

03068
10
25



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

UNIDAD ACADEMICA DE LOS CICLOS PROFESIONALES Y
DE POSGRADO DEL COLEGIO DE CIENCIAS Y HUMANIDADES
CENTRO DE NEUROBIOLOGIA.

EFFECTOS DEL BLOQUEO COLINERGICO Y
GLUTAMATERGICO EN LA CORTEZA INSULAR
SOBRE DOS CONDICIONAMIENTOS AVERSIVOS.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

M A E S T R I A EN
(CIENCIAS FISIOLÓGICAS)
P R E S E N T A :

ALICIA ELIZABETH HERNANDEZ ECHEAGARAY

DIRECTOR DE TESIS:

DR. FEDERICO BERMUDEZ RATTONI



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 está 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.

RECONOCIMIENTO

*El presente trabajo se llevó a cabo en el
Instituto de Fisiología Celular, en el
Departamento de Neurociencias.*

AGRADECIMIENTOS:

Deseo expresar mi gratitud:

Al Dr. Federico Bermúdez por su asesoría e interés en la realización de este trabajo.

A los integrantes del jurado:

Dr. Federico Bermúdez-Rattoni

Dr. Roberto Prado-Alcalá

Dr. León Cintra McGlone

Dra. Carolina Escobar Briones

Dra. Gina Lorena Quirarte

Por sus comentarios y sugerencias al trabajo escrito.

A la Dra. Sofía Díaz-Cintra por sus sugerencias en mis tutoriales, así como el apoyo e interés que siempre ha tenido en mi formación académica.

A Rolando Prado Arangua, por su ayuda técnica e intelectual en el desarrollo de los experimentos.

Al Instituto de Fisiología Celular por brindarme todas la facilidades necesarias para la realización de este trabajo.

Esta tesis va dedicada:

A mis Padres:

*Sra. Alicia Echeagaray y Sr. Rubén Hernández
por darme siempre el afecto, el apoyo, la confianza y las facilidades para
seguir mi camino y no perderme.*

A mis hermanos:

*Haydeé, Rubén y Coco
porque siempre están en el camino.*

*A Rubén Gustav y al nuevo Bebe
porque su vida es una esperanza llena de luminosidad..*

*A la pelucita + porque su recuerdo me acompaña cada día.
Al lanas por ser un amigo y un compañero incondicional.*

*A Gabriel Gutiérrez Ospina:
por el inesperado pero afortunado reencuentro con el hombre, el ser
humano, el compañero, el compromiso, el amor, la razón, la comprensión,
la confianza, la libertad; mi otro yo.*

*"Para quien y a quien en la sombra mi gradual guitarra resuena
naciendo en la sal de mi ser como pez en la sal del mar".*

*"Cantares"
Pablo Neruda*

A Sergio Soto :

*Fiel observador de mis actos,
compañero de mi soledad y mis angustias,
amigo de mi incongruencia e insatisfacción,
espejo de mi vida y mis reflexiones.*

Como siempre a Lulú Garza, Pedro Guerra, Paty Saucedo, Fabian Montagno, Gaby Padua, Alejandro Manrique, Irma Zaldivar, Ray Gutiérrez y Manuel Sánchez.

Porque cuando todo se derrumba, ellos persisten y me reconstruyen.

A mis amigos y compañeros del laboratorio:

A Nico, por su insustituible compañía, por enseñarme a luchar y defender sin concesiones, cada uno de nuestros principios e ideales, por ser un hombre cuya calidad humana va más allá de las palabras.

A Rolandito, porque su original forma de ver y vivir el mundo, mezcla de fantasía y erotismo, le han dado las mejores lecciones a mi racionalidad en ocasiones petrificada.

A ambos por la paciencia y calidez que sólo el amigo incondicional puede tener.

A Laurita, Maribel, Victor, Keo, Humberto, Martha, Benjamín ,Oreste y Ana Luisa, , porque han sabido construir un ambiente bohemio de hermandad y camaradería, que hacen más amenas y relajantes las largas horas de trabajo.

A mis amigos del Instituto:

Jorge Flores, Jorge Escandón, Sergio Meneses, Paco Vergara, Oscar Galicia, Toño Zainos y Raúl Aguilar por su amistad y confianza sincera.

A mis maestros, compañeros y amigos:

Blanca Reguero, Alberto Córdoba, Rigoberto León y Carlos Contreras por ubicarme siempre en lo que soy y unirme a mi "Alma Mater"

Finalmente, a Ricardo H. Pineda por hacer de la mentira una "verdadera realidad".

***Porque este conocimiento algún día llegue
a ser útil a los millones de mexicanos cuyo
cuestionamiento va más allá de las
vanidades del conocimiento, porque su
pregunta de hambre requiere respuesta
inmediata.***

INDICE	
Resumen	I
Abreviaturas	II
I INTRODUCCION.	1
1.1 El aprendizaje y la memoria	1
1.2 Regiones cerebrales relacionadas con el aprendizaje y la memoria	1
1.3 Tipos de memoria	2
1.4 Neuroquímica del aprendizaje y la memoria	3
1.4.1.Sistema de transmisión colinérgica.	3
1.4.2.Sistema de transmisión glutamatérgica.	4
1.4.3 Estructura molecular y propiedades farmacológicas de los receptores colinérgicos muscarínicos	7
1.4.4 Estructura molecular y propiedades farmacológicas de los receptores glutamatérgicos tipo NMDA	8
1.5 Paradigmas conductuales empleados para estudiar el aprendizaje y la memoria.	9
1.5.1 Condicionamiento aversivo a los sabores	9
1.5.2 Laberinto de agua de Morris	13
1.6 La corteza insular anatomía y funciones	15
II PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.	17
III HIPOTESIS.	18
IV OBJETIVOS.	19
V METODO Y MATERIALES.	20
5.1 Pruebas conductuales	20
5.1.1 Condicionamiento aversivo a los sabores	20
5.1.2 Laberinto de agua de Morris .	21
5.2 Histología;	22
5.3 Análisis de los datos	22
VI RESULTADOS.	23
6.1 ESTUDIO I	
Participación colinérgica en las funciones de la corteza insular;	23
Experimento 1.1	
Efectos de la administración de escopolamina en la corteza insular durante la adquisición del condicionamiento aversivo a los sabores y el laberinto de agua de Morris.	23
Experimento 1.2	
Efectos de la administración de escopolamina en la corteza insular durante la consolidación del condicionamiento aversivo a los sabores y el laberinto de agua de Morris.	29
Experimento 1.3	
Efectos de la administración de escopolamina en trasplantes de corteza insular durante la adquisición del condicionamiento aversivo a los sabores y el laberinto de agua de Morris.	35

Discusión	
Participación colinérgica en las funciones de la corteza insular.	42
6.2 ESTUDIO II.	
Participación glutamatergica en las funciones de la corteza insular.	45
Experimento 2.1	
Efectos de la administración de AP5 en la adquisición del condicionamiento aversivo a los sabores y del laberinto de agua de Morris.	45
Experimento 2.1.1.	
Dependencia del estado farmacológico.	47
Experimento 2.2.	
Efecto del AP5 en la consolidación del aprendizaje del condicionamiento aversivo a los sabores y del laberinto de agua de Morris.	57
Discusión	
Efectos del bloqueo glutamatergico en la corteza insular.	63
VII Discusión General.	65
Conclusiones.	71
VIII Referencias.	72
IX Apéndice.	i

RESUMEN

Estudios previos han demostrado que la corteza insular (CI) participa en el aprendizaje de condicionamientos aversivos. La lesión de esta corteza impide la adquisición del condicionamiento aversivo a los sabores, en tanto que el injerto de tejido fetal homotópico, reestablece la capacidad de aprender. Existen otros paradigmas de aprendizaje que se alteran si la CI es lesionada, tal es el caso del laberinto de agua de Morris. El condicionamiento aversivo a los sabores y el laberinto de agua de Morris han demostrado ser paradigmas conductuales eficaces para el estudio del aprendizaje y la memoria. Entre los sistemas neuroquímicos que se han demostrado participan en procesos mnémicos se encuentran el sistema colinérgico y el glutamatérgico, ambos presentes en la CI. De esta forma, en este trabajo se sugirió que estos sistemas de neurotransmisión podrían participar en las funciones mnémicas de la CI. Con base en estos antecedentes, en este proyecto de tesis se llevaron a cabo dos estudios; el primero intentó dilucidar si el sistema colinérgico presente en la corteza insular participaba en las adquisición y consolidación del condicionamiento aversivo a los sabores y del laberinto de agua. También se estudió si la actividad colinérgica presente en transplantes homotópicos es necesaria para el reestablecimiento de las funciones de la CI. Un segundo estudio intentó evaluar la participación del sistema glutamatérgico de la CI en la adquisición y consolidación de los paradigmas de aprendizaje utilizados en el primer estudio.

Los resultados del primer estudio demostraron que el bloqueo colinérgico de la CI mediante el antagonista muscarínico escopolamina ($30\mu\text{g}/\mu\text{l}$), impide la adquisición en animales con injerto de tejido fetal y en animales con la CI intacta tanto en el condicionamiento aversivo a los sabores como en el laberinto de agua, sin afectar su consolidación. En el segundo estudio se empleó un antagonista glutamatérgico de los receptores tipo NMDA el AP5 (3 y $6\mu\text{g}/\mu\text{l}$). Este estudio demostró que la actividad glutamatérgica mediada por los receptores tipo NMDA es importante para la adquisición de los dos paradigmas de aprendizaje, mientras que en la consolidación del aprendizaje el sistema glutamatérgico solo parece participar en el CAS y no en el LAM. Los resultados se discuten en términos de los paradigmas de aprendizaje empleados, las estructuras involucradas y los sistemas neuroquímicos manipulados.

Aunado a la presentación de los resultados, en la introducción se hace una revisión general de algunos conceptos empleados en el estudio de el aprendizaje y la memoria.

ABREVIATURAS

ACh	Acetilcolina
AP5	Acido 2-aminofosfonopentánico
APV	Acido fosfonovalérico
Ca	Calcio
CAS	Condicionamiento aversivo a los sabores
CI	Corteza insular
CCP	Carboxypiperazinfosfato
ChAT	Colina acetiltransferasa
EPSP	Potencial postsináptico excitatorio
FCN	Factor de crecimiento neuronal
i.p.	Intraperitoneal
IP3	Inositol trifosfato
K	Potasio
LAM	Laberinto de agua de Morris
Mg	Magnesio
MK801	Dizolcipine
Na	Sodio
NBM	Núcleo basalis magnocelularis
NMDA	N-Metil-D-Aspartato
PB	Buffer
PLC	Fosfolipasa C
PKC	Proteína cinasa C

Memoria.

Durante los diez últimos años de su vida, mi madre fue perdiendo poco a poco la memoria. A veces, cuando iba a verla a Zaragoza, donde ella vivía con mis hermanos, le dábamos una revista que ella miraba atentamente, de la primera página a la última. Luego se la quitábamos para darle otra que en realidad, era la misma. Ella se ponía a hojearla con idéntico interés.

Llegó a no reconocer ni a sus hijos, a no saber quiénes éramos ni quién era ella... Hay que haber empezado a perder la memoria, aunque sea sólo a retazos, para darse cuenta de que esta memoria es lo que constituye toda nuestra vida. Una vida sin memoria no sería vida, como una inteligencia sin posibilidad de expresarse no sería inteligencia. Nuestra memoria es nuestra coherencia, nuestra razón, nuestra acción, nuestro sentimiento. Sin ella no somos nada.

"Mi último suspiro"

Luis Buñuel.

I INTRODUCCION

1.1 El aprendizaje y la memoria.

Los organismos vivos responden a las exigencias del medio y se adaptan a él, gracias a su habilidad para adquirir, consolidar y almacenar la información que reciben continuamente. Dicha habilidad aparece como el resultado de los procesos del aprendizaje y la memoria (Dudai, 1989; Squire, 1987a). De esta forma, se ha definido al aprendizaje como la adquisición de información novedosa capaz de producir un cambio conductual adaptativo en respuesta a la estimulación ambiental, mientras que la memoria es entendida como la retención y representación interna del aprendizaje. La memoria se clasifica en: memoria de trabajo o de corto plazo, cuando es de duración corta (segundo/horas) e incluye los procesos de adquisición y consolidación, mientras que si su duración perdura mas tiempo (días/años), se le llama memoria de largo plazo e incluye los procesos de retención y evocación de información previamente almacenada (ver Squire, 1987c; Dudai, 1989; 1992).

Aprendizaje y memoria son procesos intimamente relacionados; en la adquisición de información requerimos de una memoria inmediata (memoria de corto plazo), mientras que para demostrar que se ha aprendido algo, es necesario evocar (recordar) la información almacenada en la memoria de largo plazo. En la actualidad se reconoce que existen múltiples sistemas de memoria, que procesan y almacenan información de índole diversa (Nadel, 1992; Squire, 1987b; 1992). Como veremos a continuación, este procesamiento diferencial, parece involucrar distintas estructuras cerebrales.

1.2 Regiones cerebrales relacionadas con el aprendizaje y la memoria

Por años, los estudiosos del aprendizaje y la memoria se han preguntado ¿qué estructuras cerebrales participan en estos procesos? Si la información adquirida y almacenada genera cambios estructurales y/o funcionales a nivel cerebral, no ha sido posible determinar con exactitud el lugar específico en donde se generan estos. Se sabe que algunas estructuras nerviosas participan en la adquisición, consolidación y evocación de la información.

Al cambio neuronal producido por el aprendizaje y la memoria se le ha llamado engrama (Squire, 1987a; Dudai, 1989). Los intentos por localizar el

engrama y entender con ello la organización de los procesos de aprendizaje y memoria dieron lugar al surgimiento de dos posturas teóricas aparentemente opuestas entre sí, ambas intentan explicar qué estructuras participan en el aprendizaje y en donde se almacena la memoria. Por un lado, la visión conexionista y localizacionista sugiere que la información adquirida es almacenada en regiones específicas del cerebro, v.g., la frenología de Gall y la localización de funciones de Broca. A su vez, la "Teoría de acción de masas" de Lashley, plantea que el engrama se almacena y reproduce gracias a la actividad integrada de todo el cerebro (ver Squire, 1987a; Kesner, 1991).

Actualmente, se ha propuesto que existe cierto tipo de aprendizaje que puede estar localizado en regiones específicas del cerebro, mientras que el engrama puede estar distribuido en varios circuitos neuronales (Squire, 1987a). Esta proposición ha sido apoyada con datos provenientes de análisis histológicos, como de estudios realizados en pacientes con lesiones del lóbulo temporal, el hipocampo, la corteza entorrinal, la corteza rinal o la corteza frontal, quienes presentan alteraciones significativas de aprendizaje y memoria (Kesner, 1991; Squire, 1987a; 1992; Lynch y Granger, 1992).

1.3 Tipos de memoria.

Como se mencionó anteriormente, existen múltiples sistemas de memoria que difieren entre sí no sólo por las estructuras cerebrales involucradas sino también por el tipo de información que procesan. Así, la clasificación de los tipos de memoria, se ha hecho con base en los datos obtenidos de la clínica, donde el tipo de alteración conductual que se presenta, parece depender de la región dañada, por ejemplo; las lesiones del lóbulo temporal, hipocampo, y estructuras diencefálicas, impiden el aprendizaje y la memoria de información fácilmente accesible como son la adquisición y retención de hechos o datos específicos, representaciones episódicas y semánticas que requieren de la consciencia del sujeto. A este tipo de memoria se le ha denominado declarativa o explícita (Eichenbaum, 1992), distinguiéndola de la memoria de procedimiento o implícita, la cual no es fácilmente accesible e incluye representaciones motoras, perceptuales y cognitivas. En este tipo de memoria, no participa la consciencia del sujeto y el aprendizaje permanece intacto a pesar de que haya lesiones del lóbulo temporal (Kesner, 1991; Nadel, 1992; Squire, 1992). Como puede observarse, la memoria se almacena de acuerdo al tipo de información que procesa.

Además de la clasificación de la memoria, hecha con base en el tipo de información que almacena (declarativa ó explícita y de procedimiento ó implícita), una segunda caracterización está dada por los trabajos de Mishkin quien divide a la memoria en dos clases; 1) la memoria no asociativa que resulta de la experiencia de un sólo evento (v.g. habituación y sensibilización); y 2) la asociativa, que resulta de la conjunción de dos o más eventos (v.g. condicionamiento instrumental). Para Mishkin, la memoria asociativa es una memoria de reconocimiento, la cual se almacena en áreas sensoriales de la corteza e interactúa con circuitos corticales y con el circuito límbico-talámico (ver Kesner, 1991). Por su parte, David Olton divide a los sistemas de memoria dependiendo de si el contenido de la información que se adquiere es nuevo o bien se trata de información preexistente en la memoria. Para él, en cada nuevo aprendizaje existen dos tipos de memoria que organizan la información crítica, la memoria de trabajo y la de referencia. El contexto específico de la situación se codifica por la memoria de trabajo, mientras que la información referente a las reglas y los procedimientos de la situación, se codifica por la memoria de referencia. Olton sugiere que ambos tipos de memoria operan de manera independiente, la memoria de trabajo está bajo control del hipocampo mientras que en la de procedimiento participa la neocorteza (ver Kesner, 1991; Olton y Shapiro, 1992).

1.4 Neuroquímica del aprendizaje y la memoria.

Así como se han encontrado distintas estructuras cerebrales involucradas en el procesamiento de la información que será almacenada, varios sistemas de transmisión parecen estar involucrados en este procesamiento. De este modo, se ha sugerido que las proteínas, las catecolaminas, el sistema colinérgico y el sistema glutamatérgico pueden estar implicados. La evidencia experimental reciente, enfatiza el papel de los sistemas colinérgico y glutamatérgico en estos procesos.

A continuación se describen algunas de las evidencias que apoyan la participación de estos sistemas de transmisión en el aprendizaje y la memoria.

1.4.1 Sistema de transmisión colinérgica.

Diversas líneas de investigación, apoyan la participación del sistema colinérgico del sistema nervioso central en algunos de los procesos involucrados en el aprendizaje y la memoria. (Santucci et al., 1989; Riekkinen Jr. et al., 1992;

Hasselmo y Bower, 1993; Nabeshima, 1993). En humanos, se ha demostrado que, la ausencia o exceso de acetilcolina producen déficits en la memoria (ver Prado-Alcalá et al., 1993). En enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer, cuya alteración principal se caracteriza por múltiples déficits en la memoria, existe un deterioro masivo de las neuronas colinérgicas de la corteza entorrinal y núcleo basalis magnocelularis (NBM) (Squire, 1987; Christensen et al., 1992). El NBM, es el principal abastecedor de fibras colinérgicas a la neocorteza.

La lesión del NBM en roedores, produce alteraciones en varias tareas conductuales como el laberinto de agua, tareas de respuesta diferida y evitación pasiva entre otras (Bartus et al., 1986; Gower, 1986; Dunnett et al., 1991). Además del núcleo basalis, existen otros dos núcleos colinérgicos que también se han involucrado en procesos mnémicos: el núcleo septal medial y el núcleo de la rama vertical, su lesión produce impedimentos en la adquisición de varias tareas de memoria, impedimentos que se relacionan con la reducción en los niveles de acetilcolina (ACh) en el hipocampo, lugar hacia donde ambos núcleos, mandan la mayor parte de sus eferentes (ver Woolf, 1991).

En animales normales la administración de antagonistas colinérgicos como la escopolamina, la fisostigmina o la lesión de los sistemas colinérgicos del sistema nervioso central, producen alteraciones en la adquisición de tareas como la prevención pasiva (Prado-Alcalá et al., 1978; Bermúdez-Rattoni et al., 1986) y en el laberinto de agua de Morris (Riekkinen et al., 1990; McNamara y Skelton, 1993). Así mismo, la administración de agonistas colinérgicos, facilitan el aprendizaje de este tipo de tareas (ver Squire, 1987).

1.4.2 Sistema de transmisión glutamatérgica.

Uno de los primeros trabajos experimentales que sugirió la participación de la transmisión glutamatérgica en procesos mnémicos fué el realizado por Morris y cols. (1986). En éste, la administración del antagonista glutamatérgico, ácido fosfopentanoico (AP5) en el ventrículo lateral, impidió la adquisición de una tarea de aprendizaje espacial. El AP5 también conocido como APV, también bloquea la adquisición del condicionamiento de miedo (Miserendino et al., 1990; Kim et al., 1991) y la aversión al olor potenciada por el gusto (Willner et al., 1992).

Posteriormente se han realizado trabajos con otros antagonistas glutamatérgicos como el carboxypiperazinfosfonato (CPP) (McNamara y Skelton, 1993), en los que se observan impedimentos en la adquisición de tareas de aprendizaje asociativo, sin afectar su retención (Heale y Harley, 1990). Además del AP5 y el CPP que son antagonistas competitivos del receptor tipo N-Metil-D-Aspartato (NMDA), se ha visto que los antagonistas no competitivos a este receptor como el dizolcipine (MK801), también alteran la adquisición en el laberinto de agua de Morris (Heale y Harley, 1990), la adquisición en la prevención pasiva (Benvenge et al., 1988) y el aprendizaje de otras tareas reforzadas (Sanger, 1992).

Además de la evidencia experimental de la participación del sistema glutamatérgico en procesos mnémicos, también se ha sugerido que este sistema participa en un fenómeno de plasticidad neuronal conocido como potenciación a largo plazo (PLP). Lomo y Bliss (1973), quienes describieron por vez primera la PLP, encontraron que la estimulación repetida de las sinapsis excitatorias de la vía perforante, generaba un incremento a largo plazo en el disparo y en la amplitud del potencial postsináptico excitatorio (EPSP). Dicho incremento iba acompañado por un aumento en la liberación del neurotransmisor en las sinapsis de las células del giro dentado. Actualmente se ha observado que *in vivo* la PLP dura de días a semanas, mientras que *in vitro*, se puede mantener varias horas.

