



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**PARTICIPACIÓN DE LOS RECEPTORES
METABOTRÓPICOS DE GLUTAMATO
TIPO I, EN CORTEZA INSULAR DURANTE
UN APRENDIZAJE APETITIVO EN RATAS**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIOLOGO

P R E S E N T A :

SERGIO ZAVALA VEGA



**DIRECTOR DE TESIS:
DR. FEDERICO BERMÚDEZ RATTONI
2010**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

I. Agradecimientos

Este trabajo fue realizado en el laboratorio de Neurobiología del Aprendizaje y la Memoria del Instituto de Fisiología Celular de la Universidad Nacional Autónoma de México a cargo del Dr. Federico Bermúdez Rattoni, con el apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) 60478 y de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA-UNAM) IN216709. Agradezco el apoyo de las Técnicas Académicas Israela Balderas y Perla Moreno, a Oreste Carbajal y al Histotecnólogo Federico Jandete así como a la secretaria Yolanda Díaz de Castro por toda su colaboración.

II. Agradecimientos

- A mis papás que no únicamente me dieron lo más preciado que tengo, la vida, sino que también me han otorgado todo su ser, saber, poseer, apoyo y amor.
- Al Doctor Federico Bermúdez Rattoni quien me apoyó y me aportó todo lo necesario para comenzar mi vida profesional dedicada a la investigación.
- A la Doctora Leticia Ramírez Lugo, mi gran amiga, maestra y colaboradora. Sin su apoyo incondicional seguramente no se hubiera realizado esta investigación.
- A los Doctores Rocio Salceda Sacanelles, Julio Eduardo Roque Morán Andrade, María Isabel Miranda Saucedo y Luis Núñez Jaramillo por sus valiosas aportaciones a esta tesis. Agradezco a la Doctora María Isabel Miranda también por aportarme su conocimiento de esta área y su amistad. De igual forma a Luis Núñez por su gran amistad y compañerismo.
- A mi tía la Doctora Marisela Vega Orozco quien me impulso en días de desasosiego, cuando claudicar era una idea constante en mi pensamiento.
- A los Doctores Alfredo Whaley, Anabella Fernández & colaboradoras, por su apoyo para sacar adelante este trabajo y mejorar mi calidad de vida.
- A los Doctores Citlaltepetl Salinas Lara, Graciela Castro Escarpulli & a la Química Noemí Gelista por su apoyo incondicional en mi vida académica actual.
- A Ricardo Tinoco González por su gran colaboración en el diseño y mejoramiento de las imágenes de la tesis, pero sobre todo por su amistad desinteresada, siempre dispuesto a ayudarme en cualquier situación.
- Aurora Gámez, entrañable amiga y compañera de esta última década. Cuyos consejos, ayuda y enseñanzas de vida, han sido un pilar en mí ser.
- A mi gran maestro y amigo de la vida cuya amistad, ideas y música han enriquecido y modificado mi devenir a través de los años.
- A Liliana Rojas por ofrecerme su inigualable amistad y apoyarme tanto desde el bachillerato.
- A Héctor Zavala, Luis H. Serra, & Tháis Vega por todo su apoyo, comentarios y sugerencias para mejorar y sacar adelante este trabajo.
- A Luz Ángela Zárate, por su amistad, apoyo y su enseñanza, con el ejemplo, de luchar con ahínco por alcanzar las metas propuestas.
- A mis amigos de laboratorio y colaboradores de este proyecto: Rodrigo Pedroza, Kioko Guzmán, Perla Moreno, Luis Royero, Sandra Ramírez, Adrián Guevara, Marisela Martínez, Wendy Herrera, Ranier Gutiérrez, Tomás Rocha, Enrique Espinosa, Ilse Delint, Israela Balderas, Sinuhé Muñoz, Paola García de la Torre, Vanesa De la Cruz, Carlos J. Rodríguez, Víctor Ramírez, Gina Robles, Oscar Flores, Guillermo Martínez, Paola Cisneros, Miriam Zamora, Claudio Luna, Elizabeth Morales, Jimena Sandoval y a todos quienes colaboraron directa e indirectamente en este trabajo y que me ofrecieron su amistad en el laboratorio de Neurobiología del Aprendizaje y Memoria y en el Instituto de Fisiología Celular.
- A mi familia: Mi hermano, Héctor Zavala, quien ha sido fundamental en mi vida y un hombre ejemplar. A Luis H. Serra, Tháis, Erika Rossana, Haydeé, Adriana Haydeé, Flor Vega, Gloria Chaparro, Alejandro Heredia, Lourdes de Orozco, Paola & Andrea Orozco, Humberto, Jaime y Guillermina Zavala, Schnewlin y sus respectivas familias.
- A mis amigos: Ana Corona, Ma. del Socorro Juárez, Alejandra Márquez, Leticia López, Aidé Jiménez, Israel Carrasco, Jackeline Mena, Adriana Letichipía, Etzel Garrido, Pavel y Antonio Montes de Oca, José Luis Estrada, Lorena Garrido, Lourdes Esparza, Oscar Alcántara, Michael Schultheiss y Ricardo Fajardo que me han alentado para obtener el grado.
- Agradezco y ofrezco disculpas encarecidamente a todas las ratas que fueron ocupadas en esta y las demás investigaciones en las que colaboré.
- A mi patria que me proporcionó todos los elementos para mi desarrollo en todos los aspectos.
- A Dios o *Natura* quien me dotó de ánimo, salud, razón, memoria, voluntad, libertad, curiosidad y emociones para experimentar la vida, conocerla, apreciarla y posiblemente coadyuvar en el mejoramiento de la calidad de vida de las personas y demás seres vivos.

