismos tiempos (Vehículo-Pre n =9; Vehículo-Post n =9).

#### **Resultados**

No se encontraron diferencias significativas entre los grupos en el primer consumo de sacarina ( $F_{(3,31)}=1.35$ ;  $p<0.05$ ). Los promedios en el consumo de sacarina fueron: Vehículo antes  $13.1\pm 0.6$ , Vehículo después  $11.8\pm 0.9$ , escopolamina antes  $11.2\pm 0.5$  y escopolamina después  $11.2\pm 0.9$ . Como muestra la figura 6, ninguno de los grupos bebió

en la segunda presentación menos sacarina con respecto a su primer consumo. Esto demuestra que la escopolamina no funciona como estímulo incondicionado.

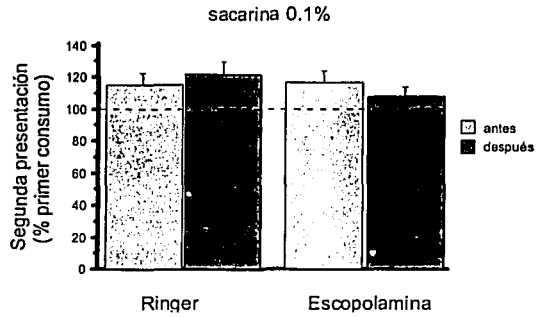


Figura 6. Efecto de la inyección de escopolamina en CI 20 minutos antes o inmediatamente después de la primera presentación de sacarina 0.1%. Las barras indican el consumo de la segunda presentación expresada en porcentaje respecto al primer consumo.

## DISCUSIÓN

### **El efecto de la escopolamina**

Los resultados obtenidos muestran que la inyección de escopolamina interfiere con el proceso de la atenuación de la neofobia. Este efecto, que se traduce en un bajo consumo de sacarina, no es inespecífico ya que la inyección de escopolamina no afecta el consumo de una solución familiar; tampoco es permanente, ya que una vez que el tratamiento farmacológico es suspendido, y aún después de dos inyecciones del fármaco, la AN ocurre normalmente. La escopolamina previene la atenuación de la neofobia incluso cuando los animales bebieron sacarina bajo el mismo estado farmacológico en la primera y segunda presentación del sabor, esto demuestran que la escopolamina no induce un aprendizaje estado dependiente. Además, la escopolamina no funciona como estímulo incondicionado. Lo anterior apunta a que, probablemente, la inyección de escopolamina previene la AN haciendo que el sabor permanezca como novedoso en la siguiente presentación.

### **La Atenuación de la Neofobia y la Neofobia como procesos disociables**

El paradigma empleado en esta tesis permite medir de manera selectiva dos componentes conductuales: uno que requiere la detección de la novedad (neofobia) y otro, que requiere el reconocimiento de ocurrencia previa (AN). Usando este protocolo, se encontró que ninguno de los tratamientos aplicados, ni la escopolamina ni el AP-5, interfieren con la respuesta neofóbica, lo que hace pensar que estos tratamientos no afectan ni la percepción del sabor (los atributos físicos), ni la discriminación de la novedad. Sin embargo, la inyección de escopolamina afecta la Atenuación de la Neofobia, suprimiéndola. Este efecto supresor de la escopolamina sobre la AN no es permanente (basta una

presentación en ausencia del fármaco para que el proceso de atenuación inicie o continúe), y ocurre si el fármaco es aplicado antes o después de la presentación del sabor. Estos resultados evidencian una clara disociación entre la AN y la neofobia (incluyendo la percepción del sabor), sugiriendo que el TMG procesa esta información de manera independiente y probablemente en estructuras distintas.

En este sentido, se han encontrado importantes deterioros de la respuesta neofóbica inducidos por lesiones del núcleo parabraquial (Reilly y Trifunovic, 2001) y la amígdala (Nachman y Ashe, 1974). Además, la infusión de AP-5 en el núcleo accumbens disminuye la neofobia a alimentos (Burns et al. 1996) e interfiere con la detección de la novedad espacial y de objetos (Usiello et al. 1997). Una posible explicación, que integra estos datos y los resultados aquí presentados, es que la neofobia al sabor esta mediada principalmente por estructuras límbicas y corticales, mientras que la AN requiere de la participación de componentes corticales y subcorticales.