La PLP cobró importancia porque concordaba muy bien con lo que se pensaba debía ocurrir a nivel sináptico en los procesos de adquisición y almacenamiento de información (Bliss y Collingridge, 1993). En 1949, Hebb propuso que: "si la actividad en la neurona presináptica se asocia repetidamente con la descarga de una neurona postsináptica, la eficiencia de la sinapsis se incrementa". Este postulado intentaba dar cuenta de lo que ocurría a nivel sináptico durante el aprendizaje. Tal como Hebb había propuesto, para que se pueda generar la PLP es necesario la coincidencia de la actividad presináptica con la depolarización de la postsinapsis (Cotman et al., 1988; Bourne y Nicoll, 1993).

Además de la coincidencia pre y postsináptica, la PLP se genera con estímulos específicos, de un determinado umbral. Este proceso es producto de la activación de varias fibras que convergen en un mismo punto y una vez instalada basta con un estímulo pequeño, o la estimulación de una fibra adyacente a las aferentes convergentes (p.e. en el giro dentado), para que se genere la PLP. Si se aparee un estímulo que aislado no produce PLP con un estímulo fuerte en las fibras que convergen, se puede generar la PLP. Es decir el fenómeno incluye

similitudes con algunos de los requisitos que se deben cumplir en la adquisición de ciertos condicionamientos.

Dentro de los mecanismos farmacológicos que subyacen a esta potenciación se encuentran eventos dependientes de la transmisión glutamatérgica (Cotman et al., 1988). La actividad neuronal generada en la potenciación, puede ser clasificada basándose en si su inducción puede ser bloqueada por antagonistas del receptor tipo NMDA, o si es bloqueada por antagonistas de los otros subtipos de receptores glutamatérgicos (receptores no-NMDA). En general se ha encontrado que los antagonistas al receptor NMDA bloquean la inducción del PLP y los antagonistas no-NMDA bloquean su expresión.

Como ya se mencionó, en algunos experimentos conductuales se ha observado que los antagonistas de los receptores tipo NMDA como el AP5, impiden la adquisición pero no la retención de algunos paradigmas de aprendizaje (Morris et al., 1990), y esto lo puede hacer en concentraciones comparables a las empleadas para bloquear la inducción de la PLP *in vitro* (Davis et al., 1992). El papel que juegan los receptores no-NMDA en la retención y evocación del aprendizaje no ha sido estudiado suficientemente.

Aunado a los hallazgos mencionados arriba, al glutamato se le ha relacionado en la patología de la enfermedad de Alzheimer, por un lado hay quien piensa que la actividad aumentada de este aminoácido produce efectos excitotóxicos en las neuronas postsinápticas de la corteza frontal, temporal y parietal, así como del hipocampo. Una postura diferente sugiere que la actividad decrementada de este aminoácido, puede ser la causa de la enfermedad (ver Advokat y Pellegrin, 1992). En cuanto a los receptores NMDA, se ha propuesto que la activación incrementada de este receptor provoca la neuropatología, mientras que un decremento en su función produce alteraciones cognitivas (Cotman et al., 1988).

En resumen, se tiene evidencia de que tanto el sistema colinérgico como el glutamatérgico, participan en los mecanismos que subyacen al aprendizaje y la memoria. A continuación se describen algunas características farmacológicas de estos dos sistemas de neurotransmisión.

1.4.3 Estructura molecular y propiedades farmacológicas de los receptores colinérgicos muscarínicos.

En el sistema nervioso, las neuronas sintetizan acetilcolina a partir de colina y acetil-coenzima A (Tucek, 1993).

La transmisión colinérgica cuenta con dos familias de receptores: los nicotínicos y los muscarínicos. En el sistema periférico la ACh actúa en ambos tipos de receptores, mientras que en el sistema nervioso central actúa principalmente sobre los muscarínicos (Nicolli et al., 1990).

Receptores muscarínicos.

Este tipo de receptores son farmacológica, funcional y estructuralmente distintos de los nicotínicos (Reisine, 1992). Experimentos moleculares demuestran que por lo menos hay 5 subtipos de receptores muscarínicos, sin embargo, tradicionalmente se han aceptado dos subtipos dependiendo de su selectividad a la pirenzepina. La pirenzepina tiene alta afinidad por los receptores muscarínicos ubicados en la corteza, hipocampo, y ganglios basales, a los que se les ha llamado M_1 y los que presentan baja afinidad a esta droga han recibido el nombre de M_2 (Hammer et al., 1980; Reisine, 1992).

Los receptores muscarínicos son de carácter metabotrópico e interactúan con proteínas G. Ambos subtipos de receptores están conformados por siete regiones hidrofóbicas y presentan residuos de serina y treonina que pueden ser sitios de fosforilación; los M_1 tienen un sitio de glicosilación en el amino terminal y su carboxilo terminal se encuentra en la región citoplasmática. Entre estos dos receptores existen diferencias en la tercer asa intracelular, lugar en donde parecen asociarse con proteínas G (Reisine, 1992).

La estimulación de los M_2 , inhibe a la adenilato de ciclasa, mientras que los M_1 activan a la fosfolipasa C. Los M_1 en la post-sinapsis también activan canales de K^+ (Reisine, 1992). Los receptores muscarínicos localizados en la presinapsis pueden regular la liberación de ACh.

Los agonistas de receptores muscarínicos estimulan la hidrólisis de los fosfoinosítidos por medio de la activación de la fosfolipasa C, dando a su vez origen al diacilglicerol y al inositol trifosfato (IP_3). El diacilglicerol incrementa la actividad de Ca^{2+} y de la proteína cinasa C (PKC), mientras que el IP_3 moviliza Ca^{2+} intracelular. El Ca^{2+} media la fosforilación de proteínas dependiente de PKC. El incremento de Ca^{2+} citosólico puede contribuir a la activación de otros segundos mensajeros como la fosfolipasa A que a su vez genera ácido

araquidónico, prostaglandinas y eicosanidos; estos subproductos estimulan la formación de GMPc pudiendo de esta forma regular la actividad de canales iónicos. El Ca^{2+} mismo puede activar los canales de K^{+} dependientes de este ión (Parsons et al., 1987, Nathason 1987; Taylor y Brown, 1989).

1.4.4 Estructura molecular y propiedades farmacológicas de los receptores glutamatérgicos tipo NMDA.

El glutamato es el aminoácido más abundante en el cerebro, se libera de manera dependiente de voltaje y de Ca^{2+} . En el cerebro se sintetiza a partir de glutamina proveniente de las células gliales (Fonnum, 1993).

Este sistema de neurotransmisión presenta 5 tipos de receptores: el N-Metil-D-Aspartato (NMDA), el de Quisqualato (QA), el de Kainato (KA), el de AP4, y los metabotrópicos (Young y Fagg, 1990). Los receptores NMDA son estructural y funcionalmente diferentes a los otros subtipos de receptores, su amino terminal se sitúa en el dominio extracelular, cuenta con 4 regiones transmembranales. Como el resto de los canales iónicos dependientes de ligando, el segundo dominio transmembranal forma el canal catiónico (Barnes y Henley, 1992). Este receptor se encuentra bloqueado de manera voltaje dependiente por un ión magnesio en el reposo (Stone y Burton, 1988), se activa cuando la membrana es depolarizada y el magnesio removido. Tiene un sitio de regulación alostérico para la glicina y presenta sitios de regulación para el zinc, poliamidas y anestésicos disociativos como el MK801 (Nicol et al., 1990; Barnes y Henley, 1992). La activación de este receptor, permite el influjo de Na^{+} y Ca^{2+} al interior de la célula, en donde activa sistemas de segundos mensajeros (Mc Geer y Mc Geer., 1989) como el del fosfoinositol y el de los nucleótidos cíclicos (Cotman et al., 1988).

1.5 Paradigmas conductuales empleados para estudiar el aprendizaje y la memoria.

Hasta ahora se ha mencionado qué son los procesos de aprendizaje y memoria; algunas posturas teóricas con respecto a ellos; qué estructuras cerebrales se postula pudieran estar involucradas y algunos mecanismos neuroquímicos que parecen participar en estos procesos.

Para entender los mecanismos que subyacen al aprendizaje y la memoria; al aprendizaje se le ha subdividido en adquisición y consolidación de información, en tanto que a la memoria se le ha dividido en retención y evocación de esta información. Así las estrategias experimentales utilizadas, pueden manipular la adquisición, la consolidación, o la retención y la evocación. Para estudiar cada una de estas fases se pueden utilizar algunos paradigmas conductuales de aprendizajes asociativos que emplean tareas de uno a más ensayos. En el aprendizaje de asociación, se recurre a los paradigmas de condicionamiento de respuestas. En nuestro laboratorio hemos utilizado los paradigmas de condicionamiento aversivo a los sabores y el laberinto de agua de Morris para estudiar algunos mecanismos cerebrales relacionados con el aprendizaje y la memoria. A continuación se describe brevemente en qué consisten cada uno de ellos.

1.5.1 Condicionamiento aversivo a los sabores.

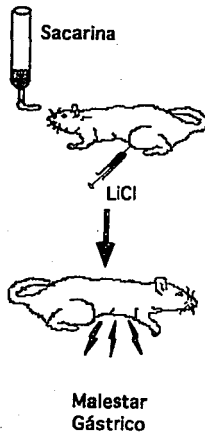
El condicionamiento aversivo a los sabores (CAS) fué descrito en la década de los 40's (García et al., 1985) después de observar que animales expuestos a radiaciones desarrollaban aversión a cualquier alimento que se les diera dentro de las cámaras de radiación, o bien a cualquier estímulo relacionado con los efectos de las radiaciones. De modo tal, que si dentro de las cámaras se daba agua con un bebedero de metal y después se radiaba, los animales jamás volvían a tomar agua con un bebedero similar. Este rechazo resultaba de la asociación de las características físicas del bebedero con la aparición del malestar gástrico producido por las radiaciones. Este procedimiento se convirtió en un paradigma de condicionamiento aversivo. En la actualidad, se emplea el sabor como estímulo novedoso e irritantes gástricos como el cloruro de litio como estímulo incondicionado. Este condicionamiento es de los más fáciles de obtener, consta de un sólo ensayo y perdura por mucho tiempo (García, 1990).

Las características principales que distinguen al CAS de los paradigmas tradicionales de aprendizaje son que: 1) el aprendizaje se puede establecer aún después de transcurrido un periodo largo entre el estímulo condicionado y el estímulo incondicionado; es decir, a diferencia del condicionamiento clásico o el instrumental, el intervalo entre la presentación del estímulo condicionado (sabor) y el estímulo incondicionado (irritante), puede ser de una o más horas. 2) es un aprendizaje sólido, que persiste por mucho tiempo y 3) no cualquier combinación de estímulos pueden ser asociados, los estímulos apareados deben compartir la característica de ser interoceptivos. Debido a que los estímulos empleados generan respuestas internas, se le ha llamado condicionamiento visceral. (ver Bermúdez-Rattoni, 1986; Chambers, 1990).

En la figura 1 se ilustra el procedimiento seguido en la fase de adquisición y en la prueba del CAS.

ADQUISICION

Grupos
Experimentales
y
Control



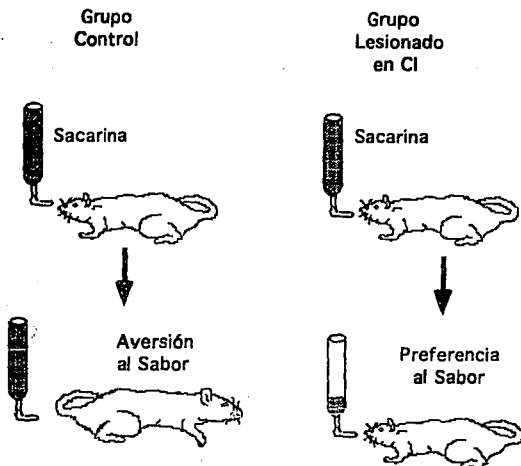
PRUEBA

Fig. 1. La figura esquematiza la forma en como se obtiene el condicionamiento aversivo a los sabores. En la página anterior se muestra la fase de adquisición del CAS, como se puede observar los animales ingieren un sabor nuevo (agua con sacarina) y después se les inyecta LiCl intraperitonealmente (i.p.).

En esta página se muestra la fase de prueba del condicionamiento. Como se puede ver en la prueba sólo se les presenta la sacarina. Aquellos animales que aprenden el CAS muestran aversión al sabor de la sacarina, en tanto que los lesionados en CI (corteza insular) no aprenden el CAS y muestran preferencia por el sabor de la sacarina.

1.5.2. Laberinto de agua de morris (Morris Water Maze).

El laberinto de agua de Morris se utiliza para evaluar algunos procesos mnémicos en roedores, como la memoria de referencia o de procedimiento. La principal característica de este paradigma es que el animal no tiene que estar privado de agua o de alimento para estar motivado y aprender la tarea.

La tarea consiste en poner a nadar a los animales en una estanque circular (laberinto) que contiene agua fría (ver fig. 2). El laberinto se subdivide en cuatro cuadrantes de manera arbitraria. Para poder escapar del estanque de agua, los animales deben encontrar una plataforma (blanco) oculta en uno de los cuadrantes dentro del estanque de agua.

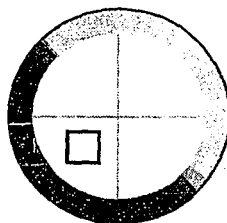
En la versión original, la plataforma no tiene claves que guíen la conducta de escape de las ratas. Al principio del entrenamiento los animales logran escapar del agua porque encuentran azarosamente la plataforma. Con el transcurso de los ensayos aprenden a identificar la posición de la plataforma dentro del estanque, disminuyendo el tiempo que requieren para encontrar la plataforma.

Este procedimiento tiene la ventaja de que se requiere de pocos ensayos para aprender la tarea (Morris, 1984; Brandeis et al., 1989), pudiéndose modificar algunos elementos como el lugar de la plataforma; o bien introducir claves espaciales o quitarlas para estudiar distintos procesos de la memoria.

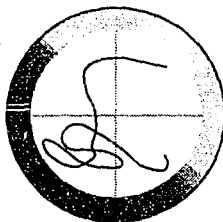
En la figura 2 se ejemplifica el laberinto, mostrándose el lugar de la plataforma, el nivel al cual es llenado de agua, los cuadrantes dentro del estanque de agua y el tipo de recorrido que se espera realice un animal que aprende la tarea.



Plataforma



Cuadrante en donde se ubica la plataforma



Ejecución de la tarea
24 horas después de la adquisición

Fig 2. La figura muestra un esquema del laberinto de agua (modificado) de Morris. Se observa el cuadrante en donde se encuentra la plataforma, así como la ejecución ficticia de un animal que aprendió la tarea (cortesía de Ormsby, J. C.).

1.6 La corteza insular anatomía y funciones

Esta región cortical encargada de recibir y procesar la información gustativa, se localiza en la confluencia del surco rinal y la arteria cerebral media (Norgren y Leonard, 1971; Braun et al., 1982; Lasiter et al., 1982; Kosar et al., 1986a y b). Las aferentes gustativas provenientes de los receptores al gusto, se dirigen al área parabraquial pontina (Saper, 1982, Krukoff, 1993), de donde surgen fibras que proyectan al núcleo ventromedial y ventromedial posterior del tálamo (Kosar et al., 1986a; 1986b). En estos núcleos establecen un segundo relevo, que termina en la región gustativa de la corteza insular (CI) (Lasiter y Glanzman, 1983; Kiefer, 1985). Además de las aferencias descritas, recientemente se han descrito proyecciones provenientes de los núcleos intralaminares del tálamo hacia la CI (Berendse y Groenewegen, 1991).

La CI mantiene conexiones con la corteza cingulada (Zeng y Stuesse, 1991; Olson y Musil, 1992), piriforme, restroesplénica, y entorrinal; con estructuras subcorticales tales como: el presubiculum, el claustró, el pálido, los núcleos talámicos dorsomedial y posterolateral, y con algunos núcleos romboencefálicos (Braun, 1990). También se encuentra íntimamente relacionada con estructuras del sistema límbico como la amígdala (Yamamoto et al., 1984) y el hipotálamo (Saper, 1982). Además, a través del tálamo (Ito, 1992) y del núcleo del tracto solitario recibe aferentes viscerales autónomas (Kiefer, 1985). Debido a este tipo de conexiones se ha pensado que la CI participa en procesos motivacionales y viscerales.

Estudios recientes han demostrado que la CI participa en el aprendizaje y la memoria (ver Bermúdez-Rattoni et al., 1991, Thompson, 1992). Por ejemplo, se ha demostrado que lesiones de esta estructura cerebral impiden el aprendizaje del condicionamiento aversivo a los sabores (García et al., 1985; Bermúdez-Rattoni y McGaugh 1991). En nuestro laboratorio hemos tratado de dilucidar algunas de las funciones de la CI a través de lesiones electrofólicas o del bloqueo neuroquímico. Nuestras observaciones sugieren que además de su participación en el CAS, la CI está involucrada en tareas como la prevención pasiva y el laberinto de agua de Morris (Bermúdez-Rattoni et al., 1991, Ormsby et al., 1991; Bermúdez-Rattoni et al., 1994). Asimismo hemos demostrado que injertos de corteza insular permiten el reaprendizaje del CAS hacia los 60 días post-injerto (Bermúdez et al., 1989; Escobar et al., 1989; Fernández-Ruiz et al., 1991). También se ha sugerido la posibilidad de que en la CI el sistema colinérgico juegue un papel preponderante

en la recuperación postranplante de sus funciones pues existe una alta correlación entre la recuperación conductual y la liberación de ACh del tejido transplantado (López-García et al., 1990a; Bermúdez-Rattoni et al., 1992). De hecho, la ACh se encuentra presente en grandes cantidades en la CI intacta, la cual puede provenir de aferentes colinérgicas del núcleo basalis magnocelularis, pues su lesión impide la adquisición y la consolidación del CAS y de la prevención pasiva (López-García et al., 1993). Además de la ACh, se ha encontrado que tanto el tejido intacto como el tejido fetal transplantado son capaces de liberar glutamato (López García et al., 1990a y b), el cual en condiciones normales puede ser liberado por aferentes talámicas y/o de conexiones cortico-corticales.

En conclusión, los resultados descritos sugieren que la CI juega un papel importante en algunos de los procesos involucrados en la adquisición de información, por lo menos del CAS. Estos datos hacen pensar que el sistema colinérgico presente en la CI participa en forma similar a otras regiones asociadas a procesos mnémicos. Por su parte el sistema glutamatérgico también podría estar involucrado en las funciones de la CI. (ver López-García et al., 1990 a y b; Escobar et al., 1994).

II PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

La corteza insular participa en el aprendizaje de condicionamientos aversivos; el condicionamiento aversivo a los sabores y el laberinto de agua de Morris han demostrado ser paradigmas conductuales eficaces para el estudio del aprendizaje y la memoria. A su vez, dos sistemas involucrados en procesos mnémicos se encuentran presentes en la CI; los sistemas colinérgico y glutamatérgico, de esta forma, se ha sugerido que estos sistemas de neurotransmisión pueden participar en las funciones mnémicas de la CI.

Con base en los antecedentes expuestos, en este trabajo se propuso evaluar la participación del sistema colinérgico de la CI en la adquisición y consolidación del CAS y del LAM. Para ello se empleó un antagonista muscarínico, la escopolamina (30 μg / μl), con el objeto de bloquear la actividad colinérgica durante la adquisición y/o la consolidación del aprendizaje.

Con el objetivo de completar los experimentos en torno al papel que juega la actividad colinérgica en la recuperación de funciones y con base en las evidencias obtenidas respecto al papel de la ACh en los trasplantes homotópicos sobre la recuperación de funciones, en el presente trabajo también se bloqueó la actividad colinérgica de los trasplantes de corteza insular.

Como se mencionó en los antecedentes, en experimentos previos se encontró que la actividad glutamatérgica se encuentra presente en la corteza insular. De esta forma, surgió el interés de estudiar la participación de este sistema de neurotransmisión en las funciones de la CI. La evidencia experimental reciente, ha mostrado que el sistema glutamatérgico, a través de sus receptores tipo NMDA, participa en los procesos del aprendizaje y la memoria. Así, en la segunda fase de este proyecto, se propuso el bloqueo del sistema glutamatérgico de la CI, durante la adquisición y consolidación de los condicionamientos, empleando para ello un antagonista competitivo del receptor tipo NMDA, el ácido amino fosfonopentanóico (AP5).

III HIPOTESIS.

1) Con base en los antecedentes expuestos, se propone que la corteza insular participa en el aprendizaje de condicionamientos aversivos

2) El sistema colinérgico y el glutamatérgico pueden estar involucrados en los mecanismos neuroquímicos que median las funciones mnémicas de la corteza insular.

3) El sistema colinérgico participa en la recuperación de funciones mediada por trasplantes homotópicos a la corteza insular.

IV OBJETIVOS.

Evaluar el papel que juega la actividad colinérgica de la corteza insular en los mecanismos de adquisición y consolidación de dos paradigmas conductuales: el condicionamiento aversivo a los sabores y del laberinto de agua de Morris.

Analizar los efectos del bloqueo colinérgico sobre los trasplantes de tejido fetal homotópico a la corteza insular en la recuperación de funciones.

Evaluar si la transmisión glutamatergica presente en la corteza insular participa en la adquisición y consolidación del condicionamiento aversivo a los sabores y del laberinto de agua de Morris.

*Y cuando supe de la raíz
de la noche de Homero
comencé a cultivar
mi ignorancia
de húmedo polvo espejeante.*

O. Arias.

V METODO Y MATERIALES.

Sujetos:

Se emplearon ratas macho Wistar de 300 a 350 gr. de peso. Los animales se mantuvieron en jaulas individuales alimentados *ad libitum*, bajo un ciclo invertido de luz/obscuridad (12/12 h).