III. Contenido

I.	Agradecimientos.....	3
II.	Contenido	4
III.	Índice de Figuras	6
IV.	Índice de Tablas.....	7
V.	Resumen	8
1.	Introducción.....	9
1.1.	Antecedentes.....	11
1.1.1.	Aprendizaje y Memoria.....	11
1.1.2.	Tipos de memoria.....	13
1.1.3.	Fases de la memoria	15
1.1.4.	Memoria gustativa.....	16
1.1.4.1.	Memoria gustativa aversiva.....	17
1.1.4.2.	Memoria gustativa apetecible.....	18
1.1.5.	Sistema Gustativo (Sistema Nervioso Periférico).....	19
1.1.5.1.	Botones Gustativos en mamíferos.....	19
1.1.5.2.	Receptores del sabor.....	21
1.1.5.3.	Pares de Nervios Craneales.....	22
1.1.6.	Sistema Gustativo (Sistema Nervioso Central).....	24
1.1.7.	Vía del procesamiento de la información visceral.....	24
1.2.	Neurotransmisores y receptores involucrados en la memoria gustativa.....	25
1.2.1.	Acetilcolina.....	26
1.2.2.	Serotonina.....	29
1.2.3.	Catecolaminas.....	30
1.2.4.	Dopamina	31
1.2.5.	GABA.....	32
1.3.	Glutamato.....	32
1.3.1.	Receptores ionotrópicos de glutamato.....	33
1.3.1.1.	Receptores AMPA.....	33
1.3.1.2.	Receptores a Kainato.....	34
1.3.1.3.	Receptores NMDA	34
1.3.2.	Receptores metabotrópicos de glutamato.....	36

1.3.2.1.	Receptores metabotrópicos de glutamato tipo I (mGluR I).....	38
1.3.2.2.	Receptores metabotrópicos de glutamato tipo II y III.	50
2.	Planteamiento del problema.	52
3.	Hipótesis.	53
4.	Objetivo General:	53
4.1.	Objetivos Específicos:	53
5.	método	54
5.1.	Modelo Biológico.	54
5.2.	Cirugía.	54
5.3.	Procedimiento de microinyección.	55
5.3.1.	Fármacos.....	55
5.3.2.	Modelos conductuales.	55
5.3.2.1.	Neofobia y atenuación de la neofobia.	55
5.3.2.2.	Condicionamiento Aversivo a los Sabores CAS.	57
5.3.3.	Histología	58
5.3.4.	Diseño Experimental	59
5.3.4.1.	Experimento 1 “Implicaciones del glutamato en CI durante la Atenuación de la Neofobia”.....	59
5.3.4.2.	Curva dosis respuesta de AIDA.	62
5.4.	Experimento 2 “Importancia de la inhibición de los mGluR I en corteza insular durante la atenuación de la neofobia”.....	64
5.4.1.1.	Experimento 3 “Microinyección del agonista y antagonista de los mGluR I en IC durante AN”.....	65
5.5.	Experimento 4 “Posible implicación de los mGluR I en CI durante el CAS”.	68
5.5.1.	Resultado	68
5.6.	Experimento 5 “Probable participación de los mGluR I en Amígdala durante la AN”.....	71
5.6.1.	Resultados.....	71
6.	Discusión.	74
7.	Conclusión.....	78
	Apendice I. Vías del procesamiento de la información gustativa.	80
	Apendice II. Vías del procesamiento de la información visceral.	94
8.	Referencias.	100

IV. Índice de Figuras

Figura 1. Clasificación de la memoria en mamíferos.....	13
Figura 2. . Condicionamiento aversivo a los sabores (CAS) vs Atenuación de la Neofobia (AN).	18
Figura 3. Botón gustativo.	19
Figura 4. Papilas gustativas	21
Figura 5. Vías del Procesamiento de Información Gustativa y Visceral.....	25
Figura 6. Integración de la memoria gustativa en corteza insular (CI).	29
Figura 7. Clasificación de los receptores glutamatérgicos	37
Figura 8. Cascadas de señales de los receptores mGluR I.....	41
Figura 9. Localización de los receptores mGluR I en la sinapsis.....	42
Figura 10. Localización de los receptores mGluR I en el cerebro de rata.....	43
Figura 11. Regulación de la activación de receptores tipo NMDA, a partir de los receptores mGluR I.	45
Figura 12. Metodología de atenuación de la neofobia e intervalos de inyección de los fármacos:	57
Figura 13. Metodología del Condicionamiento Aversivo a los Sabores (CAS) y tiempo de la microinyección de los fármacos.	58
Figura 14. Sitio de microinyección de fármacos en CI.	59
Figura 15. Efecto de la infusión de ácido glutámico (Glu) a diferentes tiempos en CI en la AN.	61
Figura 16. Curva dosis respuesta de AIDA inyectada bilateralmente en CI durante la AN, al tiempo 0min.	63
Figura 17. Efecto de la infusión en CI del agonista y antagonista (AIDA) de los receptores mGluR I en AT.	65
Figura 18. Microinyección del agonista junto con el antagonista de los receptores mGluR I en CI durante AN.	67
Figura 19. Inhibición de los receptores mGluR I con AIDA en CI durante la adquisición del CAS.	70