### **Función de los receptores muscarínicos y la ACh**

Es un hecho conocido que la neurotransmisión colinérgica juega un papel crucial en los procesos de atención, aprendizaje y memoria (Giovannini et al 2001). Existe evidencia farmacológica que muestra que los receptores muscarínicos están involucrados con el aprendizaje y almacenamiento de la memoria en humanos, primates y roedores (Hasselmo y Bower 1993) (Massey et al 2001). Sin embargo, la función del sistema colinérgico aún no es clara.

Se ha reportado que el sistema cortical colinérgico se activa cuando los animales entran en contacto con varias clases de estímulos novedosos (e.g. tonos, objetos, ambientes), entre ellos estímulos gustativos. Sin embargo, parece no existir una relación

sencilla entre la ACh y las diferentes conductas durante las cuales su incremento es detectado. Recientemente se encontró que el consumo de sacarina novedosa, induce un incremento en la liberación de ACh en la CI. Por lo cual se ha propuesto que la ACh podría estar codificando la novedad del sabor (Miranda et al 2000). Los resultados aquí obtenidos están de acuerdo con esa idea, y más aún, sugieren que la ACh, a través de los receptores muscarínicos, desencadena los procesos celulares involucrados en la AN.

### **Los receptores muscarínicos y la CI**

Se especula que la formación del TMG necesita la participación cortical. Sin embargo, su actividad puede mantenerse aún después de la decorticación funcional, i.e. este tratamiento no afecta el aprendizaje del CAS. Esto sugiere que el TMG utiliza, para su representación, diversas estructuras cerebrales, probablemente estructuras del cerebro medio como la amígdala lateral (Swank 2000), donde puede ser asociado a consecuencias gastrointestinales aversivas (Buresova y Bures, 1973). Contrariamente, la decorticación funcional después de la presentación del sabor impide la AN (Buresova y Bures, 1980), lo que indica que los procesos implicados en la AN probablemente continúan en estructuras corticales. Adicionalmente, la escopolamina interfiere con el aprendizaje del CAS solo cuando es inyectada antes de la presentación sabor (figura 5) (Naor y Dudai, 1996), lo que quiere decir que el sistema colinérgico cortical está implicado en la formación, pero no en la asociación de consecuencias aversivas al TMG (Deutsch 1978, Kral 1971, Nadal 2001, Miranda y Bermúdez, 1999). Sorprendentemente, la AN fue afectada por inyecciones de escopolamina hechas aun después de la presentación del sabor. Entonces, la AN requiere la actividad de los receptores muscarínicos en la CI aún después de la presentación.



Todo lo anterior sugiere que el CAS y la AN inicialmente comparten un mismo trazo gustativo y que más tarde, para su asociación y almacenamiento, ambas conductas podrían disponer de diferentes mecanismos neurales (Stewart y Reidinger 1984, Braveman y Jarvis 1978) y farmacológicos (Buresova y Bures, 1980; Aguado et al., 1994, Ellis y Kesner, 1981).

En reportes previos se encontró que la estimulación eléctrica de la formación reticular del cerebro medio (Kesner y Berman, 1977) o la infusión de norepinefrina en la amígdala basolateral (Ellis y Kesner, 1981) después del consumo de un sabor novedoso interfiere con la AN, pero deja intacto el aprendizaje del CAS. Por lo tanto, es posible que la asociación de los componentes "seguro / aversivo" al TMG puedan procesarse no sólo por mecanismos distintos, sino de manera independiente a través de componentes subcorticales (e.g. formación reticular del cerebro medio, amígdala) y corticales (CI). Cabe recalcar que aun falta por determinar el papel exacto de los receptores muscarínicos en el CAS y la AN en estas estructuras subcorticales.

Los datos aquí expuestos revelan que la actividad temporal de los receptores muscarínicos en la CI tiene un papel doble en la memoria gustativa: Participa en la formación del TMG y está involucrado en el aprendizaje y/o la consolidación de la AN. Además, recientemente se demostró que la inyección de escopolamina en CI antes de la presentación del sabor novedoso afecta la memoria del CAS a corto y a largo plazo (Ferreira et al., 2002). Todo esto indica que la escopolamina interfiere un paso común en ambas conductas, probablemente la formación del TMG. Esta idea coincide con informes previos hechos en humanos (Petersen, 1977), monos (Aigner et al., 1991) y ratas (Bohdanecy y Jarvik, 1967), en los que se encontró, en tareas no-gustativas, que la formación del trazo de la memoria se ve afectada por la escopolamina.