Cirugía:

Implante de cánulas en animales intactos: Con el objeto de bloquear los sistemas neuroquímicos (colinérgico y glutamatérgico) de la CI, se implantaron bilateralmente cánulas de acero inoxidable de 0.6 mm de diámetro y 8.0 mm de longitud en las coordenadas de la CI (AP +1.2, L \pm 5.5, V -3) según el atlas de Paxinos y Watson. Las cánulas se fijaron 2.0 mm por arriba de la corteza insular para evitar lesionarla, sólo los inyectores bajaron 5.0 mm verticalmente. Para sostener las cánulas se empleó cemento dental y tres tornillos micrométricos. Las pruebas conductuales se realizaron después de transcurridos 8 días desde la cirugía.

5.1 Pruebas conductuales:

Previo a las pruebas conductuales, los animales fueron manipulados diariamente hasta que se habituaron a ser tocados en sus cánulas.

En los dos estudios farmacológicos se emplearon dos paradigmas conductuales; el condicionamiento aversivo a los sabores y el laberinto de agua de Morris. A continuación se explica el procredimiento en cada uno de ellos.

5.1.1 Condicionamiento aversivo a los sabores (CAS):

Todos los animales fueron privados de agua 12 h antes del inicio de la medición de la línea base. Durante ésta, los animales tuvieron acceso al agua dos veces al día (10:00 am y 17:00 pm) durante 10 min cada vez. Una vez que se alcanzó una línea base estable en la ingesta de agua (de 4 a 5 días), se llevó a cabo la adquisición del CAS.

Adquisición:

La fase de adquisición consistió en la presentación de agua con sacarina al 0.1% como estímulo novedoso. 20 min después de la ingesta de sacarina, se les

inyectó vía i.p. una solución de cloruro de litio (LiCl) 0.1 M como irritante gástrico.

Prueba:

Después de la fase de adquisición, los animales recibieron agua normal con el objeto de reiniciar el consumo basal de agua. Se tomaron 3 líneas base y posteriormente se llevó a cabo la prueba, la cual consistió en la presentación de agua con sacarina sin la inyección del LiCl.

Se midió el consumo de sacarina durante la adquisición y la prueba así como el porcentaje del consumo con respecto a la línea base, esto es se tomó la ingesta basal de agua como el 100% y se comparó con el porcentaje de sacarina consumido.

5.1.2 Laberinto de agua de morris (LAM).

Laberinto de agua: el laberinto consistió en una tina de metal galvanizado (90 cm de altura x 120 cm diámetro) pintado de negro, dividida en cuatro secciones o cuadrantes. En uno de los cuadrantes se colocó una plataforma de acrílico transparente (10 cm x 10 cm de área x 30 cm de altura desde el piso del laberinto). El laberinto fué llenado dos centímetros por arriba de la plataforma.

El laberinto se llenó con agua a una temperatura de 22 a 25 ° C. y la ejecución del laberinto fue filmada con una cámara ubicada por arriba del estanque. La señal se llevó a un convertidor analógico digital conectado a una computadora Lanix 386. Los datos se procesaron a través de un analizador de imágenes CROMOTRACK (San Diego Ins.).

Procedimiento conductual

Adquisición:

Durante la adquisición del LAM, los animales se sometieron a un entrenamiento que constó de 10 ensayos. En cada uno de ellos, el animal fué lanzado aleatoriamente a uno de los cuadrantes del laberinto. El objetivo de cada ensayo, era que el animal encontrara la plataforma (blanco) ubicada en uno de los cuadrantes del laberinto, la duración máxima de cada ensayo fué de 45 seg; si pasado este tiempo el animal no encontraba el blanco, se le llevaba a él y se le dejaba ahí por 10 seg, pasado este periodo, se le volvía a lanzar al agua hasta completar 10 ensayos.

Durante la adquisición se registró la latencia para encontrar la plataforma durante cada ensayo.

Prueba.

24 horas después de la adquisición se llevó a cabo la prueba; en esta se removió la plataforma. La prueba consistió en lanzar a la rata al estanque de agua por un intervalo de 120 seg; pasado este tiempo la prueba concluía. En la prueba se analizó el tiempo que tardaban en acudir por primera vez a la región blanco (latencia al blanco), y el número de veces que pasaban por él (número de cruces).

Sustancias:

Hidrobromuro de escopolamina (No. S-1875), SIGMA St. Louis Mo; Acido fosfonopentanoico (AP5), SIGMA St. Louis Mo; Cloruro de litio (2370-01) BAKER Analyzed Phillipsburg, N.J. 08865 USA; Sacarina sódica, SIGMA St. Louis Mo; Pentobarbital, Smith Kline Norden de México.

5.2 Histología:

Una vez finalizados los experimentos todos los animales fueron sacrificados con una sobredosis de pentobarbital y perfundidos con solución salina (0,9%) seguida por paraformaldehído al 4 % en buffer de fosfatos (PB pH 7.4, 0.1 M de fosfato). Los cerebros se extrajeron y postfijaron durante 24 horas en este fijador para pasarlos después a buffer fosfatos y sacarosa al 20 %. Cortes de 40µm fueron obtenidos en un microtomo de congelación. El tejido se procesó con el procedimiento estándar para violeta de cresilo, con el objetivo de visualizar la ubicación de las cánulas.

5.3 Análisis de los datos:

Para el análisis estadístico del CAS y del LAM, se empleó un ANOVA de un factor estableciéndose la significancia a $p < 0.05$. En los casos con significancia se realizaron las pruebas de comparación múltiple (a posteriori) de Scheffé y Fisher.

VI RESULTADOS

6.1 ESTUDIO I

Participación del sistema colinérgico en las funciones de la corteza insular

Efectos de la administración de escopolamina en la CI durante la adquisición del condicionamiento aversivo a los sabores y el laberinto de agua de Morris.

Para llevar a cabo estos experimentos, se emplearon ratas previamente canuladas en la corteza insular (ver esquema de metodología), así como animales intactos que sirvieron como control.

Condicionamiento aversivo a los sabores (CAS).

Durante la fase de adquisición, las ratas canuladas se dividieron en dos grupos: 1) uno al cual se le administró $30\mu\text{g}$ / $1\mu\text{l}$ de escopolamina y 2) el que recibió solución salina (0.15 M) en el mismo volumen.

En la adquisición del experimento 1.1, los animales recibieron escopolamina en la CI 15 min antes del entrenamiento. Pasado este tiempo, se les presentó agua con sacarina al 0.1% como estímulo novedoso durante 10 min.. 20 min después se les inyectó vía i.p. una solución de cloruro de litio (LiCl) 0.1 M como irritante gástrico, midiéndoseles el consumo de sacarina con respecto a su línea base.

Los animales control se entrenaron en el CAS sin recibir ningún fármaco previo a la adquisición.

Resultados del condicionamiento aversivo a los sabores

Durante la adquisición del CAS, los grupos que recibieron escopolamina y salina, mostraron menor consumo de sacarina con respecto al grupo control. Sin embargo, al realizar la prueba, sólo el grupo con escopolamina ($F_{2, 21} p \leq 0.0001$; Fisher y Sheffé $p \leq 0.05$) mostró preferencia a la sacarina ($23\text{ml} \pm 2$), mientras que los grupos con salina ($8\text{ml} \pm 1$) y control ($6\text{ml} \pm 1$) presentaron aversión a la sacarina (ver apéndice "tablas de resultados").

Analizando la ingesta de sacarina con respecto al consumo basal de agua, encontramos que los grupos control ($n=9$) y salina ($n=6$) tuvieron menor porcentaje en su consumo de sacarina ($F_{2, 21} p \leq 0.0001$; Fisher y Scheffé $p \leq 0.05$), que el grupo tratado con escopolamina ($n=7$) Los resultados del CAS se muestran en la figura 3.

**EFFECTOS DE LA ESCOPOLAMINA EN LA CORTEZA INSULAR
SOBRE LA ADQUISICION DEL CONDICIONAMIENTO
AVERSIVO A LOS SABORES**

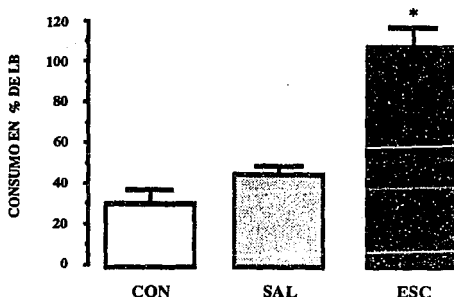


Fig. 3. La gráfica ilustra el efecto del bloqueo colinérgico en la corteza insular sobre el condicionamiento aversivo a los sabores durante la fase de prueba. Como puede observarse, la administración de escopolamina durante la adquisición bloquea el aprendizaje del CAS. Nótese que el grupo control y el de salina consumen menor cantidad de sacarina con respecto al grupo tratado con escopolamina. Los datos se expresan en porcentajes con respecto a su línea base en medias con errores estándar. * $p < 0.05$.

Laberinto de agua (LAM)

En el entrenamiento del LAM se invirtió la administración de salina y escopolamina durante la adquisición. Así, los animales que recibieron salina durante el CAS se les administró escopolamina en el LAM, y aquellos que recibieron escopolamina en el CAS se les administró salina en el LAM. Los fármacos fueron administrados en la CI 15 min antes del entrenamiento de la tarea.

Resultados del LAM:

Adquisición: durante los ensayos de adquisición del LAM (fig. 4), se encontraron diferencias desde el ensayo 2 ($F_{2,16} p \leq 0.0161$). Las pruebas de

comparación múltiple revelaron que en este ensayo el grupo con salina (n=6) y escopolamina (n=6) diferían del grupo control (n=6). A partir del ensayo 5 se observa que los grupos salina y control aprenden a encontrar la plataforma, en tanto que el grupo con escopolamina no aprende la tarea ($F_{2,16} p \leq 0.0021$; Fisher y Sheffé $p \leq 0.05$).

**EFFECTOS DE LA APLICACION DE ESCOPOLAMINA
EN LA CORTEZA INSULAR EN LA
ADQUISICION DEL
LABERINTO DE AGUA**

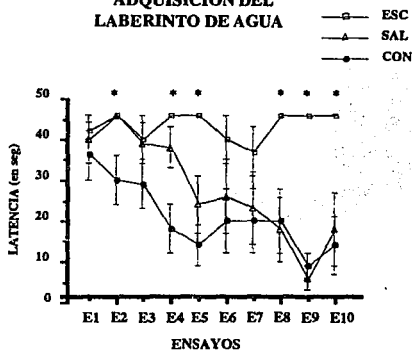


Fig.4. En la gráfica se muestran los efectos de la escopolamina en la corteza insular sobre la adquisición del laberinto de agua. Nótese que a partir del quinto ensayo los grupos salina y control muestran diferencias significativas con respecto al de escopolamina en las latencias para encontrar la plataforma, siendo estas diferencias más pronunciadas hacia los últimos tres ensayos. Los resultados se presentan en medias con errores estándar. * $p < 0.05$.

Prueba: En la prueba del LAM, el grupo tratado con escopolamina tardó significativamente más que los grupos control y salina ($F_{2,17} p \leq 0.006$; Fisher y Sheffé $p \leq 0.05$) en acudir al lugar en donde se encontraba la plataforma (fig. 5).

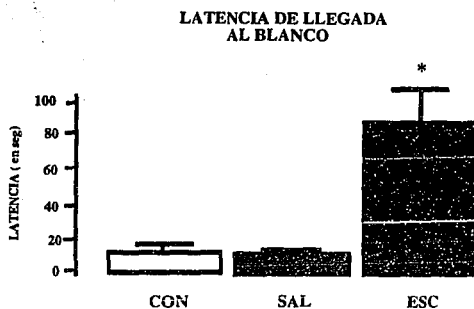


Fig. 5. En la gráfica se muestran las latencias de llegada al blanco, 24 horas después de realizada la adquisición. Como puede observarse, el grupo de escopolamina tardó significativamente más tiempo en acudir al lugar del blanco que los otros dos grupos. Los datos se expresan en medias con errores estándar. * $p < 0.05$.

En la figura 6 se muestran el número de cruces que realizan los animales sobre la región del blanco, en este parámetro, también se observaron diferencias estadísticas entre los grupos. El grupo que recibió escopolamina realiza menor número de cruces en comparación con el grupo control ($F_{2,16} p \leq 0.075$; Fisher $p \leq 0.05$), mientras que no se observaron diferencias significativas entre los grupos control y salina.

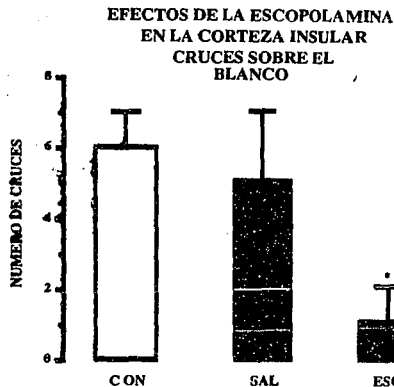


Fig.6. La gráfica muestra el número de cruces, que realizan los grupos sobre el blanco durante 120 seg. Como puede observarse existen diferencias significativas entre el número de cruces que se realizan entre el grupo con escopolamina y el control no observándose diferencias con el grupo con salina. Los datos se expresan en medias con errores estándar. * $p < 0.05$.

Conclusión del experimento I.I:

De este experimento se concluye que el bloqueo colinérgico de la CI, empleando el antagonista muscarínico escopolamina a una dosis de $30 \mu\text{g}/1\mu\text{l}$, parece impedir la adquisición de los dos tipos de condicionamientos evaluados. Sin embargo no se puede descartar un efecto dependiente del estado farmacológico producido por la escopolamina. Los resultados obtenidos se comentarán en la discusión del estudio I.

La figura 7 muestra la reconstrucción histológica en cortes coronales del lugar en donde se localizaron las puntas de las cánulas en este experimento.

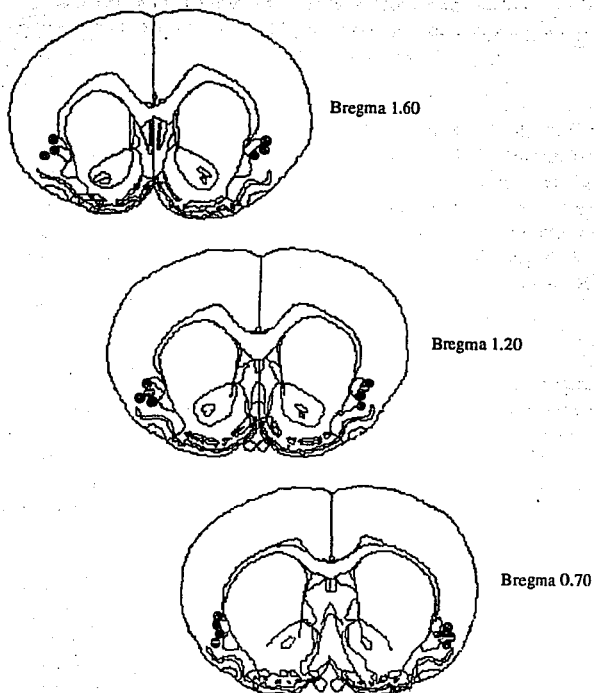


Fig. 7. La figura representa en secciones coronales, el sitio en donde se encontraron las puntas de las cánulas del experimento del bloqueo colinérgico en la adquisición de condicionamientos aversivos.

1.2 Efectos de la administración de escopolamina en la CI durante la consolidación del condicionamiento aversivo a los sabores y del laberinto de agua de Morris.

En este experimento se intentó dilucidar si el bloqueo colinérgico inmediatamente después de la adquisición de los condicionamientos, tenía efecto sobre la consolidación de los aprendizajes del CAS y LAM. Para tal efecto los animales se asignaron a uno de 3 grupos; 1) aquellos que recibieron escopolamina ($30 \mu\text{g}/1\mu\text{l}$ en 1 min), 2) los que recibieron salina ($0.15 M$) mismo volumen, y 3) controles intactos. Los fármacos se administraron 5 min después de la adquisición de los condicionamientos; probándose los efectos de esta manipulación el día de la prueba.

Adquisición del CAS

En este experimento la adquisición del CAS se hizo exactamente igual que en el experimento 1.1; a los animales se les presentó agua con sacarina al 0.1% como estímulo novedoso y 20 min después se les inyectó i.p. LiCl ($0.1 M$). Después de la inyección de LiCl se administró la escopolamina o la salina en la CI.

En la prueba a los animales se les presentó el agua con sacarina sin la inyección de LiCl.

Se midió el porcentaje del consumo de sacarina con respecto a su línea base.

Resultados del condicionamiento aversivo a los sabores:

En este experimento, no se observaron diferencias entre los grupos durante la adquisición del CAS. En la fase de prueba del CAS (fig.8), no se observaron diferencias significativas en la ingesta de sacarina entre los grupos control ($n=8$) y escopolamina ($n=8$); las comparaciones múltiples encontraron diferencias entre el grupo al cual se le administró salina ($n=7$) y el grupo control ($F_{2,22} p \leq 0.0442$; Fisher $p < 0.05$).

**CONDICIONAMIENTO AVERSIVO A LOS SABORES
EFECTOS DE LA ESCOPOLAMINA EN LA
CONSOLIDACION DEL CONDICIONAMIENTO**

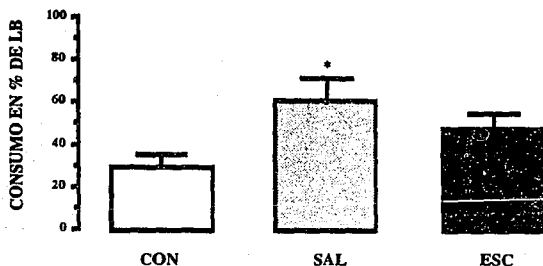


Fig.8. La gráfica muestra los efectos de la escopolamina en la consolidación del aprendizaje del condicionamiento aversivo a los sabores. Como puede observarse, el bloqueo colinérgico en la consolidación no produce alteraciones en el aprendizaje del condicionamiento. Los datos se expresan en medias con errores estándar. * $p < 0.05$.

Laberinto de agua:

En este experimento, el entrenamiento del LAM se realizó de igual forma como en el experimento 1.1, excepto que los fármacos se administraron 5 min después de que terminó la adquisición, para ello se contó con tres grupos; un control ($n=7$) intacto, el grupo que recibió salina en el CAS se le administró escopolamina ($n=7$) en el LAM y el que recibió escopolamina en el CAS, en el LAM se le administró salina ($n=7$).

Resultados del LAM:

En la adquisición del laberinto de agua no se observaron diferencias significativas entre los grupos (fig.9).

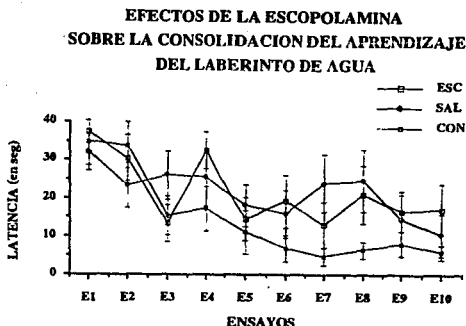


Fig.9. En la gráfica se muestra la fase de adquisición del laberinto de agua. En esta fase no se observaron diferencias significativas entre los grupos para adquirir la tarea. Los resultados se muestran en medias con errores estándar.

Como se mencionó en la metodología, una vez que los animales terminaron su entrenamiento en el LAM, se les administraron la escopolamina y la salina a los grupos experimentales y los efectos de esta manipulación se analizaron durante la fase de prueba del LAM.

Prueba del LAM:

La prueba del LAM se llevó a cabo 24 horas después del entrenamiento. Como se observa en la figura 10, no se encontraron diferencias significativas entre el grupo de animales tratados con escopolamina y los animales control; sin embargo, el grupo de animales que recibió salina fué mas lento ($F_{2,20} p \leq 0.0404$; Fisher $p \leq 0.05$) en acudir por primera vez al lugar en donde se encontraba la plataforma, que el grupo control y el tratado con escopolamina

Analizando el número de cruces que realizaron los grupos sobre el cuadrante donde se localizaba la plataforma durante la adquisición, no se encontraron diferencias significativas entre los animales control y los que recibieron escopolamina o salina después del entrenamiento (consolidación) del laberinto de agua (fig.11).

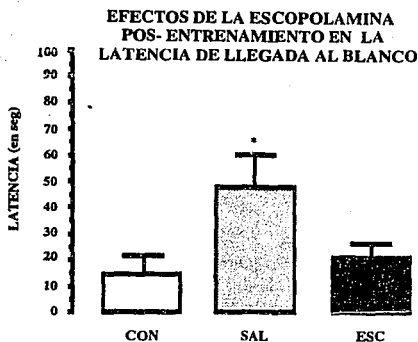


Fig.10. En la gráfica se observan las latencias de llegada al lugar del blanco en la fase de prueba de la tarea. En esta fase no se observaron diferencias significativas entre los grupos control y experimental. Los datos se expresan en medias con errores estándar. * $p < 0.05$.

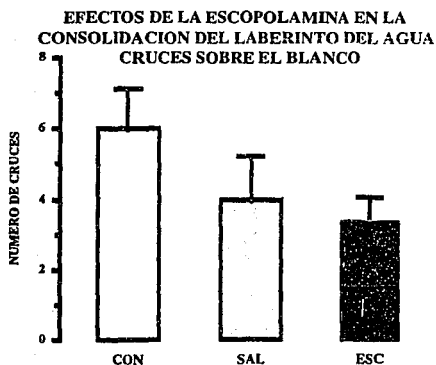


Fig. 11. En la gráfica se muestra el número de cruces que realizan los grupos durante 120 seg. sobre el lugar en donde se localizaba el blanco durante la adquisición. Como se puede observar, no se obtuvieron diferencias significativas en el número de cruces. Los datos se expresan en medias con errores estándar.

Conclusión del experimento 1.2: La administración de escopolamina (30 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) en la CI después de la adquisición del CAS y del LAM, no tuvo efectos sobre la consolidación de los condicionamientos aversivos empleados en este experimento (ver apéndice). Sin embargo los grupos que recibieron salina sí mostraron diferencias con respecto al grupo control y al de escopolamina, este efecto puede ser resultado de un cambio osmótico en la CI debido a la inyección de la solución salina.

La figura 12 muestra en cortes coronales, la reconstrucción anatómica del lugar en donde quedaron las puntas de las cánulas en el experimento 1.2.

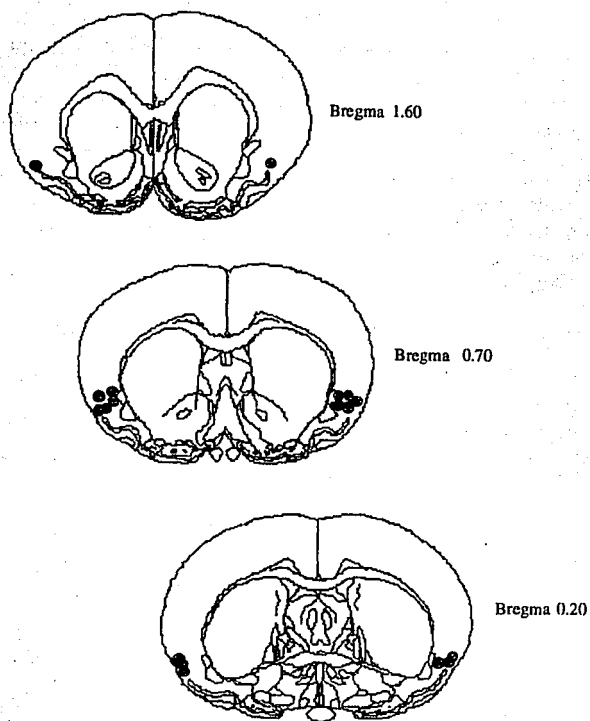


Fig.12. La figura muestra en secciones coronales el lugar en donde se localizaron las puntas de las cánulas del experimento del bloqueo colinérgico durante la consolidación.

1.3 Efectos de la administración de escopolamina en trasplantes de corteza insular durante la adquisición del CAS y el LAM

Con el objetivo de analizar si la actividad colinérgica presente en los trasplantes homotópicos en la CI era importante para el reestablecimiento de las funciones de esta región cerebral, en este experimento se bloqueó la actividad colinérgica de los injertos de CI previamente transplantados. Para que el tejido fetal injertado se integre bien con el tejido huésped, es necesario realizar lesiones previas en la zona donde se colocará el trasplante. De este modo en este experimento los animales fueron lesionados en la CI y posteriormente transplantados y canulados en la CI. Además del grupo de animales lesionados se contó con un grupo de animales intactos como controles.

A continuación se explica el procedimiento del experimento 1.3.

Lesión de la CI:

En este experimento un grupo de ratas fueron lesionadas electrofólicamente (1 mA AC/40s) de manera bilateral, bajo anestesia con pentobarbital (50 mg/kg) en el área gustativa de la corteza insular (AP= +1.2mm, L= ± 5.5mm, DV= -5.0mm). En el 12º día pos lesión, los animales recibieron injertos de tejido fetal homotópico a la CI con factor de crecimiento neuronal (FCN).

El grupo de animales lesionados fué evaluado en el CAS 8 días después de la lesión y 15 días después del trasplante, con el objetivo de tener una comparación pre y postransplante.

CAS Pretrasplante:

En la fase de adquisición del CAS, se contó con un grupo de animales control (CON) y uno de lesionados (LES) en la CI, los cuales se sometieron al mismo protocolo de adquisición del CAS seguido en los experimentos 1.1 y 1.2. Se midió el porcentaje del consumo de sacarina con respecto a la línea base.

Resultados CAS (Pretrasplante):

En la adquisición del CAS post lesión (pretrasplante), no se encontraron diferencias significativas entre los grupos lesionados y controles en su consumo de sacarina. En la prueba del CAS, se observaron diferencias significativas ($p \leq 0.0007$) en la ingesta de sacarina entre los animales lesionados ($13.172 \pm .801$) y los controles (6.778 ± 1.605).

En la figura 13 se muestra el análisis de los porcentajes de consumo de sacarina durante la prueba del CAS con respecto a la ingesta basal de agua. Como puede observarse, existen diferencias significativas ($F_{1,40} p \leq 0.0001$) entre el grupo control ($n=9$) y el grupo lesionado ($n=32$)

**EFFECTOS DE LA LESION DE LA CORTEZA INSULAR
SOBRE EL CONDICIONAMIENTO AVERSIVO A LOS SABORES**

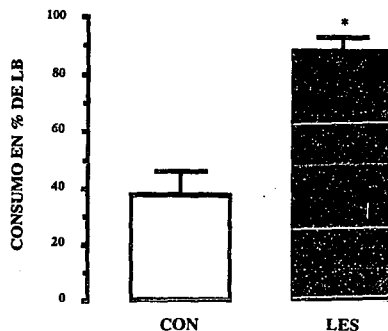


fig.13. La gráfica muestra el efecto de la lesión de la corteza insular sobre el condicionamiento aversivo a los sabores. Como se observa, existen diferencias significativas en el porcentaje de consumo de sacarina con respecto a su línea base, entre el grupo control y el de lesionados. Los resultados se muestran en medias con errores estándar. * $p < 0.05$.

Transplantes de CI:

Doce días después de la lesión, los animales recibieron injertos de tejido fetal homotópico provenientes de embriones de ratas gestantes de 16 días embebidos en FCN. El tejido se injertó estereotáxicamente a través de una microjeringa Hamilton de 10 ml en el mismo sitio de la lesión. Posteriormente con la ayuda de una cánula gúfa, se colocó gelfoam con FCN sobre el transplante. Después de 8 días se implantaron estereotáxicamente cánulas en la región del transplante (AP +1.2, L ±5.5, V -2.0).

CAS Postransplante:

Durante la fase de adquisición las ratas transplantadas y canuladas se dividieron en dos grupos: uno al cual se le administró $30\mu\text{g}/1\mu\text{l}$ de escopolamina y otro que recibió solución salina (0.15 M ,) en el mismo volumen. Como en la adquisición del experimento 1.1, los animales canulados recibieron los fármacos en la CI 15 min antes del entrenamiento. Posteriormente se llevó a cabo el CAS midiéndose el porcentaje del consumo de sacarina con respecto a la ingesta basal de agua.

Resultados CAS postransplante:

En la adquisición del CAS postranplante el grupo al cual se le administró escopolamina mostró neofobia con respecto al grupo control y al de salina ($F_{2,34} p \leq 0.007$; Fischer y Scheffé $p \leq 0.05$), sin embargo cuando se realizó la prueba del CAS, este grupo (12 ± 1.0) ingiere mayor volumen de agua con sacarina que los grupos control (5 ± 77) y salina ($7.33 \pm 1,26$), ($F_{2,34} p \leq 0.0002$; Fisher y Scheffé $p \leq 0.05$). En la figura 14 se muestran los porcentajes de consumo de sacarina con respecto a la línea base de los grupos. Como puede observarse, se observaron diferencias significativas ($F_{2,34} p \leq 0.0003$; Fisher y Scheffé $p \leq 0.05$) entre el grupo control ($n=10$) y el de salina ($n=12$) con respecto a el grupo de escopolamina ($n=12$).

**EFFECTOS DE LA ESCOPOLAMINA EN TRANSPLANTES DE
CORTEZA INSULAR
SOBRE LA ADQUISICION DEL CONDICIONAMIENTO AVERSIVO
A LOS SABORES**

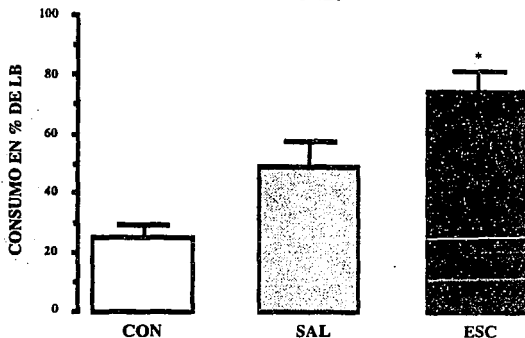


Fig.14. La gráfica muestra el porcentaje de consumo de sacarina con respecto a su línea base. Como se observa, el grupo al cual se le administró escopolamina difiere significativamente del grupo control y el de salina. Los resultados se muestran en medias con errores estándar. * $p < 0.05$.

Laberinto de agua de Morris.

En este experimento la administración de los fármacos se invirtió; aquellos animales que recibieron escopolamina en el CAS, en el LAM recibieron salina y los que recibieron salina, en el LAM recibieron escopolamina. Los fármacos se administraron 15 min antes del entrenamiento del LAM, el cual se hizo como en el experimento 1.1.

Resultados LAM:

Durante la adquisición se analizaron las latencias para encontrar la plataforma. Como se ilustra en la figura 15, a partir del sexto ensayo, el grupo tratado con escopolamina ($n=11$) tardó significativamente más tiempo en encontrar la plataforma ($F_{2,25} p \leq 0.0376$; Fischer $p \leq 0.05$), que los grupos control ($n=8$) y salina ($n=6$).

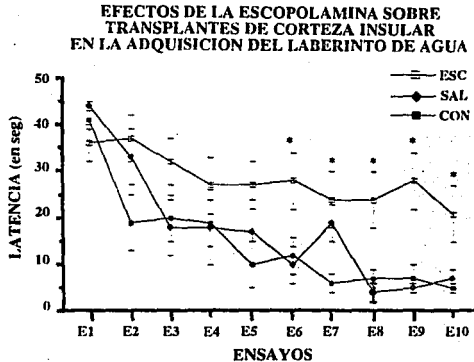


Fig.15. En la gráfica se muestra el efecto del bloqueo colinérgico en la adquisición del laberinto de agua en ratas con transplante de corteza insular. Como puede observarse, el grupo al cual se le administró escopolamina antes de la adquisición tarda significativamente más tiempo en localizar la plataforma que el grupo con salina y el control, siendo este efecto más pronunciado en los últimos ensayos. Los resultados están expresados en medias con errores estándar. * $p < 0.05$.

Prueba del LAM:

En la prueba del LAM se evaluaron las latencias de llegada al lugar en donde se encontraba el blanco durante la adquisición, así como los cruces realizados en él. En las latencias de llegada al blanco, se encontraron diferencias significativas entre los grupos ($F_{2,24} p \leq 0.0151$). Las comparaciones múltiples revelaron que el grupo al cual se le administró escopolamina, tardó significativamente más tiempo en acudir al lugar donde se localizaba la plataforma durante la adquisición que el grupo control (Fisher y Scheffé $p < 0.05$), no encontrándose diferencias significativas con respecto al grupo con salina (fig.16).

**EFFECTOS DE LA ESCOPOLAMINA EN TRANSPLANTES DE
CORTEZA INSULAR SOBRE LA
LATENCIA DE LLEGADA AL BLANCO**

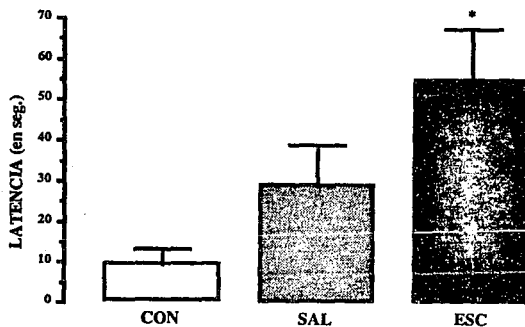


Fig.16. En la gráfica se muestran las latencias de llegada al lugar del blanco el día de la prueba. Como puede notarse, el grupo al cual se le administró escopolamina tardó significativamente más tiempo en llegar al lugar en donde se localizaba la plataforma que el grupo control. Los resultados se muestran en medias con errores estándar. * $p < 0.05$.

El grupo de animales que recibió escopolamina en la adquisición, durante la prueba realizó significativamente ($F_{2,24} p \leq 0.0376$) menor número de cruces sobre el lugar del blanco que los controles (Fisher y Sheffé $p < 0.05$), no existiendo diferencias con respecto al grupo con salina (fig.17).

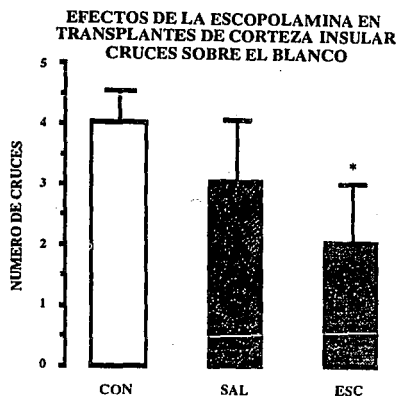


Fig.17. La gráfica presenta el número de cruces realizados por los grupos sobre la región del blanco el día de la prueba. Como puede observarse, el grupo al cual se le administró escopolamina durante la adquisición de la tarea realiza menor número de cruces sobre la región del blanco que el grupo control. Los resultados se muestran en medias con errores estándar. * $p < 0.05$.

Conclusión del experimento 1.3:

En este experimento se pudo observar que el bloqueo colinérgico de los transplantes de CI con la escopolamina ($30 \mu\text{g} / 1\mu\text{l}$), impidieron la adquisición del aprendizaje del condicionamiento aversivo a los sabores y del laberinto de agua. Estos efectos fueron semejantes a los observados en el bloqueo colinérgico de la corteza insular intacta. Como en el caso del experimento 1.1, en el experimento 1.3 no se puede descartar que los efectos observados se deban a un efecto dependiente del estado farmacológico en que se encontraban los animales durante la adquisición de los condicionamientos evaluados.

Los resultados obtenidos en este primer estudio se discuten a continuación.

Discusión I

Efectos del bloqueo colinérgico en la corteza insular

Efectos de la escopolamina en la corteza insular en el condicionamiento aversivo a los sabores y el laberinto de agua de Morris.

En la serie de experimentos llevados a cabo en este primer estudio, encontramos que la escopolamina, antagonista colinérgico de los receptores muscarínicos, bloqueó la adquisición del CAS y del LAM tanto en animales con la CI intacta como en animales con transplantes de CI, sin afectar la consolidación de estos paradigmas.

Efectos de la escopolamina sobre las funciones de la CI

El efecto de la escopolamina en la CI sobre la adquisición del CAS apoya los resultados que se habían obtenido previamente, los cuales sugerían sobre la participación del sistema colinérgico en las funciones gustativas de la corteza insular (López-García et al., 1990a; 1990b; 1993). En 1993, López-García y cols. habían demostrado que la lesión del NBM impedía la adquisición del CAS, suprimiendo a su vez la actividad de la ChAT en la CI, sin embargo las alteraciones encontradas podían deberse a que se hubiera afectado alguna otra estructura que también participara en el CAS y requiriera del aporte colinérgico proveniente del NBM. En los experimentos llevados a cabo en este proyecto, encontramos que el bloqueo colinérgico directamente sobre la CI impide el aprendizaje del CAS, pero no afecta su consolidación.

Los resultados encontrados en el laberinto de agua fueron interesantes, pues aunque ya se había reportado que la actividad colinérgica del cerebro anterior y del hipocampo es importante para la adquisición de esta tarea (ver Brandeis et al., 1989; y Dunnet et al., 1991; Richter y Segal 1989; Riekkinen et al., 1990), no se había documentado que la actividad colinérgica en la CI participara en esta tarea. En 1991, Bermúdez-Rattoni y cols. habían demostrado que el bloqueo reversible de la CI con TTX impedía la adquisición y la retención del laberinto de agua, pero no se sabía sobre qué sistemas de neurotransmisión se estaba incidiendo. Con los resultados de este primer estudio podemos decir que la actividad colinérgica presente en la CI, puede participar en la adquisición pero no en la consolidación de esta tarea.

Los resultados obtenidos con el bloqueo colinérgico en la corteza insular sobre la adquisición de los paradigmas de condicionamiento evaluados en este

estudio, pueden deberse a un efecto dependiente del estado farmacológico, algunos estudios han demostrado que la escopolamina puede inducir el fenómeno de dependencia del estado farmacológico (Quirarte et al., 1994).

Efectos de la escopolamina sobre trasplantes de CI

Se sabe que los trasplantes de tejido cerebral fetal son capaces de promover la recuperación de funciones (Bjorklund y Stenevi, 1985). Aunada a esta recuperación, la sobrevivencia de los trasplantes aumenta si estos se acompañan de factores tróficos (Escobar et al., 1993; Frim et al., 1993), sin embargo, otras moléculas pueden estar implicadas en el reestablecimiento de funciones, tal es el caso de los neurotransmisores presentes en la región en cuestión.

En nuestro tercer experimento del primer estudio de este trabajo de investigación, la supresión colinérgica de los trasplantes homotópicos impidió el aprendizaje del CAS y del LAM. A pesar de que no podemos descartar un efecto dependiente del estado farmacológico producido por la escopolamina, este efecto sobre la actividad colinérgica de los trasplantes apoya los hallazgos obtenidos por Russell y cols. (1994) y por Escobar y cols. (1993, 1994), quienes reportan que la actividad colinérgica de los trasplantes de CI es importante para reestablecer sus funciones. Además de estos estudios, existen otros trabajos realizados en otras áreas cerebrales que han demostrado que, injertos de tejido cerebral fetal ricos en ACh mejoran déficits cognitivos resultantes de lesiones en la corteza y el hipocampo (Dunnet, 1991; Ridley y Baker, 1991; Li et al., 1992; Rosenblad y Nilsson, 1993).

Participación colinérgica en otros paradigmas conductuales.

En una gran cantidad de experimentos se ha demostrado que el sistema colinérgico participa en el aprendizaje de algunos paradigmas conductuales (Prado-Alcalá et al., 1978; Prado-Alcalá et al., 1979; Prado-Alcalá, 1985; Evenden et al., 1992; Introini-Collison y Baratti, 1992; Ogawa et al., 1992; Pirsch et al., 1992; Ogura y Aigner, 1993). Si este sistema se encuentra lesionado o alterado (p.e. en el envejecimiento), se presentan déficits cognitivos (Bartrus et al., 1986; Gower, 1986; Christensen et al., 1992; Ogawa et al., 1992; Riekkinen et al., 1992). De hecho la administración de agonistas colinérgicos facilitan el aprendizaje y la memoria de algunos paradigmas conductuales (Santucci et al., 1989; Introini-Collison y Baratti, 1992). No obstante, el sistema colinérgico no parece involucrarse en el almacenamiento de la información (Squire, 1987).

Nuestros experimentos sugieren, que la actividad colinérgica presente en la corteza insular participa en el aprendizaje de dos paradigmas de condicionamiento aversivo. Si la actividad colinérgica de la CI participa en el proceso de adquisición de información, significa que esta región cerebral comparte mecanismos semejantes a los presentes en otras estructuras mnémicas.

Otros experimentos serán necesarios para asegurar que la actividad colinérgica presente en la CI participa en procesos mnémicos y poder descartar con ellos que los impedimentos encontrados en el aprendizaje del CAS y del LAM se deba a otros fenómenos como la dependencia del estado farmacológico.

ESTUDIO II.

Participación del sistema glutamatérgico en las funciones de la corteza insular

2.1 Efectos de la administración de AP5 en la adquisición del condicionamiento aversivo a los sabores y del laberinto de agua de Morris.

Este experimento, tuvo como objetivo estudiar la participación del sistema glutamatérgico en algunos de los paradigmas de condicionamiento en los que la corteza insular se encuentra involucrada. En particular estuvimos interesados en evaluar la participación glutamatérgica a través de sus receptores tipo NMDA en la adquisición del CAS y del LAM, para tal efecto se empleó un antagonista competitivo de los receptores NMDA; el ácido fosfopentanoico "AP5".

Con el objeto de encontrar una dosis efectiva se emplearon dos concentraciones diferentes de la droga; 3 $\mu\text{g}/1\mu\text{l}$ y 6 $\mu\text{g}/1\mu\text{l}$.

Procedimiento:

Al igual que en los experimentos 1.1 y 1.2, en estos experimentos se emplearon ratas intactas como controles y se canularon otras en la CI para los grupos experimentales (ver métodos y materiales).

Condicionamiento aversivo a los sabores:

Para estudiar los efectos del AP5 sobre la adquisición del CAS, los animales canulados se dividieron en tres grupos: 1) uno que recibió AP5 3 $\mu\text{g}/1\mu\text{l}$ 20 min antes de la adquisición, 2) uno que recibió AP5 6 $\mu\text{g}/1\mu\text{l}$ 20 min antes de la adquisición y 3) el que recibió el vehículo del fármaco, buffer fosfatos 0.001M, 1 μl (PB) 20 min antes de la adquisición. Una vez administrados los fármacos, se llevó a cabo la adquisición del CAS, que como en los experimentos del estudio I, consistió en la presentación de agua con sacarina durante 10 min, pasados 20 min se administró la inyección i.p. de LiCl. El día de la prueba del CAS, sólo se presentó agua con sacarina sin la inyección posterior de LiCl.

Resultados CAS:

En este experimento no se encontraron diferencias significativas entre los grupos, en el consumo de sacarina durante la adquisición del CAS. En la fase de prueba del CAS se encontraron diferencias significativas entre los grupos (F 3,30

$p \leq 0.0033$), con las pruebas de comparación múltiple se observó que el grupo de AP5 $3 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ (15 ± 2.608) y el de AP5 $6 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ (12.286 ± 4.786) difieren significativamente (Fisher $p < 0.05$), con respecto a los grupos con PB (7.25 ± 3.98) y control (6.778 ± 6.058). La figura 18 muestra el consumo de sacarina con respecto a la ingesta basal de agua, en este análisis se observó que los grupos de AP5 de $3\mu\text{g}/1\mu\text{l}$ ($n=6$) y $6\mu\text{g}/1\mu\text{l}$ ($n=7$) difieren significativamente ($F_{3,30} p \leq 0.003$; Fisher $p < 0.05$) del grupo con buffer ($n=12$) y del control ($n=9$).