Por otra parte, se sabe que la AN es un proceso gradual que tiene lugar entre las cuatro y ocho horas después de la experiencia gustativa novedosa (Nachman y Jones, 1974) (Green y Parker, 1975). Adicionalmente, la escopolamina pierde gradualmente su efecto sobre la AN (2-8 horas después de la presentación del sabor novedoso) (figura 3). Esto señala que la escopolamina interfiere en fases medias, y probablemente en fases tardías, del proceso de atenuación o en el de su consolidación.

### **Los receptores NMDA**

Se ha reportado que los receptores NMDA tienen un papel importante en la consolidación de la memoria gustativa aversiva (Gutierrez et al 1999b, Yasoshima et al. 2000, Rosenblum et al., 1997; Berman et al., 2000). Contrariamente, los receptores NMDA de la CI no participan en la AN. Este resultado apoya la idea de que el bloqueo de receptores NMDA no interfiere con el TMG, aseveración que coincide con el hecho de que el antagonista de los receptores NMDA afecta solo la memoria a largo plazo del CAS (Ferreira et al., 2002). Estos resultados indican que el AP-5 no interfiere con el trazo gustativo, ni su asociación a consecuencias aversivas, pero esta asociación no se consolida en una memoria más estable. Recientemente se encontró que durante la exposición a un ambiente novedoso o a una segunda exposición al mismo, no hay cambio en la liberación de glutamato en la corteza parietal (Giovannini et al. 2001). Tampoco se encontraron cambios en la liberación de glutamato en la corteza insular después de la presentación de un sabor novedoso (Miranda et al., 2002). Esto sugiere que la actividad cortical del glutamato no es modulada por el grado de familiaridad o novedad de los estímulos. Además, se ha propuesto que la actividad glutamatérgica en la amígdala señala estímulos viscerales más que estímulos gustativos durante la adquisición del CAS (Miranda et al., 2002). Por lo

tanto, el hecho de que el AP-5 no afectara la AN, aún cuando la concentración y el volumen inyectado era suficiente para afectar el aprendizaje del CAS (figura 5), es consistente con la literatura. Se ha demostrado que la inyección sistémica de ketamina (un antagonista no-competitivo de los receptores NMDA), bloquea el aprendizaje del CAS (Welzl et al., 1990) pero no la AN (Aguado et al., 1994). Todos estos datos en conjunto sugieren que la AN puede conservarse en mecanismos insensibles al bloqueo de receptores NMDA en la corteza insular.

## CONCLUSIONES

La respuesta neofóbica y la percepción gustativa, son eventos independientes de la actividad de los receptores muscarínicos y NMDA en corteza insular.

El trazo de la memoria gustativa se forma de manera simultanea a la ingesta, probablemente inmediatamente después de que el animal ha probado el sabor y depende de la actividad del sistema colinérgico cortical, en particular, de la activación de los receptores muscarínicos en la corteza insular. Además esta activación podría estar relacionada con ciertas propiedades particulares del estímulo gustativo como la novedad.

El sistema colinérgico cortical esta involucrado en la formación del trazo gustativo de la memoria pero no en la asociación y el almacenamiento de este con consecuencias aversivas.

La activación de los receptores muscarínicos en la corteza insular es un paso necesario para la atenuación de la neofobia.

La atenuación de la neofobia es un proceso gradual que tiene lugar entre las 2-8 hrs. después de la ingestión, este proceso no solo requiere la activación de los receptores muscarínicos, sino también de su actividad varias horas después de la estimulación gustativa.

La actividad temporal de los receptores muscarínicos en la corteza insular participa en los procesos relacionados con la formación de la atenuación de la neofobia así como en la consolidación de esta.

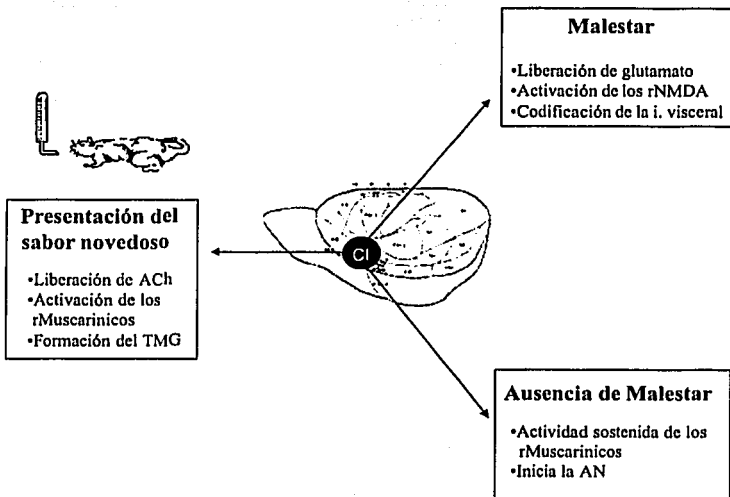
La asociación del trazo de la memoria gustativa con consecuencias no-aversivas requiere de la participación de los receptores muscarínicos, pero es independiente de la actividad de los receptores NMDA.