**EFFECTOS DEL AP5 EN LA CORTEZA INSULAR
SOBRE LA ADQUISICION DEL
CONDICIONAMIENTO AVERSIVO A LOS SABORES**

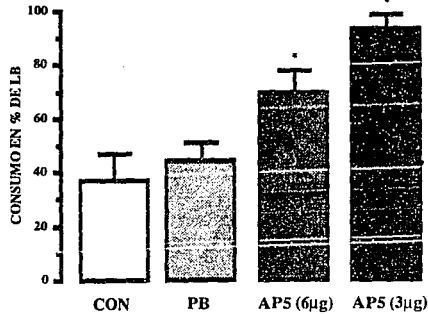


Fig.18. La gráfica muestra el porcentaje de consumo de sacarina con respecto a su línea base. Como puede observarse, los grupos con AP5 difieren significativamente de los grupos control y buffer. Los resultados se muestran en medias con errores estándar. * $p < 0.05$.

2.1.1 Dependencia del estado farmacológico.

En los experimentos conductuales en los cuales la función de una estructura se bloquea por medios farmacológicos, siempre existe la posibilidad de que los resultados obtenidos se deban a un efecto de dependencia del estado farmacológico. Para descartar esta posibilidad llevamos a cabo un experimento en el cual empleamos un grupo al que administramos AP5 ($3 \mu\text{g} / 1\mu\text{l}$) 20 min antes de la presentación de la sacarina (fase de adquisición) y en la fase de prueba volvimos a inyectar AP5 ($3 \mu\text{g} / 1\mu\text{l}$) 20 min antes de la presentación de la sacarina (grupo AP5 A-P). Este procedimiento se llevó a cabo con el objeto de que los animales estuvieran en el mismo estado farmacológico en que la tarea había sido aprendida. Se tuvo un segundo grupo al cual se le administró AP5 ($3 \mu\text{g} / 1\mu\text{l}$) sólo el día de la prueba (grupo AP5 P) 20 min antes de darle la sacarina; finalmente se contó con un grupo control intacto. En los grupos que recibieron AP5 se administró la dosis de ($3 \mu\text{g} / 1\mu\text{l}$) porque en el experimento anterior resultó ser la más efectiva.

Resultados :

En este experimento observamos que el grupo de AP5 inyectado antes de la adquisición y antes de la prueba ($15 \text{ ml} \pm 4$), difiere significativamente en su ingesta de sacarina ($F_{2,9} p \leq 0.0009$; Fisher y Sheffé $p < 0.05$) del grupo control ($3 \text{ ml} \pm 1$) y del grupo de AP5 ($4 \text{ ml} \pm 1$) inyectado únicamente antes de la prueba.

La figura 19 muestra el porcentaje de sacarina consumida con respecto a la ingesta basal de agua, en ella se observa que; el grupo AP5(A-P) ($n=4$) difiere significativamente ($F_{3,9} p \leq 0.0106$; Fisher y Sheffé $p < 0.05$) del grupo control ($n=4$) y del grupo de AP5 (P) ($n=4$) en el consumo de sacarina.

Es importante notar que el AP5 inyectado antes de la prueba, no tuvo ningún efecto sobre la evocación de la aversión condicionada.

**EFFECTOS DEL AP5 (3 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) EN LA CORTEZA INSULAR
SOBRE EL CONDICIONAMIENTO AVERSIVO A LOS SABORES
EVALUACION DE LA DEPENDENCIA DEL ESTADO
FARMACOLOGICO**

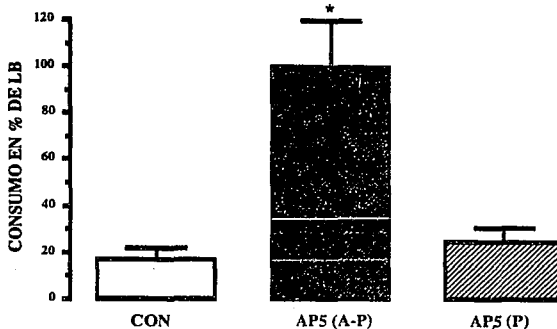


Fig.19. En la gráfica se muestra, la evaluación de la dependencia del estado. Como puede observarse, los animales probados en el mismo estado farmacológico en que adquirieron la tarea, no muestran aversión a la sacarina, en tanto que los animales del grupo control y los inyectados después de la consolidación (en la evocación), presentan aversión a la sacarina. Los datos se muestran en medias y errores estándar. * $p < 0.05$.

Laberinto de agua de Morris

Cuando se llevó a cabo el paradigma del laberinto de agua, la administración de fármacos se invirtió, poniendo buffer a los que habían recibido AP5, y AP5 a los que se les había dado buffer en el CAS.

Al igual que en el CAS, en la adquisición del laberinto de agua se evaluaron 4 grupos de animales: un grupo control intacto ($n=15$), uno al cual se le administró buffer (1 μl) ($n=22$), uno que recibió AP5 (3 $\mu\text{g}/1\mu\text{l}$) ($n=15$) y uno al cual se le administró AP5 (6 $\mu\text{g}/1\mu\text{l}$) ($n=6$).

Procedimiento:

Para estudiar los efectos del AP5 en la adquisición del laberinto de agua los fármacos se administraron 20 min antes del entrenamiento. Como en el estudio I, en este experimento los animales se sometieron a un entrenamiento que constó de 10 ensayos. En cada ensayo el animal tuvo que encontrar la plataforma ubicada en uno de los cuadrantes del laberinto, la duración máxima de cada ensayo fué de 45 seg. Se evaluaron las latencias de llegada a la plataforma.

Resultados del LAM:

En la figura 20 se muestra la adquisición del laberinto de agua. Las diferencias entre los grupos comenzaron a observarse desde el segundo ensayo (F 3,54 p =.0573), donde el grupo de AP5 3µg difiere del grupo control (Fisher p<0.05)

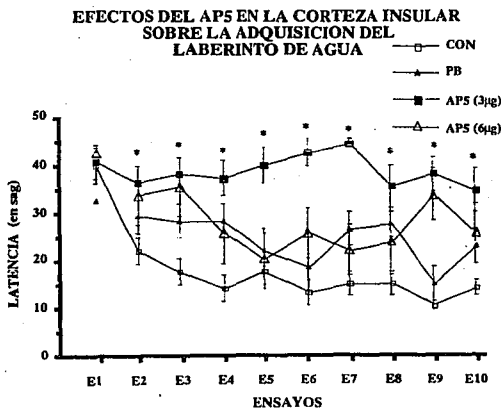


Fig.20. La gráfica muestra el efecto del AP5 a 3 y 6 µg/1µl sobre la adquisición de la tarea del laberinto de agua. Como se puede observar, el AP5 impide la adquisición de esta tarea. Los datos se muestran en medias y errores estándar. * p<0.05

Prueba del LAM:

En la fase de prueba del LAM además de contar con los grupos control (n=15) y los que recibieron AP5 (3 y 6 $\mu\text{g}/1\mu\text{l}$) antes de la adquisición de la tarea (n=8 y n=6 respectivamente), una parte de los animales de los grupos que recibieron buffer (PB) y AP5 (3 $\mu\text{g}/1\mu\text{l}$) fueron empleados para evaluar la dependencia del estado farmacológico en el LAM. En esta prueba como en el CAS se utilizó la dosis de AP5 (3 $\mu\text{g}/1\mu\text{l}$) para analizar la dependencia del estado farmacológico, por ser la más efectiva. De este modo se tuvieron los siguientes grupos: uno al cual se le administró PB antes de la adquisición del LAM y antes de su prueba (PB-PB, n=3), uno al que se le administró PB antes de la adquisición del LAM y AP5 antes de su prueba (PB-AP5, n=4), uno al que se le administró AP5 antes de la adquisición del LAM y PB antes de la prueba (AP5-PB, n=4) y finalmente uno al que se le administró AP5 antes de la adquisición del LAM y AP5 antes de la prueba (AP5-AP5, n=3).

Resultados de la prueba del LAM:

La prueba se realizó 24 hrs después de la adquisición, en ella se analizaron las latencias de llegada al lugar del blanco, así como el número de cruces que los animales realizaron sobre esta región del laberinto.

En la figura 21, se muestran las latencias de llegada al lugar donde se localizaba la plataforma durante la adquisición. Como puede observarse, se encontraron diferencias significativas entre los grupos en las latencias de llegada al blanco ($F_{3,40} p < 0.0001$), las pruebas de comparación múltiple muestran que el grupo de AP5 (3 $\mu\text{g}/1\mu\text{l}$) difiere del grupo control y del grupo PB (Fisher y Sheffe $p < 0.05$), y el grupo de AP5 (6 $\mu\text{g}/1\mu\text{l}$) difieren significativamente (Fisher y Sheffé $p < 0.05$) de los grupos CON y PB.

**EFFECTOS DEL APS EN LA CORTEZA INSULAR
DURANTE LA ADQUISICION DEL LABERINTO DE AGUA
LATENCIA DE LLEGADA AL BLANCO**

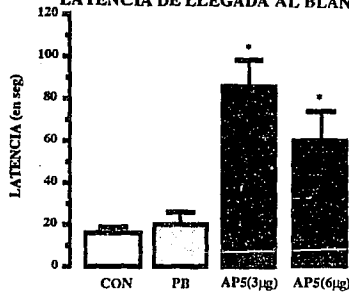


Fig. 21. La gráfica muestra los efectos del AP5 en las latencias de llegada al lugar del blanco evaluadas en la prueba de la tarca. Como puede observarse, los grupos con AP5, tardan significativamente más tiempo en acudir a la región del blanco, con respecto al grupo control y al buffer. Los resultados se muestran en medias con errores estandar. * $p < 0.05$.

La figura 22 muestra la evaluación de la dependencia farmacológica en el LAM. Como puede observarse, los grupos AP5-PB y AP5-AP5 difieren significativamente de los grupos CON y PB-PB ($F_{4,24} p < 0.0001$; Fisher $p < 0.05$). Con estos resultados se descarta que el efecto del AP5 durante la adquisición del LAM, se deba a un efecto dependiente del estado farmacológico. Es importante notar que el grupo PB-AP5 mostró diferencias significativas con respecto al grupo control (Fisher $p < 0.05$), pero no con el grupo PB-PB.

**EFFECTOS DEL AP5 EN LA CORTEZA INSULAR
LATENCIA DE LLEGADA AL BLANCO
EVALUACION DE LA DEPENDENCIA
DEL ESTADO FARMACOLOGICO**

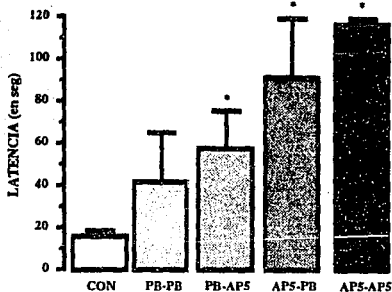


Fig.22. La gráfica muestra la evaluación de la dependencia del estado farmacológico en las latencias de llegada al cuadrante en donde se encontraba la plataforma, en los animales que recibieron AP-5 durante la adquisición del LAM. Como puede observarse los animales que recibieron AP5 en la adquisición y en la prueba tardan más tiempo en acudir al cuadrante en el cual se ubicaba el blanco. Los datos se muestran en medias y errores estándar. * $p < 0.05$.

Los animales que recibieron AP5 en la adquisición del LAM, durante la fase de prueba realizaron menor número de cruces ($F_{3,30} p < .001$; Fisher $p < 0.05$) sobre el cuadrante en donde se encontraba la plataforma en la adquisición en comparación con los grupos control y buffer (fig.23).

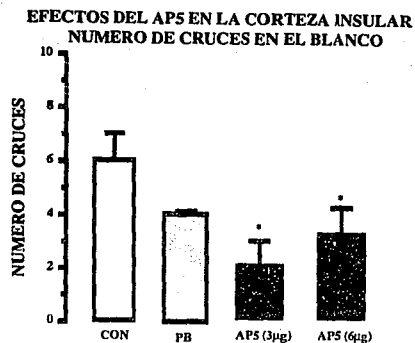


Fig.23. La gráfica ilustra el número de cruces que realizaron durante la prueba los animales de los diferentes grupos. Nótese cómo los animales que recibieron AP5 durante la adquisición, hicieron menor número de cruces sobre la región en donde se hallaba el blanco. Los datos se muestran en medias con errores estandar. * $p < 0.05$.

Al hacer la evaluación de la dependencia del estado farmacológico del AP5 sobre el LAM, pudimos observar que aquellos animales que recibieron AP5 antes de la adquisición (AP5-PB y AP5-AP5), no importando si recibieron buffer o AP5 antes de la prueba, redujeron el número de cruces realizados sobre el lugar del blanco ($F_{4,34} p < 0.0013$; Fisher $p < 0.05$) el día de la prueba. Así las alteraciones observadas en el aprendizaje del LAM, se debieron a los efectos del bloqueo glutamatergico y no a un efecto de dependencia del estado farmacológico (fig.24).

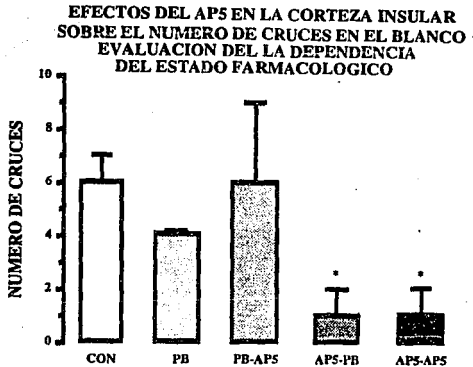


Fig. 24. En la figura se presenta el número de cruces que realizaron durante la prueba, los diferentes grupos de animales. Se observa que en los grupos de animales a los cuales se administró AP5 antes de la adquisición, realizan menor número de cruces sobre la región del blanco el día de prueba. Los datos se muestran en medias y errores estándar. * $p < 0.05$.

Conclusión del experimento 2.1:

Como puede observarse, en este experimento se encontró que el bloqueo de los receptores al glutamato tipo NMDA produce impedimentos en la adquisición de dos tipos de condicionamientos aversivos. Estos impedimentos no son debidos a una dependencia del estado farmacológico.

Los resultados se discutirán más adelante, en la discusión de todos los datos del estudio II.

En las figuras 25 y 26 se muestra el lugar en donde se encontraron las puntas de las cánulas en la CI de las ratas empleadas para estos experimentos.

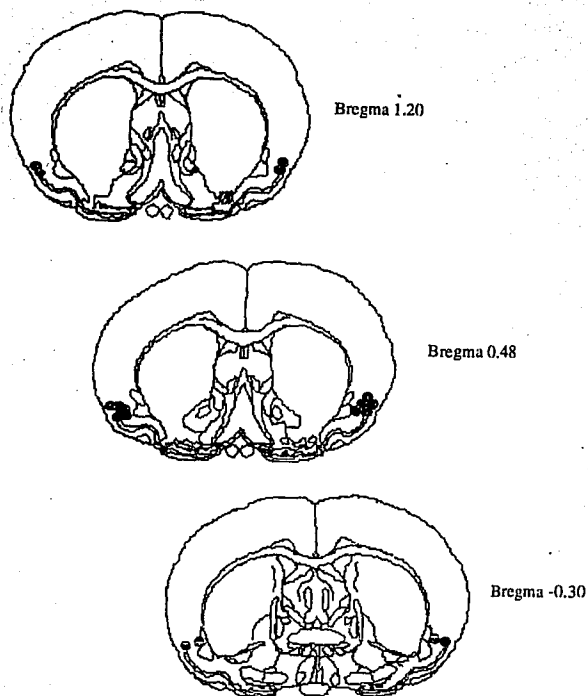


Fig.25. En la figura se muestra en cortes coronales, el lugar aproximado en donde quedaron las cánulas del grupo con AP5 ($3\mu\text{g}/\mu\text{l}$).

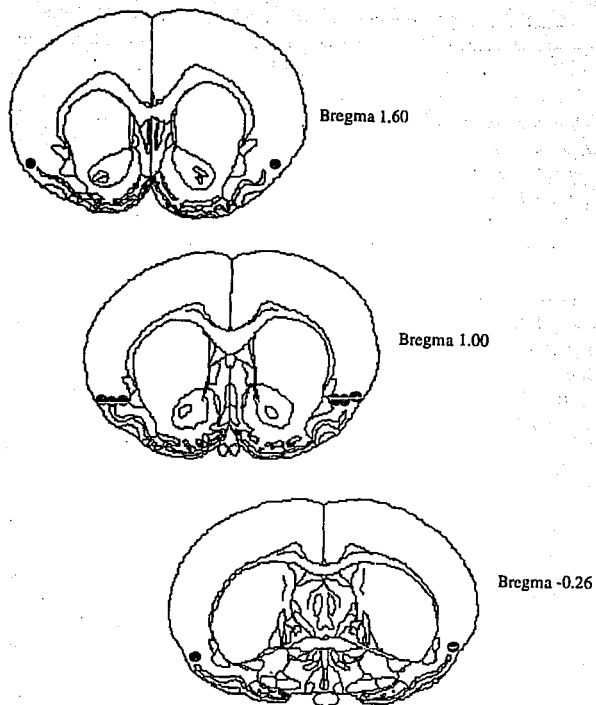


Fig.26. La figura muestra en cortes coronales, el lugar aproximado en donde se localizaron las puntas de las cánulas del grupo de AP5 ($6\mu\text{g}/\mu\text{l}$).

2.2 Efecto del AP5 en la consolidación del aprendizaje delcondicionamiento aversivo a los sabores y del laberinto de agua de Morris.

El objetivo de este experimento fué estudiar la participación del sistema glutamatérgico mediado por sus receptores tipo NMDA de la corteza insular, en la consolidación del condicionamiento aversivo a los sabores y del laberinto de agua. Como en los experimentos 2.1 y 2.1.1, se empleó el AP5 ($3\mu\text{g}/1\mu\text{l}$), antagonista competitivo de los receptores NMDA.

Procedimiento:

Para llevar a cabo este objetivo, se emplearon ratas intactas como controles y canuladas en la CI como animales experimentales (ver metodología). Los animales canulados se dividieron en los siguientes grupos; 1) uno al cual se le administró AP5 a los 30 min pos-adquisición ($n=8$), 2) uno al cual se le administró AP5 120 min pos-adquisición ($n=7$), 3) uno que recibió buffer .001M (PB) pos-adquisición a los 30 min ($n=6$) y finalmente se contó con un grupo control intacto ($n=13$). Los animales que en el CAS recibieron AP5, en el LAM se les administró buffer y viceversa.

Condicionamiento Aversivo a los Sabores

La fase de adquisición consistió en la presentación de agua con sacarina durante 10 min, pasados 20 min se administró la inyección i.p. de LiCl. Después de 30 min o 120 min de la inyección del irritante gástrico los animales canulados recibieron AP5 o PB en la corteza insular. Las manipulaciones realizadas en la consolidación del CAS, se evaluaron en la fase de prueba del CAS.

Resultados CAS:

En la adquisición del CAS no se observaron diferencias en el consumo de agua entre los grupos. Los efectos del AP5 en la consolidación del CAS se midieron durante el día de prueba; el análisis de varianza del consumo de sacarina durante esta fase mostró diferencias significativas entre los grupos ($F_{3,30} p \leq 0.0001$); las comparaciones múltiples mostraron que el AP5 inyectado a los 30 min, así como a los 120 min pos-adquisición mostró diferencias significativas con respecto a los otros grupos: AP5 30' (10 ± 3) vs CON (5 ± 2), AP5 30' vs AP5-

120' (15 ± 4), PB (7 ± 2) vs AP5-120', CON vs AP5-120' (Fisher y Sheffé $p \leq 0.05$).

En el análisis del porcentaje del consumo de sacarina con respecto al consumo basal de agua, también se encontraron diferencias significativas entre los grupos ($F_{3,30} p \leq 0.0001$), con el análisis a posteriori de comparación múltiple, se observó que el grupo de AP5 30 min y el AP5 120 min difieren significativamente del grupo control (Fisher y Sheffé $p < 0.05$), el AP5 120 min difiere además del grupo de PB y del grupo de AP5 30 min (Fisher y Sheffé $p < 0.05$). Los resultados del CAS se muestran en la figura 27.

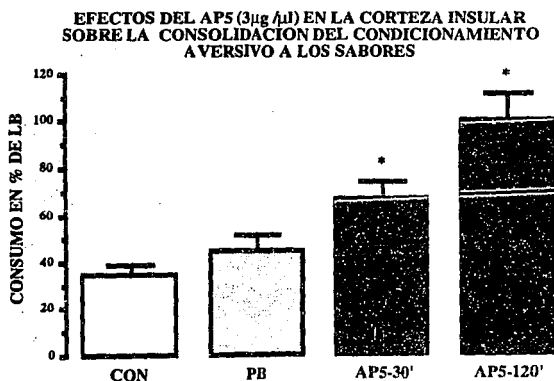


Fig.27. La figura muestra el efecto del bloqueo glutamatérgico durante la consolidación del CAS. Como se puede observar los grupos con AP5 a los 30' y a los 120' no muestran aversión a la sacarina comparados con el grupo control. El mayor bloqueo de la consolidación se obtuvo con la administración de AP5 a los 120'. Los resultados se muestran en medias con errores estándar. * $p < 0.05$

Laberinto de agua de Morris:

Al igual que en los experimentos previos, para evaluar los efectos del AP5 en la consolidación del aprendizaje del laberinto de agua, los animales fueron sometidos a un entrenamiento de 10 ensayos para aprender a localizar la plataforma. Terminada la fase de entrenamiento o adquisición, el AP5 ($3\mu\text{g}/1\mu\text{l}$) o el buffer se administró a los 30' y 120' pos-adquisición. Para llevar a cabo este experimento, se contó con los siguientes grupos: 1) uno al cual se le administró AP5 a los 30 min pos-adquisición ($n=6$); 2) uno al cual se le administró AP5 120 min pos-adquisición ($n=6$); 3) uno que recibió buffer .001M (PB) pos-adquisición a los 30 min ($n=4$), 3) uno que recibió buffer .001M (PB) pos-adquisición a los 120 min ($n=4$) y el grupo control intacto ($n=13$).

Resultados LAM

Para graficar la adquisición del LAM en este experimento, los animales se agruparon de acuerdo al tratamiento que recibieron después del entrenamiento. Esto se hizo con el objeto de mostrar como fué la adquisición de cada uno de los grupos antes de manipular su consolidación.