La actividad glutamatergica no esta modulada por el grado de novedad o familiaridad del estímulo. La formación del trazo gustativo de la memoria es independiente de la activación de los receptores NMDA en corteza insular. Sin embargo, la activación de estos receptores juega un papel importante para el CAS.

Existe una clara disociación entre la atenuación de la neofobia y la neofobia, sugiriendo que el trazo de la memoria gustativa procesa esta información usando vías independientes y probablemente estructuras diferentes. La neofobia esta mediada principalmente por estructuras subcorticales y límbicas, mientras que, probablemente, la AN requiere de componentes corticales y subcorticales.

Para su formación, la atenuación de la neofobia depende del componente seguro, y el CAS del componente aversivo. Ambos aprendizajes comparten inicialmente el TMG pero pueden usar estructuras y vías distintas para su asociación y consolidación.

La inyección de escopolamina en corteza insular antes de la presentación del sabor novedoso interfiere con un paso común a ambos paradigmas (CAS/AN), probablemente la formación del trazo de la memoria gustativa.



Esquema 2. Resumen de los eventos en la corteza insular relacionados con la memoria gustativa.

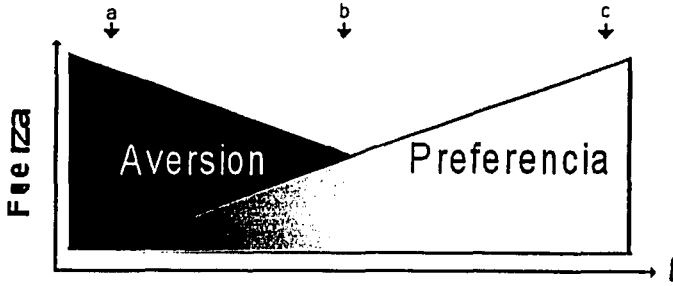


Figura 7. Representación gráfica de la teoría de la seguridad aprendida "learned safety". Esta teoría propone, que la atenuación de la neofobia depende de la asociación de un sabor con consecuencias no-aversivas, i.e. la ausencia de malestar determina si es seguro consumir la sustancia. Entre mayor sea el intervalo temporal ( $t$ ) entre la presentación del sabor novedoso y la presencia de malestar ( $a-c$ ), menor es la intensidad (*fuerza*) de la *aversión*; mientras que inversa y simultáneamente la seguridad (*preferencia*) aumenta (Nachman and Jones, 1974).