Como se observa en la figura 28, durante la fase de entrenamiento del laberinto de agua, los tres grupos de animales aprendieron a localizar la plataforma sin diferencias significativas en la mayoría de los ensayos.

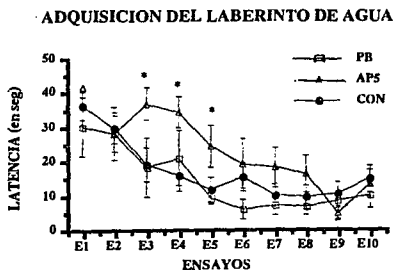


Fig.28. La gráfica muestra la adquisición del LAM antes de administrar AP5. Como puede observarse, todos los grupos adquirieron la tarea. Los datos se presentan en medias y errores estándar. * $p < 0.05$.

Prueba del LAM

Los efectos de la manipulación glutamatergica en la consolidación del LAM, se evaluaron en la fase de prueba de la tarea, ésta se llevó a cabo 24h después de la adquisición. En la prueba no se encontraron diferencias significativas en el análisis de las latencias de llegada, ni en el número de cruces realizados por los grupos sobre la región del blanco (fig.29 y 30 respectivamente).

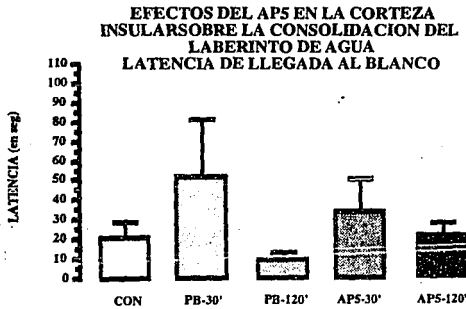


Fig. 29. La gráfica muestra las latencias de llegada al lugar del blanco el día de la prueba. Como se puede observar no se encontraron diferencias entre los grupos en sus latencias en acudir a la región en donde se ubicaba la plataforma. Los resultados se expresan en medias y errores estándar.

**EFFECTOS DEL AP5 EN LA CORTEZA INSULAR
DURANTE LA CONSOLIDACION DEL LABERINTO DE AGUA
CRUCES SOBRE EN BLANCO**

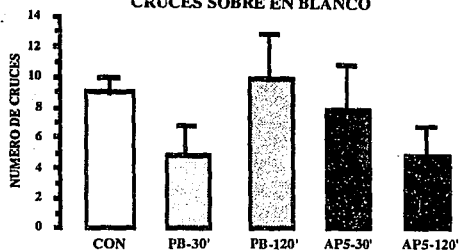


Fig.30. La figura muestra el número de cruces realizados sobre la región del blanco. Como puede observarse, no existen diferencias significativas entre los grupos en el número de cruces que realizaron sobre el lugar del blanco. Los resultados se muestran en media y errores estándar

Los resultados del experimento 2.2, muestran que el AP5 impide la consolidación del CAS cuando es administrado a los 30 min y 120 min, sin afectar la consolidación del LAM. A continuación se discuten los hallazgos obtenidos en el estudio II.

La figura 31 muestra la reconstrucción del lugar aproximado en donde quedaron las puntas de las cánulas en este experimento.

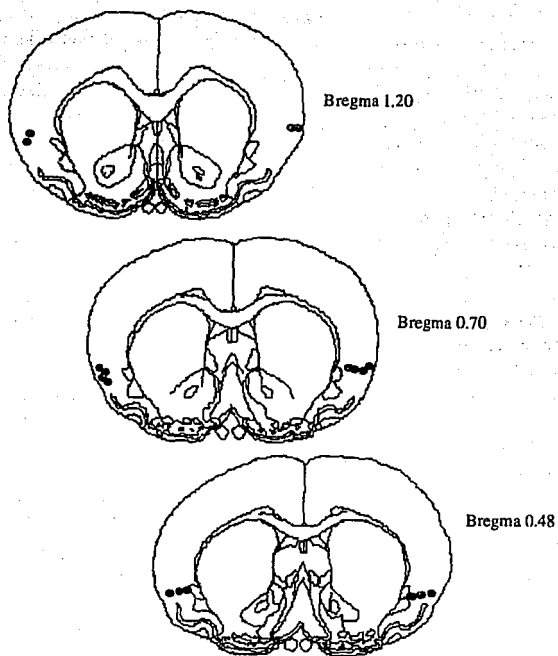


Fig.31. La figura muestra en cortes coronales, la reconstrucción histológica del lugar aproximado en donde quedaron las puntas de las cánulas en el experimento 2.2.

Discusión estudio II.

Efectos del bloqueo glutamatérgico en la corteza insular

En este estudio se intentó dilucidar si el bloqueo de los receptores glutamatérgicos tipo NMDA, con el ácido DL-2-amino-5-fosfonopentanóico (AP5) en la corteza insular, impedía la adquisición y la consolidación del condicionamiento aversivo a los sabores y del laberinto de agua. Nuestros resultados mostraron que el AP5 administrado 20 min antes de la adquisición bloqueó el aprendizaje del CAS y el LAM. En tanto que la administración del AP5 30 min y 120 min pos-adquisición, sólo bloqueó la consolidación del CAS sin afectar el LAM.

Bloqueo de la adquisición por el AP5

Una gran cantidad de estudios sugieren que los receptores glutamatérgicos tipo NMDA están involucrados en el aprendizaje de diversos paradigmas conductuales (Parada-Turska y Turski, 1990; Morris y Butcher, 1991; Davis et al., 1992; Bolhuis y Reid, 1992; Wilner et al., 1993; Bliss y Collingridge, 1993; Ogura y Aigner, 1993).

Aunque en experimentos previos se había demostrado que la corteza insular participaba en la adquisición del CAS, se desconocía qué mecanismos neuroquímicos subyacían a su papel en el CAS. Con estos experimentos demostramos que la actividad glutamatérgica mediada por los receptores NMDA participa en la integración de la información gustativa en la corteza.

El AP5 no sólo bloquea la adquisición del CAS, sino que impide la adquisición de otros condicionamientos aversivos como la respuesta de miedo (Davis et al., 1994; Fenslow; Misserendino et al., 1990; Lavon et al., 1993) y la aversión al olor potenciada por el gusto (Willner et al., 1992)

En este estudio la administración de AP5 en la corteza insular, también impidió la adquisición del LAM; Bermúdez-Rattoni y McGaugh (1991), habían demostrado que el bloqueo de los canales de sodio en la CI impedía la adquisición del laberinto de agua, pero no se sabía con exactitud que sistemas de neurotransmisión se estaban afectando. Con los resultados obtenidos en este segundo estudio encontramos que el sistema glutamatérgico es uno de los mecanismos involucrados. En otras estructuras como el hipocampo (Morris y Butcher 1990; Davis et al., 1992), se ha demostrado que la actividad glutamatérgica es importante para la adquisición de tareas espaciales como la del laberinto de agua. Esto indica que los mecanismos que subyacen al aprendizaje de

una tarea, en este caso el laberinto de agua, pueden encontrarse en diferentes estructuras cerebrales que participan en la adquisición de la misma.

El AP5 en la consolidación

Si bien el AP5 impide la adquisición de algunos aprendizajes, son raros los reportes en donde el AP5 afecte su expresión una vez que estos se han consolidado (Bolhuis y Reid 1992). Al parecer se requiere que la administración se realice inmediatamente después del entrenamiento (Ferreira et al., 1992; ver Davis et al., 1994). Ungerer y cols. (1991), han mostrado que la administración de otros antagonistas competitivos del receptor NMDA como el CPP y el γ -LGLA impiden la consolidación del aprendizaje de la tarea de evitación en un laberinto en Y.

En este proyecto se pudo impedir la consolidación del CAS administrando AP5 30 y 120 min pos-adquisición. Lo cual sugiere que mecanismos glutamatérgicos participan en la consolidación de la información gustativa y que esta consolidación tarda mucho mayor tiempo que la encontrada en otros paradigmas de aprendizaje y memoria (ver discusión general).

La administración de AP5 pos-adquisición no tuvo efectos en la consolidación de la tarea de laberinto de agua; estos resultados concuerdan con datos provenientes de experimentos realizados en otras estructuras cerebrales, en donde el bloqueo de los receptores NMDA no parecen afectar la consolidación de la tarea, si esta ha sido previamente aprendida (Morris y Butcher, 1990; Shapiro y O'Connor, 1992). En el laberinto de agua puede ser necesario administrar los antagonistas de los receptores NMDA en el periodo interensayo para bloquear la consolidación, ya que por las características de la tarea, es posible que su aprendizaje se vaya consolidando en cada ensayo.

El asesinato de Allende en Chile eclipsó rápidamente el recuerdo de la invasión de Bohemia por los rusos, la sangrienta masacre de Bangladesh hizo olvidar a Allende, el estruendo de la guerra del desierto de Sinaí ocultó el llanto de Bangladesh, la masacre de Camboya hizo olvidar al Sinaí, etcétera, etcétera, etcétera, hasta el más completo olvido de todos por todos.

"El libro de la risa y el olvido"
Milán Kundera.

VII DISCUSION GENERAL

Experimentos previos han sugerido que la corteza insular participa en el condicionamiento aversivo a los sabores (Bermúdez-Rattoni, 1986; Chalmers, 1990). La lesión de la CI impide la adquisición del CAS, no obstante, con injertos de tejido fetal homólogo a la CI se reestablece la capacidad de aprender el CAS. Pruebas bioquímicas realizadas en la corteza insular y en transplantes de esta región cortical, han mostrado que la actividad colinérgica participa en las funciones de la CI intacta mientras que en los transplantes, la actividad colinérgica se restablece en paralelo con el desarrollo anatómico de los injertos y de la conducta. Además de la actividad del sistema colinérgico en la CI, se ha reportado la presencia de otros sistemas de neurotransmisión tal es el caso del sistema glutamatérgico.

En el presente proyecto se analizó la participación de la actividad colinérgica en la adquisición y la consolidación del condicionamiento aversivo a los sabores y del laberinto de agua de Morris, se antagonizó la actividad colinérgica de tejido transplantado, para saber si la presencia de la actividad colinérgica en esta región era necesaria para el restablecimiento de funciones mediada por el trasplante. En la segunda parte de este proyecto, se estudió la participación del sistema glutamatérgico en la adquisición y consolidación de los condicionamientos arriba mencionados.

La corteza insular como una región que regula mecanismos que subyacen al condicionamiento aversivo a los sabores y al laberinto de agua.

El bloqueo colinérgico o glutamatérgico de la CI durante la adquisición impide el aprendizaje de tareas conductuales, este fenómeno se ha observado en otras estructuras comprometidas en algún tipo de aprendizaje y memoria. En nuestros experimentos tuvimos 2 resultados importantes:

- 1) La administración de escopolamina no sólo parece bloquear el aprendizaje del CAS sino también el del LAM. Este último paradigma de aprendizaje permite la evaluación de la memoria de referencia. La participación de la CI en esta tarea puede deberse a las conexiones que mantiene con la amígdala, corteza frontal, corteza entorrinal, e hipocampo.

2) La administración de AP5 a 30' y 120' postadquisición, impidió el proceso de consolidación del CAS, este efecto fué mayor a los 120' posadquisición. Este efecto no se observó en el LAM. Sin embargo el LAM si puede ser bloqueado suprimiendo los canales de sodio con TTX postentrenamiento, pero no el CAS (Bermúdez-Rattoni et al., 1991b). Este efecto se debe a que la TTX afecta cualquier sistema de neurotransmisión dependiente del impulso nervioso. Las diferencias encontradas entre la administración de TTX y AP5 posadquisición pueden ser explicadas de la siguiente manera:

a) Se sabe que a -80mV , la TTX no afecta el receptor NMDA, a este potencial de membrana el receptor tipo NMDA se encuentra bloqueado por un ion magnesio. Para funcionar, estos receptores deben ser depolarizados, una vez que esto ocurre el Mg que obstruía el canal es removido, dejando pasar iones de sodio y también de calcio. Para activar los receptores NMDA, primero se activan los otros subtipos de receptores glutamatérgicos, se depolariza la membrana se remueve el Mg y se activan los NMDA. Una vez depolarizada la membrana, se pueden producir espigas de NMDA aún en presencia de TTX, estas sólo se bloquean por quelantes de calcio como el verapamil (ver Stone y Burton 1987), cabe decir que la membrana puede ser depolarizada por la activación de receptores no glutamatérgicos. Esta puede ser la causa por la cual la TTX no produjo ningún efecto en el CAS, cuando se administró después de la adquisición, porque el receptor NMDA puede seguir funcionando en su presencia. Así el bloqueo farmacológico de la CI puede impedir la consolidación del CAS, siempre y cuando se hallan bloqueado los receptores tipo NMDA (v.g. con un antagonista como el AP5).

b) La asociación de la información visceral con la gustativa, no es inmediata (segunda razón por la cual la TTX es incapaz de afectar el CAS), se requiere de un periodo largo para que el mecanismo de retroalimentación sea integrado en la corteza. De este retardo se desprende quizá, la explicación de porqué se obtuvo mayor efecto cuando se bloqueó la consolidación a los 120'.

García y Holder (1985), comentan que, el CAS está sujeto a un mecanismo de retroalimentación biológica que tarda mucho más tiempo en consolidarse. Una vez que se administra el irritante gástrico, esta información tarda en ser integrada debido a que el organismo tiene que metabolizar primero los alimentos y luego entonces la información de si lo ingerido fué nutritivo o no llega al sistema nervioso, Chambers comenta que la información del estímulo incondicionado (malestar gástrico) puede accederse más rápido a la corteza a través del área

postrema, sin embargo, para que este sea integrado como aversivo requiere de mayor tiempo. En el caso del LAM, los animales van consolidando la tarea en cada ensayo, por lo que el bloqueo de este paradigma después del periodo de adquisición, puede ya no ser afectado. Ferreira y cols. (1992) han demostrado que la administración de AP5 en la corteza entorrinal dentro de los 90 ó 180 min. después del entrenamiento bloquea la consolidación de un paradigma de evitación pasiva. Sin embargo, la prevención pasiva en su forma clásica consta de un sólo ensayo, es decir no hay oportunidad para que en cada ensayo la tarea se consolide. Los condicionamientos evaluados a pesar de ser afectados por lesiones en la CI, no comparten los mismos circuitos, así mismo los atributos de los estímulos condicionados difieren. El CAS es un condicionamiento interoceptivo en el cual, la irritación producida por el cloruro de litio tiene un efecto que dura más tiempo en ser procesado. De modo que, al administrar AP5 a los 30 y 120 minutos post-entrenamiento se pudo impedir la asociación entre el estímulo novedoso o condicionado (sabor) y el estímulo incondicionado (irritación por el LiCl).

3) Aunado a la activación dependiente de voltaje y al retardo en la asociación visceral y gustativa, se encuentra la especificidad de las estructuras involucradas en el CAS y el LAM. En el CAS además de la participación de la CI, algunos grupos de investigación afirman que el núcleo parabraquial del puente (Spector et al., 1992) y la amígdala (Gallo et al., 1992; Yamamoto, 1993; Yamamoto et al., 1994) participan de manera importante en la adquisición y consolidación del CAS, es decir existe un circuito anatómico involucrado en este condicionamiento. En el LAM otras estructuras pueden ser más importantes en la consolidación de la tarea.

¿Cuáles son las características que comparten el CAS y el LAM para que su aprendizaje pueda ser impedido con lesiones de la CI?

El CAS es un paradigma de condicionamiento aversivo y el LAM es un paradigma conductual en el cual el animal tiene que escapar de una situación aversiva. En el primero se adquiere una respuesta interoceptiva y en el segundo se entrena en una tarea de memoria espacial con características exteroceptivas. Se desconoce cuantas estructuras participan en ambos condicionamientos, históricamente se ha relacionado al CAS con las corteza insular y al LAM con la función hipocampal; pero las características de ambas tareas permiten considerarlas paradigmas de condicionamiento aversivo.

El sistema límbico regula algunos aspectos emocionales y motivacionales de la conducta (Franck et al., 1989). De las estructuras límbicas se ha demostrado que la amígdala participa en la integración de la información con un contenido hedónico (Gaffan, 1992; Lavon et al., 1993; Davis, 1994). La amígdala mantiene conexiones con la CI (Yamamoto et al., 1984) y con el hipocampo (Davis, 1994). Mientras la amígdala y a la CI participan en la integración de la información aversiva, al hipocampo se le ha relacionado con la codificación de algunos aspectos cognitivos (Eichenbaum, 1992; Olton y Shapiro, 1992). Así, el bloqueo de la amígdala, de la CI, o del hipocampo tiene efectos diferentes sobre los condicionamientos aversivos, por ejemplo, si se bloquea el hipocampo se altera el aprendizaje del laberinto de agua (Morris et al., 1982) pero no del CAS (Bermúdez-Rattoni et al., 1987), si se bloquea la amígdala no se afecta la adquisición del laberinto de agua, pero si se afecta la prevención pasiva y el condicionamiento de miedo (Misserendino et al., 1990), sobre el CAS los resultados de la lesión amigdalina son contradictorios; algunos estudios no han encontrado alteraciones sobre la adquisición de este paradigma (Bermúdez y McGaugh, 1991), mientras que otros si encuentran alteraciones en la adquisición y la consolidación del CAS (Yamamoto et al., 1994 Gallo et al., 1992).

Se sabe que en estos condicionamientos existe un componente visceral y límbico importante. Dado que a la CI llegan aferentes límbicas (Yamamoto et al., 1984, Bernard et al., 1993) y autónomas (Oppenheimer y Cechetto, 1990; Yasui et al., 1991) es probable que en esta región se integre la información aversiva y mediante sus conexiones con otras estructuras como la amígdala y el hipocampo se regulen aspectos motivacionales y cognitivos de la conducta (Franck et al., 1989; Ledoux, 1992; Gallagher y Holland, 1992; Kesner, 1992; Davis et al., 1994).

Participación colinérgica y glutamatérgica en las funciones de la corteza insular

En otras estructuras corticales se ha mostrado que el sistema colinérgico parece promover el aprendizaje modulando la excitabilidad cortical (Hasselmo y Bower, 1993). En tanto que la actividad del sistema glutamatérgico puede explicar los cambios plásticos que se producen como resultado del aprendizaje.

Con nuestros experimentos encontramos que ambos sistemas participan en las funciones mnémicas de la CI. El sistema colinérgico de la base del cerebro anterior parece modular la actividad de la neocorteza (Dunnet, 1991). Mientras

que el sistema glutamatérgico parece ser el responsable de la activación de circuitos neuronales por periodos prolongados (Bliss y Collingridge, 1993). Se ha sugerido que el sistema colinérgico podría participar en la iniciación de la PLP, pues la estimulación de sus receptores muscarínicos facilita corrientes producidas por el NMDA (Krnjevic, 1993).

La acetilcolina presente en la CI proviene principalmente del NBM y las fibras glutamatérgicas probablemente provengan de la amígdala (Davis et al., 1994), de tálamo (Behbehani et al., 1993) y de conexiones corticocorticales, por lo que más estudios se deben llevar a cabo para saber si existe una interacción entre los efectos de estos sistemas de transmisión en la CI, si el sistema colinérgico modula la actividad del sistema glutamatérgico, o si los efectos de estos sistemas en la CI son independientes.

Mecanismos moleculares que subyacen al CAS y al LAM.

El aprendizaje y la memoria provocan cambios conductuales y una reorganización a nivel celular y molecular (Kaczmarek, 1993a).

Se conocen pocos estudios en los que en un paradigma conductual se hayan dilucidado los cambios que se producen a nivel molecular. En el CAS se sabe que, después de su adquisición, se hechan andar mecanismos de segundos mensajeros (Yamamoto et al., 1992) que originan síntesis de proteínas. Rosenblum y cols. (1993) han mostrado que la administración de anisomicina, un bloqueador de la síntesis de proteínas, antes de la adquisición y después de la adquisición impide el establecimiento del CAS.

En el laberinto de agua se han descrito eventos moleculares semejantes a los que subyacen a la PLP. Silva y cols. (1992 a y b), demostraron que ratones carentes de la proteína calmodulina quinasa II (CaM-Kinasa II), no pueden aprender a localizar la plataforma del laberinto de agua, y tampoco se puede producir PLP en ellos. Se sabe que el glutamato puede activar a la PKC y a la CaM-Kinasa II en procesos de plasticidad sináptica, y este puede ser uno de los mecanismos que subyacen a la adquisición de tareas como el LAM (Soderling, 1993).

El glutamato al unirse a los receptores AMPA activa una proteína G que a su vez activa a la PLC la cual produce diacilglicerol IP₃. El diacilglicerol activa a la PKC, mientras el IP₃ libera calcio de pozas intracelulares (Pontzer et al., 1990). La activación de los receptores M₁ por la acetilcolina o por sus agonistas

activan la PLC. De esta manera el sistema colinérgico podría converger junto con el sistema glutamatérgico activando mensajeros intracelulares como la PLC, para dar una respuesta celular global.

CONCLUSIONES

En la serie de experimentos llevados a cabo en este proyecto de maestría se concluye:

1) Que el sistema colinérgico participa en la adquisición del condicionamiento aversivo a los sabores y del laberinto de agua de Morris, sin afectar su consolidación.

2) Los hallazgos obtenidos en la corteza insular intacta se hacen extensivos a los resultados obtenidos del bloqueo colinérgico de transplantes de la corteza insular.

3) El sistema glutamatérgico también participa en la adquisición del CAS y del LAM, no afectando la consolidación del LAM, pero si del CAS.

Otro tipo de experimentos deberán llevarse a cabo para discernir cuales son las características comunes entre el CAS y el LAM.

Los resultados encontrados en esta serie de estudios demuestran que en la CI al igual que en otras estructuras mnémicas la inervación colinérgica al igual que la glutamatérgica juegan un papel importante en los procesos de aprendizaje y memoria. Sin embargo aún desconocemos si este papel es el primordial. La acetilcolina puede participar como activador del sistema de memoria o bien como un modulador inicial que activa a otros mecanismos moleculares. Por su parte, el sistema glutamatérgico podría estar más involucrado en los cambios plásticos que resultan de la experiencia.

Se desconoce si los estos eventos moleculares descritos en la activación colinérgica y glutamatérgica están presentes en la adquisición, consolidación y evocación de la información en general. Se deben realizar más experimentos para dilucidar el papel de la corteza insular en las funciones mnémicas, el papel que juegan el sistema colinérgico y glutamatérgico en dichas funciones, así como discernir qué eventos moleculares subyacen a estos paradigmas en la CI.

REFERENCIAS:

- Advokat, C., Pellegrin, A.I. 1992. Excitatory amino acids and memory: Evidence from research on Alzheimer's disease and behavioral pharmacology. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 16: 13-24.
- Alkon, D.L. 1987. Molecular regulation of membrane channels during learning. En: *Memory traces in the brain*. Cambridge University Press. pp: 104-118.
- Anwil, R. 1991. The role of the metabotropic receptor in synaptic plasticity. *TIPS* 12: 324-326.
- Barnes, J.M., Henley, J.M. 1992. Molecular characteristics of excitatory amino acid receptors. *Prog. Neurobiol.*, 39: 113-133.
- Bartus, R.T., Flicker, C., Dean, R.L., Fisher S., Pontecorvo M., Figueiredo J. 1986. Behavioral and biochemical effects of nucleus basal magnocellularis lesions: implications and possible relevance to understanding or treating Alzheimer's disease. *Prog. Brain Res.*, 70: 345-361.
- Bashir, Z.I., Collingridge, G.I. 1992. Synaptic plasticity: long-term potentiation in the hippocampus. *Current Op. Neurobiol.*, 2: 328-335.
- Behbehani, M.M., Jiang, M., Enni, M., Shipley, T. 1993. Physiological influence of lateral prefrontal cortex on the midbrain periaqueductal gray: Evidence for a role of an excitatory amino acid in synaptic activation. *Neurosci.*, 53: 787-795.
- Benveniste, M.J., Spaulding, T.C. 1988. Amnesic effects of the novel anticonvulsant MK 801. *Pharmac. Biochem & Behav.* 30: 2455-2465.
- Berendse, H.W., Groenewegen, H.J. 1991. Restricted cortical termination fields of the midline and intralaminar thalamic nuclei in the rat. *Neurosci.*, 42: 73-102.
- Bermúdez-Rattoni, F. 1986. La integración neural de los hábitos alimenticios. *Bol. Estudios. Med. Biol.*, 34: 43-50.
- Bermúdez-Rattoni, F., Mújica-González, Prado-Alcalá, R.A. 1985. Is cholinergic activity of the striatum involved in the acquisition of positively-motivated behaviors? *Pharmac. Biochem. & Behav.* 24: 715-719.
- Bermúdez-Rattoni, F., McGaugh, J.L. 1991. Insular cortex and amygdala lesions differentially affect acquisition in inhibitory avoidance and conditioned taste aversion. *Brain Res.*, 549: 165-170.

Referencias

-Bermúdez-Rattoni, F., Introini-Collison, I.B., McGaugh, J.L. 1991. Reversible inactivation of the insular cortex by tetrodotoxin produces retrograde and anterograde amnesia for inhibitory avoidance and spatial learning. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 88: 5379-5382.

-Bermúdez-Rattoni, F., Escobar, M.L., Piña, A.L., Tapia, R., López-García, J.C., Hiriart, M. 1992. Effects of nerve growth factor on the recovery of conditioned taste aversion in the insular cortex lesioned rats. En: *Chemical Signals in Vertebrate VI*. Doty, R.L. and Muller-Schwanz, D. Eds. Plenum Publishing Corporation, pp. 297-303.

-Bermúdez-Rattoni, F., Ormsby, C., Escobar, M.L., Hernández E. 1994. The role of insular cortex in the acquisition and long lasting memory for aversively motivated behavior. *En Plasticity in CNS: Learning and Memory*. McGaugh J., Bermúdez-Rattoni F., Prado-Alcalá, R. Eds. *en prensa*.

-Bernard, J.F., Alsen, M., Besson, J.B. 1993. The organization of the efferent projections from the pontine parabrachial area to the amygdaloid complex: A phaseolus vulgaris Leucoagglutinin (PHA-L) study in rat. *J. Comp. Neurol.*, 329:201-229.

-Birdsall, N.J.M., Burgen, A.S. V., Hulme, E. 1978. The binding of agonists to brain muscarinic receptor. *Mol. Pharmacol.*, 14: 723-736.

-Bjorklund, A., Stenevi, U. 1984. Intracerebral neural implants: neuronal replacement and reconstruction of damaged circuitries. *Ann. Rev. Neurosci.* 7: 279-308.

-Bjorklund, A., Lindvall, O., Isacson, O., Brundin, P., Wictorin, K., Strecker, R.E., Clarke, D., Dunnet, S.B. 1987. Mechanisms of action of intracerebral neural implants: studies on nigral and striatal grafts to the lesioned striatum. *TINS.*, 10: 509-516.

-Bliss, T.V. 1979. Synaptic plasticity in the hippocampus. *TINS* 2: 42-45.

-Bliss, T.V.P., Lomo, T. 1973. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J. Physiol.*, 232: 331-356.

-Bliss, T.V.P., Collingridge, G.L. 1993. A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* 361: 31-39.

-Bolhuis, J.J., Reid, I.C. 1992. Effects of intraventricular infusion of the N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor antagonist AP5 on spatial memory of rats in a radial arm maze. *Behav. Brain Res.*, 47: 151-157.

- Bourne, H.R., Nicoll, R. 1993. Molecular machines integrate coincident synaptic signals. *Cell 72/Neuron 10 (suppl.)*: 65-75.
- Brandeis, R., Brandys, Y., Yehuda, S. 1989. The use of the Morris water maze in the study of memory and learning. *Inter. J. Neurosci.*, 48: 29-69.
- Braun, J.J. 1990. Gustatory Cortex: Definition and function. En: *The cortex of the rat*. B. Kolb & R.C. Tees Eds. Cambridge, M.A. MIT Press. pp 407-430.
- Braun, J.J., Lasiter, P.S., Kiefer, S.W. 1982. The gustatory neocortex of the rat. *Physiol. Psychol.*, 10: 13-45.
- Buhl, H.E., Schwerdtfeger, K.W., Germroth, P. 1989. New anatomical approaches to reveal afferent and efferent hippocampal circuitry. En: *The hippocampus. New vistas*. Alan R Liss, Inc. Eds. pp. 71-83.
- Christensen, H., Maltby, N., Jorm, A.F., Creasey, H. 1992. Cholinergic "blockade" as a model of the cognitive deficits in Alzheimer's disease. *Brain*, 115:1681-1699.
- Chambers, C.K. 1990. A neural model for conditioned taste aversions. *Annu. Rev. Neurosci.*, 13: 373-385.
- Chelmers, D.T., Dewar, D., Ghaham, D.I., Brooks, D.N., McCulloch, J. 1990. Differential alterations of cortical binding sites in senile dementia of the Alzheimer type. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 87: 1352-1356.
- Cotman, C.W., Monaghan, D.T., Ganong A.H. 1988. Excitatory amino acid neurotransmission: NMDA receptors and Hebb-type synaptic plasticity. *Ann. Rev. Neurosci.*, 11: 61-80.
- Davis, M., Rainnie, D., Cassel, M. 1994. Neurotransmission in the rat amygdala related to fear and anxiety. *TINS* 17: 208-214.
- Davis, S., Butcher, S.P., Morris, R.G.M. 1992. The NMDA receptor antagonist D-2-amino-5-phosphonopentanoate (D-AP5) impairs spatial learning and LTP *in vivo* at intracerebral concentrations comparable to those that block LTP *in vitro*. *J. Neurosci.*, 12 (1): 21-34.
- Dudai, Y. 1989. A cellular mnemonic device in the mammalian brain: long-term potentiation. En: *The neurobiology of memory, concepts, findings, trends*. Yadin Dudai Eds. N.Y. Oxford University pp.88-105
- Dudai, Y. 1992. Why "Learning" and "Memory" should be redefined (or, an agenda for focused reductionism). *Conc., Neurosci.*, 1: 99-121.
- Dunnet, S.B. 1991. Cholinergic grafts, memory and aging. *TINS* 14: 371-376.

- Dunnet, S.B., Everitt, B.J., Robbins, T.W. 1991. The basal forebrain-cortical cholinergic system: interpreting the functional consequences of excitotoxic lesions. *TINS* 14: 494-501
- Eichenbaum, H., 1992. The hippocampal system and declarative memory in animals. *J. Comparative Neurosci.*, 4:217-231.
- Escobar, M., Fernández J., Guevara-Aguilar, R., Bermúdez-Rattoni, F. 1989. Fetal brain grafts induce recovery of learning deficits and connectivity in rats with gustatory neocortex lesion. *Brain Res.*, 478: 368-374.
- Escobar, M.L., Jiménez, N., López-García, J.C., Tapia, R., Bermúdez-Rattoni, F. 1993. Nerve growth factor with insular cortical grafts induces recovery of learning and reestablishes graft choline acetyltransferase activity. *J. Neural Transp. Plast.*, 4: 167-172.
- Escobar, M.L., Russell, R.W., Booth, R.A., Bermúdez-Rattoni F. 1994. Accelerating behavioral recovery after cortical lesions: I. Homotopic implants plus NGF. *Behav. Neural Biol.*, 61: 73-80.
- Evenden, J.L., Lavis, L., Iversen, S.D. 1992. Blockade of conditioned taste aversion by scopolamine and N-methyl scopolamine: associative conditioning, not amnesia. *Psychopharmacol.*, 106: 179-188.
- Fernández-Ruiz, J., Escobar, M.L., Piña, A.L., Díaz-Cintra, S., Cintra-Mcglone, L., Bermúdez-Rattoni., F. 1991. Time-dependent recovery of taste aversion learning by fetal brain transplants in gustatory neocortex-lesioned rats. *Behav. & Neural Biol.*, 55: 179-193.
- Ferreira, M.B.C., Da Silva, R.C., Medina, J.H., Izquierdo, I. 1992. Late posttraining memory processing by entorhinal cortex: Involvement of NMDA and GABAergic receptors. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 41: 767-771.
- Fonnum, F., 1993 Regulation of the synthesis of the transmitter glutamate pool. *Prog. Biophys. Molec. Biol.*, 60: 47-57.
- Franck, J.A., Schwartzkroin, P.A., Phillips, J.O, Funchs, A.F. 1989. The limbic system. En *Textbook of physiology. Excitable cells and neurophysiology. VI Higher Functions* H.D. Patton, A.F.Funchs, B.Hille, A.M. Scher, R. Steiner Eds. 21st Edition W.B. Saunders. pp.693-715.
- Gaffan, D. 1992. Amygdala and the memory of reward. En *The amygdala. Neurobiological aspects of emotion, memory and mental dysfunction*. J.P. Aggleton Eds. A Jonh Wiley & Sons, Inc. pp. 471-484.
- Gallagher, M., Holland, C.P. 1992. Understanding the function of central nucleus: Is simple conditioning enough? En *The amygdala. Neurobiological*

- aspectsof emotion, memory and mental dysfunction.* J.P. Aggleton Eds. A Jonh Wiley & Sons, Inc. pp307-322.
- Gallo, M., Roldan, G., Bures, J. 1992. Differential involvement of gustatory insular cortex and amygdala in the acquisition and retrieval of conditioned taste aversion in rats. *Behav. Brain Res.*, 52: 91-97.
 - García, J, Holder M.D. 1985. Time, space and value. *Human Neurobiol.*, 4: 81-89.
 - García, J., Lasiter, P.S., Bermúdez-Rattoni, F y Deems, D. 1985. A general theory of aversion learning, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 443:8-20.
 - García, J. 1990. Learning without memory. *J. Cognitive Neurosci.*, 2: 287-305
 - Gower, A.J. 1986. Lesioning of the nucleus basalis in the rat as a model of Alzheimer's disease. *TIPS* 11: 432-434.
 - Hammer, R., Berrie, C.P., Birdsall, N.M.J., Burgen, A.S.V., Hulme, E.C. 1980. Pirenzepine distinguishes between diferent subclasses of muscarinic receptor. *Nature* 283: 90-92.
 - Headley, P.M., Grillner, S. 1990. Excitatory amino acids and synaptic transmission: the evidence for a physiological fuction. *TIPS* 11:205-211.
 - Heale, V., Harley, C. 1990. MK-801 and AP5 impair acquisition, but not retention, of the Morris milk maze. *Pharmacol. Biochem & Behav.*, 36: 145-149.
 - Hasselmo, M.E., Bower, J.M 1993. Acetylcholine and memory. *TINS* 16 (6): 218-222.
 - Introini-Collison, I.B., Baratti, C.M. 1992. Memory-modulatory effects of centrally acting noradrenergic drugs: Possible involvement of brain cholinergic mechanisms. *Behav. & Neural Biol.*, 57: 248-255.
 - Ito, S.I. 1992. Multiple projection of vagal non-myelinated afferents to the anterior insular cortex in rats. *Neurosci. Letters.* 148: 151-154.
 - Kaczmarek, L. 1993a. Molecular biology of vertebrate learning: Is c-fos a new beginning. *J Neurosci. Res.*, 34: 377-381.
 - Kaczmarek, L. 1993b. Glutamate receptor-driven gene expression in learning. *Acta Neurobiol. Exp.*, 53: 187-196.
 - Kesner, R.P. 1991. Neurobiological views of memory. En *Learning and Memory. A biological view.* J.L. Martínez, R.P. Kesner Eds. 2th Edition Academic Press. Inc. pp.499-540.
 - Kesner, R.P. 1992. Learning and memory in rats with an emphasis on the role of the amygdala. En *The amygdala. Neurobiological aspects of emotion,*

- memory and mental dysfunction*. J.P. Aggleton Eds. A John Wiley & Sons, Inc. pp.379-400.
- Kiefer, S.W. 1985. Neural mediation of conditioned food aversions. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 443: 100-109.
 - Kim, J.J., De Cola, J.P., Landeira-Fernández, J., Fanselow, M.S. 1991. N-Methyl-D-aspartate receptor antagonist APV blocks acquisition but not expression of fear conditioning. *Behav. Neurosci.*, 105: 126-133.
 - Knipper, M., Yamamura, H.I. 1992. Cholinergic Mechanism and Trophic Factors. En *Treatment to Age-Related Cognitive Dysfunction: Pharmacological and Clinical Evaluation*. Racagni G., Mendlecz J. Eds. Basel Karger Int. Acad. Biomed. Drug Res., 2:19-34.
 - Kosar, E., Harvey, H.J., Norgren, R. 1986a. Gustatory cortex in the rat. I. Physiological properties and cytoarchitecture. *Brain Res.*, 379: 329-341.
 - Kosar, E., Grill, H.J., Norgren, R. 1986b. Gustatory cortex in the rat. II. Thalamocortical projections. *Brain Res.*, 379: 342-352.
 - Krnjevic, K. 1993. Central cholinergic mechanisms and function. *Prog. Brain Res.*, 98: 285-292.
 - Krukoff, T.L., Harris, K.H., Jhamandas, J.H. 1993. Efferent projections from the parabrachial nucleus demonstrated with the anterograde tracer *Phaseolus vulgaris* leucoagglutinin. *Brain Res., Bull.* 30: 163-172.
 - Lasiter, P.S., Glazman, D.L., Mensah, P.M. 1982. Direct connectivity between pontine taste areas and gustatory neocortex in rat. *Brain Res.*, 234 : 11-121.
 - Lasiter, P.S., Glanzman, D.L. 1983. Axon collaterals of pontine taste area neurons project to the posterior ventromedial thalamic nucleus and to the gustatory neocortex. *Brain. Res.*, 258: 299-304.
 - Lavond, D.G., Kim, J.J., Thompson, R.F. 1993. Mammalian brain substrates of aversive classical conditioning. *Annu. Rev. Psychol.*, 44: 317-342.
 - Le Doux, J.E. 1992. Emotion and the amygdala. En *The amygdala. Neurobiological aspects of emotion, memory and mental dysfunction*. J.P. Aggleton Eds. A John Wiley & Sons, Inc. pp 339-352.
 - Li, Y.J., Simon J.R., Low, W.C. 1992. Intrahippocampal grafts of cholinergic rich striatal tissue ameliorate spatial memory deficits in rats with fornix lesions. *Brain Res. Bull.*, 29: 147-155.

- López-García, J.C., Fernández-Ruiz, J., Bermúdez-Rattoni, Tapia, R. 1990a. Correlation between acetylcholine release and recovery of conditioned taste aversion induced by fetal neocortex grafts. *Brain Res.*, 523: 105-110.
- López-García, J.C., Bermúdez-Rattoni, F., Tapia, R. 1990b. Release of acetylcholine, γ -aminobutyrate, dopamine and glutamate, and activity of some related enzymes, in rat gustatory neocortex. *Brain Res.*, 523: 100-104.
- López-García, J.C., Fernández-Ruiz, Escobar, M.L., Bermudez-Rattoni, F, Tapia, R. 1993. Effects of excitotoxic lesions of the nucleus basalis magnocellularis on conditioned taste aversion and inhibitory avoidance in the rat. *Pharmacol.Biochem. Behav.*, 45: 147-152.
- Lovinger, D.M., Wong, K.L., Murakami, K., Routtenberg, A. 1987. Protein Kinase C inhibitors eliminate hippocampal long-term potentiation. *Brain Res.*, 436: 177-183.
- Lynch, G., Baudry, M. 1984. The biochemistry of memory: A new and specific hypothesis. *Science*. 224: 1057-1063.
- Lynch, G., Granger, R. 1992. Variations in synaptic plasticity and types of memory in corticohippocampal networks. *J. Cognitive Neurosci.*, 4:189-199
- Malinow, R. 1991. Transmission between pairs of hippocampal slice neurons: quantal levels oscillations and LTP. *Science* 252: 722-724.
- Manabe, T., Renner, P., Nicoll, R.A. 1992 Postsynaptic contributions to Long-Term Potentiation revealed by analysis of miniature synaptic currents. *Nature* 355: 50-55.
- Mc Donald, R.J., White, N.M., 1993. A triple dissociation of memory systems: Hippocampus, amygdala, and dorsal striatum. *Behav.Neurosci.*, 107: 3-22.
- Mc Geer, P.L., Mc Geer, E.G. 1989. Amino acid neurotransmitters. En *Basic Neurochemistry*. Siegel, G., Agranoff, B., Albers, R.W., Molinoff, Perry. Eds. 4 Edición, Raven Press. pp. 311-332.
- Mc Namara, R.K., Skelton, R.W. 1993. The neuropharmacological and neurochemical basis of place learning in the Morris water maze. *Brain Res. Rev.*, 18: 33-49.
- Miserendino, M.I.D., Sananes, C.B., Melia, K.R., Davis, M. 1990. Blocking of acquisition but not expression of conditioned fear potentiated startle by NMDA antagonists in the amygdala. *Nature* , 345: 716-718.
- Morris, R.G.M., Garrud, P., Rawlins, J.N.P., O'Keefe, J. 1982. Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature*, 297: 681-683.

-Morris, R.G.M., Anderson, E., Lynch, G.S., Baudry, M. 1986. Selective impairments of learning and blockade of long term potentiation by an N-Methyl-D-Aspartate antagonists AP5. *Nature*. 319:774-776.

-Morris, R.G.M., Davis, S., Butcher, S.P., 1990. Hippocampal synaptic plasticity and NMDA receptors: a role in information storage?. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 329: 187- 204.

-Myhrer, T., Iversen, E.G., Fonnum, F. 1989. Impaired reference memory and reduced glutamatergic activity in rats with temporo-entorhinal connections disrupted. *Exp. Brain Res.*, 77: 499-509.

-Nabeshima, T., 1993. Behavioral aspects of cholinergic transmission: role of basal forebrain cholinergic system in learning and memory. *Progr. Brain Res.*, 98: 405-411.

-Nadel, L., 1992. Multiple memory systems: What and Why. *J.Cognitive Neurosci.*, 4: 179-187.

-Nicoll, R.A., Malenka, R.C., Kauer, J.A. 1990. Functional comparison of neurotransmitter receptor subtypes in mammalian central nervous system. *Physiol. Rev.*, 70: 513-565.

-Norgren, R., Leonard, C.M. 1971. Taste pathways in rat brainstem *Science* 173:1136-1139.

-Nathanson, N. 1987. Molecular properties of the muscarinic acetylcholine receptor. *Ann. Rev. Neurosci.*, 10: 195-236.

-Ogawa, N., Nomura, M., Haba, K., Asanuma, M., Tanaka, K., Hori, K., Mori, A. 1992. Effects of dihydroergotoxine on central cholinergic neuronal systems and discrimination learning test in aged rats. *Brain Res.*, 589: 229-234.

-Ogura, H., Aigner, T.G. 1993. MK-801 impairs recognition memory in rhesus monkeys: Comparison with colinergic drugs. *J. Pharmacol. Exp. Therapeutics.* 266: 60-64.

-Olds, J.L., Alkon, D.L. 1993. protein kinase C: a nexus in the biochemical events that underlie associative learning. *Acta Neurobiol. Exp.*, 53: 197-207.

-Olson, C.R., Musil, S.Y. 1992. Topographic organization of cortical and subcortical projections to posterior cingulate cortex in the cat: evidence for somatic, ocular and complex subregions. *J. Comp. Neurol.*, 324: 237-260.

-Olton, D.S., Shapiro, M.L. 1992. Mnemonic dissociations: The power of parameters. *J. Cognitive Neurosci.*, 4: 200-207.