## BIBLIOGRAFÍA

1. Aguado L, San Antonio A, Perez L, del Valle R, Gomez J (1994) Effects of the NMDA receptor antagonist ketamine on flavor memory: conditioned aversion, latent inhibition, and habituation of neophobia. *Behav Neural Biol* 61: 271-281.
2. Aigner TG, Walker DL, Mishkin M (1991) Comparison of the effects of scopolamine administered before and after acquisition in a test of visual recognition memory in monkeys. *Behavioral and Neural Biology* 55: 61-67.
3. Berman DE, Hazvi S, Neduva V, Dudai Y (2000) The role of identified neurotransmitter systems in the response of insular cortex to unfamiliar taste: activation of ERK1-2 and formation of a memory trace. *J Neurosci* 20: 7017-7023.
4. Bermudez-Rattoni F, Yamamoto T (1998) Neuroanatomy of CTA: lesion studies. In: *Conditioned Taste Aversion. Memory of a special kind* (Bures J, Bermudez-Rattoni F, Yamamoto T, eds), pp 28-44. New York: Oxford Science Publications.
5. Bermudez R, McGaugh JL (1991) Insular cortex and amygdala lesions differentially affect acquisition on inhibitory avoidance and conditioned taste aversion. *Brain Res* 549: 165-170.
6. Best MR, Domjan M, Haskins WL (1978) Long-term retention of flavor familiarization: effects of number and amount of prior exposures. *Behav Biol* 23: 95-99.
7. Bohdanecký Z, Jarvik ME (1967) Impairment of one-trial passive avoidance learning in mice by scopolamine, scopolamine methylbromide, and physostigmine. *Int J Neuropharmacol* 6: 217-222.
8. Braun JJ (1995) Gustatory Cortex: Definition and Function. In: *The cerebral cortex of the rat* (Kolb, Tees, eds), pp 407-430. Massachusetts: The MIT Press, Cambridge.
9. Braveman NS, Jarvis PS (1978) Independence of neophobia and taste aversion learning. *Animal Learning & Behavior* 6: 406-412.
10. Bures J (1998a) Ethology, physiological psychology, and neurobiology of CTA. In: *Conditioned Taste Aversion: memory of a special kind* (Bures J, Bermudez-Rattoni F, Yamamoto T, eds), pp 1-10. New York: Oxford University Press.
11. Bures J (1998b) The CTA paradigm: terminology, methods, and conventions. In *Conditioned Taste Aversion. Memory of a special kind* (Bures J, Bermudez-Rattoni F, Yamamoto T, eds), pp 14-25. New York: Oxford science publications.
12. Buresova O, Bures J (1973) Cortical and subcortical components of conditioned saccharin aversion in rats. *Acta Neurobiol Exp (Warsz)* 33: 689-698.
13. Buresova O, Bures J (1980) Post-ingestion interference with brain function prevents attenuation of neophobia in rats. *Behav Brain Res* 1: 299-312.
14. Burns LH, Annett L, Kelley AE, Everitt BJ, Robbins TW (1996) Effects of lesions to amygdala, ventral subiculum, medial prefrontal cortex, and nucleus accumbens on the reaction to novelty: implication for limbic-striatal interactions. *Behav Neurosci* 110: 60-73.
15. Deutsch R (1978) Effects of atropine on conditioned taste aversion. *Pharmacol Biochem Behav* 8: 685-694.



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

16. Domjan M (1977) Attenuation and enhancement of neophobia for edibles substance. In: Learning Mechanisms in Food Selection (Barker LM, Best MA, Domjan M, eds), pp 151-179. TX: Baylor University Press.
17. Domjan M (1976) Determinants of the enhancement of flavored-water intake by prior exposure. *J Exp Psychol Anim Behav Process* 2: 17-27.
18. Ellis ME, Kesner RP (1981) Physostigmine and Norepinephrine: effects of injection into the amygdala on taste associations. *Physiol Behav* 27: 203-209.
19. Ferreira G, Gutierrez R, De la Cruz V, Bermudez-Rattoni F (2002) Differential involvement of cortical muscarinic and NMDA receptors in short- and long-term taste aversion memory. *Eur J Neurosci* 16: 1-8.
20. Garcia J, Koelling RA (1966) Relation of cue to consequence in avoidance learning. *Psychon.Sci.* 4:123-124.
21. Giovannini MG, Rakovska A, Benton RS, Pazzagli M, Bianchi L, Pepeu G (2001) Effects of novelty and habituation on acetylcholine, GABA, and glutamate release from the frontal cortex and hippocampus of freely moving rats. *Neuroscience* 106: 43-53.
22. Green KF, Parker LA (1975) Gustatory memory: incubation and interference. *Behav Biol* 13: 359-367.
23. Gutierrez H, Gutierrez R, Silva G, Estrada J, Miranda MI, Bermudez R (1999a) Differential effects of 192IG-saporin and NMDA-induced lesions into the basal forebrain on cholinergic activity and taste aversion memory formation. *Brain Res* 834: 136-141.
24. Gutierrez H, Hernandez-Echeagaray E, Ramirez-Amaya V, Bermudez-Rattoni F (1999b) Blockade of N-methyl-D-aspartate receptors in the insular cortex disrupts taste aversion and spatial memory formation. *Neuroscience* 89: 751-758.
25. Kalat JW, Rozin P (1971) Role of interference in taste-aversion learning. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* 77: 53-58.
26. Kalat JW, Rozin P (1973) "Learned safety" as a mechanism in long-delay taste-aversion learning in rats. *J Comp Physiol Psychol* 83: 198-207.
27. Kandel E.R., Schwartz J.H., Jessell T.M. (1991) Principles of neural science. Tercera ed. Elsevier Science Publishing Co. Inc. N.Y.
28. Katz DB, Nicoletis MAL, Simon SA (2002) Gustatory processing is dynamic and distributed. *Current Opinion in Neurobiology* 12: 448-454.
29. Kesner RP, Berman RF (1977) Effects of midbrain reticular formation, hippocampal, and lateral hypothalamic stimulation upon recovery from neophobia and taste aversion learning. *Physiol Behav* 18: 763-768.
30. Kral PA (1971) Effects of scopolamine injection during CS-US interval on conditioning. *Psychological Reports* 28: 690.
31. Lasiter PS, Glanzman DL, Mensah PA (1982) Direct connectivity between pontine taste areas and gustatory neocortex in rat. *Brain Res* 234:1 111-21
32. Miranda MI, FG, Ramirez-Lugo L, Bermudez-Rattoni F (2002) Glutamatergic activity in the amygdala signals visceral input during taste memory formation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99: 11417-11422.

33. Miranda MI, Bermudez R (1999) Reversible inactivation of the nucleus basalis magnocellularis induces disruption of cortical acetylcholine release and acquisition, but not retrieval, of aversive memories. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96: 6478-6482.
34. Miranda MI, Ramirez L, Bermudez R (2000) Cortical cholinergic activity is related to the novelty of the stimulus. *Brain Res* 882: 230-235.
35. Morilak DA, Ormrod RK, Riccio DC, Richardson R (1983) Persistence of flavor neophobia as an indicator of state-dependent retention induced by pentobarbital, stress, and estrus. *Behav Neural Biol* 38: 47-60.
36. Nachman M, Ashe JH (1974) Effects of basolateral amygdala lesions on neophobia, learned taste aversions, and sodium appetite in rats. *J Comp Physiol Psychol* 87: 622-643.
37. Nachman M, Jones DR (1974) Learned taste aversions over long delays in rats: The role of learned safety. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* 86: 949-956.
38. Nadal R (2001) Pharmacology of the atypical antipsychotic remoxipride, a dopamine d(2) receptor antagonist. *CNS Drug Rev* 7: 265-282.
39. Naor C, Dudai Y (1996) Transient impairment of cholinergic function in the rat insular cortex disrupts the encoding of taste in conditioned taste aversion. *Behav Brain Res* 79: 61-67.
40. Paxinos G, Watson C (1986) *The rat brain in stereotaxic coordinates*. San Diego: Academic.
41. Petersen RC (1977) Scopolamine induced learning failures in man. *Psychopharmacology* 52: 283-289.
42. Reilly S, Trifunovic R (2001) Lateral parabrachial nucleus lesions in the rat: neophobia and conditioned taste aversion. *Bra in Res Bull* 55: 359-366.
43. Revusky SH (1968) Aversion to sucrose produced by contingent x-irradiation: temporal and dosage parameters. *J Comp Physiol Psychol* 65:1 17-22
44. Rosenblum K, Berman DE, Hazvi S, Lamprecht R, Dudai Y (1997) NMDA receptor and the tyrosine phosphorylation of its 2B subunit in taste learning in the rat insular cortex. *J Neurosci* 17: 5129-5135.
45. Smith JC y St J (1999) Neural coding of gustatory information. *Cur Opin Neurobiol* 9:427-435
46. Stewart CN, Reidinger RF (1984) Disparity between formation of conditioned flavor aversions and neophobia during grooming in rats and mice. *Physiol Behav* 32: 955-959.
47. Swank MW (2000) Phosphorylation of MAP kinase and CREB in mouse cortex and amygdala during taste aversion learning. *Learning and Memory* 11: 1625-1630.
48. Usiello A, Sargolini F, Roulet P, Ammassari-Teule M, Passino E, Oliverio A, Mele A (1997) N-Methyl-D-aspartate receptors in the nucleus accumbens are involved in detection of spatial novelty in mice. *Psychopharmacology* 137: 175-183.
49. Welzl H, Alessandri B, Böttig K (1990) The formation of a new gustatory memory trace in rats is prevented by the noncompetitive NMDA antagonist ketamine. *Psychobiology* 18: 43-47.
50. Yasoshima Y, Morimoto T, Yamamoto T (2000) Different disruptive effects on the acquisition and expression of conditioned taste aversion by blockades of amygdalar ionotropic and metabotropic glutamatergic receptor subtypes in rats. *Brain Res* 869: 15-24.