- Oppenheimer, S.M., Cechetto, D.F. 1990. Cardiac chronotropic organization of the rat insular cortex. *Brain Res.*, 533: 66-72.
- Parada-Turska, J., Turski, W.A. 1990. Excitatory amino acid antagonist and memory: Effect of drugs acting at N-Methyl-D-Aspartate receptors in learning and memory tasks. *Neuropharmacol.* 29: 1111-1116.
- Parsons, S.M., Bahv, B.A., Graez, M., Kaufman, R., Kornreich, W.D. 1987. Acetylcholine transport: Fundamental properties and effects of pharmacological agents. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 493: 220-233.
- Pirch, J.H., Turco, K., Rucker, H.K. 1992. A role for acetylcholine in conditioning-related responses of rat frontal cortex neurons: microiontophoretic evidence. *Brain Res.*, 586: 19-26.
- Pontzer, N.J., Chandler, J., Stevens, B.R., Crews, F.T. 1990. Receptors, phosphoinositol hydrolysis and plasticity of nerve cells. En *Prog. Brain Res.*, 86: 221-225.
- Prado-Alcalá, R.A., Bermúdez-Rattoni, F., Velázquez-Martínez, D.N., Bacha, M. G. 1978. Cholinergic blockade of the caudate nucleus and spatial alternation performance in rats: overtraining induced protection against behavioral deficits *Life Sci.*, 23: 889-89.
- Prado-Alcalá, R.A., Kauffmann, P., Moscona, R. 1979. Scopolamine and KCl injections into the caudate nucleus. Overtraining-induced protection against deficits of learning. *Pharmacol. Biochem. & Behav.*, 12: 249-253.
- Prado-Alcalá, R.A., Fernández-Ruiz, J., Quirarte, G.L. 1993. Cholinergic neurons and memory. En *Aspects of synaptic transmission. acetylcholine, sigma receptors, cck and eicosanoids, neurotoxins*. T.W. Stone. Eds. Taylor & Francis, London. pp:57-69.
- Prado-Alcalá, R.A. 1985. Is cholinergic activity of the caudate nucleus involved in memory? *Life Sci.*, 37: 2135-2142.
- Ransmayr, G., Cervera, P., Hirsch, E.C., Berger, W., Fischer, W., Agid, Y. 1992. Alzheimer's disease: is the decrease of the cholinergic innervation of the hippocampus related to intrinsic hippocampal pathology? *Neurosci.*, 47: 843-851.
- Reisine, T. 1992. Molecular biology of neurotransmitter receptors. En *Discussions Neurosci.*, vol 4. Elsevier Publishers.
- Richter-Levin, G., Segal, M. 1989. Spatial performance is severely impaired in rats with combined reduction of serotonergic and cholinergic transmission. *Brain Res.*, 477: 404-407.

- Ridley, R.M., Baker, H.F. 1991. Can fetal neural transplants restore function in monkey with lesion-induced behavioral deficits? *TINS*, 14: 366-370.
- Riekkinen, J., Sirvio, J., Riekkinen, P. 1990. Interaction between raphe dorsalis and nucleus basalis magnocellularis in spatial learning. *Brain Res.*, 527: 342-345.
- Riekkinen, J., Riekkinen, M., Sirvio, J., Miettinen, R., Riekkinen P. 1992. Loss of cholinergic neurons in the nucleus basalis induces neocortical electroencephalographic and passive avoidance deficits. *Neurosci.*, 47 (4) 823-831.
- Rosenblad, C., Nilsson, O.G. 1993. Basal forebrain grafts in the rat neocortex restore in vivo acetylcholine release and respond to behavioural activation. *Neurosci.*, 55 (2): 353-362.
- Rosenblum, K., Meiri, N., Dudai, Y. 1993. Taste memory: The role of protein synthesis in gustatory cortex. *Behav. & Neural Biol.*, 59: 49-56.
- Russell, R.W., Escobar, M.L., Both, R.A., Bermúdez-Rattoni F. 1994. Accelerating behavioral recovery after cortical lesions. II: *In vivo* evidence for cholinergic involvement. *Behav. Neural Biol.*, 61: 81-92.
- Sanger, D.J. 1992. NMDA antagonists disrupt timing behaviour in rats. *Behav. Pharmacol.*, 3: 593-600.
- Santucci, A.C., Kanof, P.D., Haroutunian, V. 1989. Effects of physostigmine on memory consolidation and retrieval process in intact and nucleus basalis-lesioned rats. *Psychopharmacol.* 99: 70-74.
- Saper, C.B. 1982. Reciprocal parabrachial-cortical connections in the rat. *Brain Res.*, 242: 33-40.
- Schmidt, J.W., Busber, M., Hauber, W. 1990. Excitatory amino acids and Parkinson's disease. *TINS*, 13: 46-37.
- Schwartz, J.H., Greenberg, S.M. 1987. Molecular mechanisms for memory. Second-Messenger induced modifications of protein kinases in nerve cells. *Ann. Rev. Neurosci.*, 10: 459-476.
- Shapiro, M.L., O' Connor, C. 1992. N-Methyl-D-Aspartate receptor antagonist MK-801 and spatial memory representation: working memory is impaired in an unfamiliar environment but not in a familiar environment. *Behav. Neurosci.* 106- 604-612.
- Silva, A.J., Stevens, C.F., Tonegawa, S., Wang, Y. 1992. Deficient hippocampal long-term potentiation in α -calcium-calmodulin kinase II mutant mice. *Science* 257: 201-206.

- Silva, A.J., Paylor, R., Wehner, J.M., Tonegawa, S. 1992. Impaired spatial learning in α -calcium-calmodulin kinase. II mutant mice. *Science* 257: 206-209.
- Snyder, S.H., Bredt, D.S. 1992. Funciones biológicas del óxido nítrico. *Investigación y Ciencia* 12-19.
- Soderling, T.R. 1993. Calcium/calmodulin-dependent protein kinase II: role in learning and memory. *Mol. & Cellular Biochem.*, 127/128: 93-101.
- Spector, A.C., Norgren, R., Grill H.J., 1992. Parabrachial gustatory lesions impairs taste aversion learning in rats. *Behav. Neurosci.* 106: 147-161.
- Squire, L.R. 1987a. Localized and distributed memory storage. En: *Memory and brain*. New York: Oxford University Press. pp: 56-74.
- Squire, L.R. 1987b. Memory is determined by information processing. En: *Memory and brain*. New York: Oxford University Press. pp: 124-133.
- Squire, L.R. 1987c. Short-term and long-term memory processes. En: *Memory and brain*. New York: Oxford University Press. pp: 134-174.
- Squire, L.R., Zola-Morgan, S. 1991. The medial temporal lobe memory system. *Science* 253:1380-1386.
- Squire, L.R. 1992. Declarative and nondeclarative memory: Multiple brain systems supporting learning and memory. *J. Cognitive Neurosci.*, 4: 232-243.
- Stone, T.W., Burton N.R. 1988. NMDA receptors and ligands in the vertebrate CNS. *Prog. Neurobiol.*, 30: 333-368.
- Szekely, G. 1990. Problems of the neuronal specificity in the development of neural organization. *Concepts Neurosci.* 1:165-197.
- Taylor, P., Brown, J. H. 1989. Acetylcholine. En: *Basic Neurochemistry*. Siegel, G., Agranoff, B., Albers, R.W., Molinoff, Perry. Eds. 4 Edición, Raven Press.
- Thompson ,R.F. 1992. Memory. *Current Opinion Neurobiol.*, 2: 203-208.
- Tucek, S. 1993. Short-term control of the synthesis of acetylcholine. *Prog. Biophys. Molec. Biol.*, 60: 59-69.
- Ungerer, A., Manthis, C., Mélan, C., De Barry, J. 1991. The NMDA receptor antagonist, CPP and γ -L-glutamyl-L-aspartate selectively block post-training improvement of performance in a Y-maze avoidance learning task. *Brain Res.*, 549: 59-65.

- Wachtel, H., Turski, L. 1990. Glutamate: a new target in schizophrenia? *TIPS*, 11: 219-220.
- Willner, J., Gallagher, M., Graham, P.W., Crooks G.B. 1992. N-Methyl-D-Aspartate antagonist D-APV selectively disrupts taste-potentiated odor aversion learning. *Behav. Neurosci.*, 106: 315-323.
- Wolf, N.J. 1991. Cholinergic systems in mammalian brain and spinal cord. *Prog. Neurobiol.*, 37: 475-524.
- Xia, Z., Refsdal, C.D., Merchant, K.M., Dorsa, D.M., Storm, D.R. 1991. distribution of mRNA for Calmodulin-sensitive adenylate Cyclase in rat brain: Expression in areas associated with learning and memory. *Neuron*, 6: 431-443.
- Yamamoto, T., Shimura, T., Sako, N., Azuma, S., Bai, W. Z., Wakisaka, S. 1992. C-fos expression in the rat brain after intraperitoneal injection of lithium chloride. *Neuroreport*, 3: 1049-1052.
- Yamamoto, T. 1993. Neural mechanisms of taste aversion learning. *Neurosci. Res.*, 16: 181-185.
- Yamamoto, T., Shimura, T., Sako, N., Yasoshima, Y., Sakai, N. 1994. neural substrates for conditioned taste aversion in the rat. *Behav. Brain Res.*, 65: 123-137.
- Yasui, Y., Breder, C.D., Saper, C.B., Cechetto, D.F. 1991. Autonomic responses and efferent pathways from the insular cortex in the rat. *J.Comp.Neurol.*, 303: 355-374.
- Young, A.B., Fagg, G.E. 1990. Excitatory amino acid receptors in the brain: membrane binding and receptor autoradiographic approaches. *TIPS*, 11: 126-132.
- Zeng, D., Stuesse, S.L. 1991. Morphological heterogeneity within the cingulate cortex in rat: a horseradish peroxidase transport study. *Brain Res.*, 565: 290-300.

TABLAS DE RESULTADOS

ESTUDIO I

Participación colinérgica en las funciones de la corteza insular

Experimento 1.1

Efectos de la escopolamina en la corteza insular sobre la adquisición del CAS

GRUPOS	N	MEDIA	ERROR ESTANDAR
Escopolamina *	7	23	2
Salina	6	8	1
Control	9	6	1
p=,0001			
Datos crudos			
Escopolamina *	7	108.15 %	8.46
Salina	6	45.22 %	4.45
Control	9	30.83 %	5.65
p=,0001			
% de línea base			

* F <0.05

Efectos de la escopolamina en la corteza insular sobre la adquisición del laberinto de agua

LAM ENSAYOS	GRUPO	N	MEDIA	ERROR ESTANDAR
E1 p=.6111	Escopolamina	6	41	2
	Salina	5	39	6
	Control	6	35	6
E2 p=.0161	Escopolamina *	6	45	0
	Salina	5	45	0
	Control	6	29	6
E3 p=.3512	Escopolamina	6	39	6
	Salina	5	38	5
	Control	6	28	6
E4 p=.0021	Escopolamina *	6	45	0
	Salina	5	34	5
	Control	6	17	6
E5 p=.0006	Escopolamina	6	45	0
	Salina	5	23	7
	Control	6	13	5
E6 p=.1877	Escopolamina *	6	39	6
	Salina	5	25	9
	Control	6	19	8
E7 p=.1877	Escopolamina	6	36	6
	Salina	5	22	9
	Control	6	19	8
E8 p=.0128	Escopolamina *	6	45	0
	Salina	5	17	8
	Control	6	19	8
E9 p=.0001	Escopolamina *	6	45	0
	Salina	5	5	3
	Control	6	8	3

Apéndice

E10 p=.0067	Escopolamina *	6	45	.00002
	Salina	5	17	9
	Control	6	13	7
Latencia de llegada al blanco p=.001	Escopolamina *	6	87	19
	Salina	5	12	4
	Control	6	11	5
Cruces sobre el lugar del blanco p=.05	Escopolamina *	6	1	1
	Salina	5	5	2
	Control	6	6	1

* F < 0.05

Experimento 1.2

Efectos de la escopolamina en la consolidación del CAS

GRUPOS	N	MEDIA	ERROR ESTANDAR
Escopolamina	8	8.1	.9
Salina *	7	9.0	1.8
Control	8	5.4	.9
p=.1071			
Datos crudos			
Escopolamina	8	48.8 %	8.1
Salina *	7	61.2 %	11.7
Control	8	29.7 %	3.6
p=.0442			
% de linea base			

* F < 0.05

Efectos de la escopolamina en la consolidación del laberinto de agua de
Morris

LAM ENSAYOS	GRUPOS	N	MEDIA	ERROR ESTANDAR
E1 p=.7958	Escopolamina	7	37.32	4.96
	Salina	7	32.14	4.80
	Control	7	35.03	6.29
E2 p=.471	Escopolamina	7	30.49	6.17
	Salina	7	23.28	5.96
	Control	7	33.81	6.08
E3 p=.2364	Escopolamina	7	13.40	4.75
	Salina	7	26.07	6.38
	Control	7	15.24	5.14
E4 p=.2241	Escopolamina	7	32.59	4.81
	Salina	7	25.50	7.51
	Control	7	17.17	5.77
E5 p=.6812	Escopolamina	7	14.45	5.69
	Salina	7	18.02	5.57
	Control	7	10.94	5.69
E6 p=.3093	Escopolamina	7	19.15	6.94
	Salina	7	15.95	6.21
	Control	7	6.8	3.39
E7 p=.0867	Escopolamina	7	13.117	5.96
	Salina *	7	23.95	7.62
	Control	7	4.74	2.30
E8 p=.1457	Escopolamina	7	21.06	7.66
	Salina	7	24.75	8.25
	Control	7	6.43	2.09
E9 p=.5095	Escopolamina	7	16.54	5.33
	Salina	7	14.36	6.62
	Control	7	8.05	3.3
E10 p=.3155	Escopolamina	7	17.11	6.71
	Salina	7	10.39	5.44
	Control	7	5.82	1.97

Apéndice

Latencia de llegada al lugar del blanco p=.0404	Escopolamina	7	23.12	6.18
	Salina *	7	48.80	12.93
	Control	7	15.43	5.66
Cruces sobre el lugar del blanco p=.2307	Escopolamina	7	3.28	.71
	Salina	7	4.14	1.31
	Control	7	6	1.17

* F < 0.05

Experimento 1.3

Efectos de la lesión de la CI en la adquisición del CAS
 y
 Efectos de la escopolamina en transplantes de CI en la adquisición del CAS

GRUPO	N	MEDIA	ERROR ESTANDAR
Lesionado *	32	13.172	.801
Control	10	6.778	1.605
p=.0007 Datos crudos			
Lesionado *	32	87.563%	5.478
Control	10	37.519%	8.495
p=.0001 % de línea base			
Resultados			
Posttransplante			
Escopolamina *	12	12	1
Salina	12	7.333	1.269
Control	10	5	.775
p=.0002 Datos crudos			
Posttransplante			
Escopolamina *	12	74.65 %	7.699
Salina	12	49.05 %	8.451
Control	10	25.55 %	4.237
p=.0003 % de línea base			

* F<0.05

Efectos de la escopolamina trasplantes de CI en la adquisición del laberinto de agua de Morris

LAM ENSAYOS	GRUPO	N	MEDIA	ERROR ESTANDAR
E1 p=.3026	Escopolamina	11	36	4
	Salina	6	44	1
	Control	8	41	2
E2 p=.0788	Escopolamina	11	37	5
	Salina	6	33	6
	Control	8	19	6
E3 p=.1488	Escopolamina	11	32	5
	Salina	6	18	6
	Control	8	20	5
E4 p=.4658	Escopolamina	11	27	6
	Salina	6	18	8
	Control	8	19	5
E5 p=.078	Escopolamina *	11	27	5
	Salina	6	7	7
	Control	8	10	5
E6 p=.0376	Escopolamina *	11	28	6
	Salina	6	10	4
	Control	8	12	4
E7 p=.0461	Escopolamina *	11	24	6
	Salina	6	19	4
	Control	8	6	2
E8 p=.0113	Escopolamina *	11	24	6
	Salina	6	4	2
	Control	8	7	2
E9 p=.004	Escopolamina *	11	28	6
	Salina	6	5	1
	Control	8	7	3
E10 p=.0328	Escopolamina *...	11	21	6
	Salina	6	7	2
	Control	8	5	1

Latencia de llegada al blanco p=.0151	Escopolamina *	11	55	13
	Salina	6	29	10
	Control	8	9	4
Cruces sobre el lugar del blanco p=.0376	Escopolamina *	11	2	1
	Salina	6	3	1
	Control	8	4	0.00001

* F<0.05

ESTUDIO II
Participación glutamatérgica en las funciones de la corteza insular

Experimento 2.1 y 2.1.1.
Efectos del AP5 en la adquisición del CAS

y
Evaluación de la dependencia del estado farmacológico

GRUPOS	N	MEDIA	ERROR ESTANDAR
AP5 (3µg) *	6	15	1.065
AP5 (6µg) *	12	12.286	1.809
PB	9	7.25	1.149
Control	7	6.778	2.019
p=.0033			
Datos crudos			
AP5 (3µg) *	6	94.00 %	5.13
AP5 (6µg) *	12	69.62 %	8.53
PB	9	44.36 %	6.93
Control	7	36.90 %	10.01
p=.0003			
% de línea base.			
Dependencia del del estado farmacológico			
Control	4	3	1
AP5 (a-p) *	4	15	2
AP5 (p)	4	4	1
p=.0009			
Datos crudos			
Control	4	17 %	5
AP5 (a-p) *	4	100 %	20
AP5 (p)	4	25 %	6
p=.0106			
% de línea base			

* F<0.05

Efectos del AP5 sobre la adquisición del laberinto de agua

LAM ENSAYOS	GRUPOS	N	MEDIA	ERROR ESTANDAR
E1 p=.1679	Control	15	37	4
	PB	22	29	3
	AP5 (3 µg)	15	38	4
	AP5 (6 µg)	6	40	5
E2 p=.0573	Control	15	17	3
	PB	22	25	4
	AP5 (3 µg) *	15	33	4
	AP5 (6 µg)	6	30	7
E3 p=.0016	Control	15	12	3
	PB	22	24	4
	AP5 (3 µg) *	15	35	4
	AP5 (6 µg) *	6	32	7
E4 p=.0007	Control	15	8	3
	PB	22	24	4
	AP5 (3 µg) *	15	34	4
	AP5 (6 µg)	6	21	7
E5 p=.0002	Control	15	12	3
	PB	22	17	4
	AP5 (3 µg) *	15	37	4
	AP5 (6 µg)	6	15	7
E6 p=.0001	Control	15	7	3
	PB	22	13	3
	AP5 (3 µg) *	15	40	3
	AP5 (6 µg) *	6	21	6
E7 p=.0001	Control	15	9	3
	PB	22	22	4
	AP5 (3 µg) *	15	42	1
	AP5 (6 µg)	6	17	6

Apéndice

E8 p=.0027	Control	15	9	3
	PB	22	23	3
	AP5 (3 µg) *	15	32	5
	AP5 (6 µg) *	6	19	8
E9 p=.0001	Control	15	4	1
	PB	22	9	4
	AP5 (3 µg) *	15	35	4
	AP5 (6 µg) *	6	30	6
E10 p=.0015	Control	15	8	2
	PB	22	18	4
	AP5 (3 µg) *	15	31	5
	AP5 (6 µg) *	6	21	7
Latencia de llegada al lugar del blanco p=.0001	Control	15	16	3
	PB-PB	3	42	23
	PB-AP5 *	4	58	18
	AP5-PB *	4	92	28
	AP5-AP5 *	3	117	3
	PB	15	20	6
	AP5 (3 µg) *	8	86	13
AP5 (6 µg) *	6	60	14	
Cruces sobre el lugar del blanco p=.0013	Control	15	6	1
	PB-AP5	4	6	3
	AP5-PB *	4	1	1
	AP5-AP5 *	3	1	1
	PB	15	4	.0001
	AP5 (3 µg) *	8	2	1
	AP5 (6 µg) *	6	3	1

* F<0.05

Experimento 2.2

Efectos de la administración de AP5 en la CI en la consolidación del CAS

GRUPOS	N	MEDIA	ERROR ESTANDAR
Control	13	5	1
PB	6	7	1
AP5 (30') *	8	10	1
AP5 (120') *	7	15	2
p=.0001			
Datos crudos			
Control	13	34.87 %	3.92
PB	6	44.82 %	6.68
AP5 (30') *	8	66.94 %	7.04
AP5 (120') *	7	100.00 %	11.74
p=.0001			

* F<0.05

Efectos del AP5 en la consolidación del laberinto de agua de Morris

LAM ENSAYOS	GRUPOS	N	MEDIA	ERROR ESTANDAR
E1 p=.3244	Control	13	36.04	4.01
	PB	8	29.97	8.67
	AP5	12	41.46	2.98
E2 p=.9684	Control	13	29.55	4.55
	PB	8	27.95	7.86
	AP5	12	27.92	5.26
E3 p=.0478	Control	13	18.98	4.95
	PB	8	18.05	8.64
	AP5 *	12	36.63	4.66
E4 p=.0362	Control	13	15.38	4.33
	PB	8	20.66	8.14
	AP5 *	12	33.93	4.59
E5 p=.0702	Control	13	11.50	3.60
	PB	8	9.01	1.83
	AP5 *	12	24.16	5.97
E6 p=.3257	Control	13	15.31	4.07
	PB	8	5.73	2.92
	AP5	12	18.93	7.10
E7 p=.2225	Control	13	9.92	3.24
	PB	8	6.94	2.90
	AP5	12	18.08	5.61
E8 p=.3277	Control	13	9.312	3.43
	PB	8	6.723	2.49
	AP5	12	16.067	5.24
E9 p=.4643	Control	13	10.088	3.52
	PB	8	8.097	5.39
	AP5	12	4.352	1.73
E10 p=.7461	Control	13	14.602	3.86
	PB	8	9.762	3.76
	AP5	12	13.313	4.06
Latencia de llegada al lugar del blanco p=.3687	Control	13	21	8
	PB-30'	4	52	29
	PB-120'	4	9	4
	AP5-30'	6	34	16
	AP5-120'	6	21	6
Cruces sobre el lugar del blanco p=.2461	Control	13	9	1
	PB-30'	4	5	2
	PB-120'	4	10	3
	AP5-30'	6	8	3
	AP5-120'	6	5	2

* F < 0.05