Figura 20. Inhibición de los receptores mGluRI con AIDA en ABL, durante la formación de la memoria gustativa apetecible en la AN, como ocurre en CI.	72
Figura 21. Diferentes efectos del glutamato, AIDA y AIDA/Glutamato inyectados en CI antes, inmediatamente después de la primera presentación del sabor, a los 15, 30 o 60 minutos durante la AN después.	74
Figura 22. Regiones de la Corteza Insular (CI).	90
Figura 23. Gráfico que muestra la circuitería de la vía gustativa.	93
Figura 24. Gráfico que muestra las aferencias de la vía visceral.	99

V. Índice de Tablas

Tabla 1. Cuadro comparativo de los receptores metabotrópicos de glutamato.	38
Tabla 2. Efectos en la formación de la memoria gustativa al sobre activar los receptores glutamatérgicos en CI a diferentes tiempos, durante la atenuación de la neofobia.	60
Tabla 3. Efectos en la formación de la memoria gustativa al sobre activar los receptores glutamatérgicos en CI a diferentes tiempos, durante la atenuación de la neofobia.	64
Tabla 4. Inhibición de los mGluR I en CI durante la formación de la memoria gustativa aversiva en un modelo de condicionamiento aversivo a los sabores (CAS).	68
Tabla 5. Inhibición de los mGluR I en ABL & en CI durante la formación de la memoria apetitiva en AN.	71

VI. Resumen

Se sabe que el glutamato es el neurotransmisor excitador más abundante en el sistema nervioso central (SNC) de los cordados y que está involucrado en una serie de procesos neuronales como transmisión sináptica, modulación de la excitabilidad neuronal y metabolismo celular, involucrados en gran cantidad de funciones y afecciones del SNC tales como coordinación motora, vigilia, dolor, adicción, aprendizaje y memoria. Los receptores glutamatérgicos se dividen en los que abren canales iónicos (ionotrópicos) y los que activan proteínas G (metabotrópicos); con respecto a los ionotrópicos de glutamato, hay muchas investigaciones que muestran una amplia participación de estos en procesos mnemónicos, sin embargo, hay escasa información sobre lo que acontece con los receptores metabotrópicos de glutamato, a pesar de tener gran relevancia en mecanismos de neuromodulación, neuroprotección, participación en procesos de plasticidad sináptica, formación de la memoria, entre otros.

En este trabajo se estudia como en la corteza insular (CI) denominada también gustativa por estar involucrada en dichos procesos, participan los receptores metabotrópicos de glutamato tipo I (mGluR I) durante la formación y consolidación de la memoria gustativa que es de crucial importancia en los animales para discriminar entre un posible alimento apetecible de uno tóxico y reconocer si dicho alimento es nuevo o ha sido consumido con anterioridad. Se encontró que la micro inyección bilateral de glutamato en CI inmediatamente después de haber consumido el sabor novedoso o media hora después del mismo, aminora la formación de la memoria apetecible, mientras que al impedir la función normal de los receptores mGluR I con el antagonista *(RS)-1- aminoindano-1,5-ácido dicarboxílico* (AIDA), mejora de manera significativa la formación de dicha memoria, mas no de la aversiva. De igual forma, cuando se microinyectan juntos el glutamato y AIDA en los tiempos previamente mencionados, se suprimen los efectos observados previamente. Estos resultados muestran que los mGluR I tienen dos ventanas de acción,

durante la adquisición y consolidación de la memoria gustativa apetecible cuando se suministra en CI y no en amígdala que es una estructura cerebral muy importante en la formación de la memoria gustativa aversiva.

1. INTRODUCCIÓN

El estudio de la neurobiología es un tema fascinante de las ciencias biológicas, solo reconociendo como procesamos la información, podemos saber más a cerca de la evolución de los animales, cómo percibimos el mundo y porqué tenemos conductas tan parecidas con otros animales como “el comer, copular, evitar depredadores y alimentos tóxicos”. Algunas otras tan complejas como la necesidad de crear sociedades, lenguajes, transmitir el conocimiento, racionalizar sobre la inverosimilitud de las cosas, crear guerras, destruirlo todo y volver a comenzar.

Todas nuestras conductas son el resultado de la función cerebral, por ello varias personas se han dado a la tarea de estudiar al cerebro y sus funciones por ejemplo, como aprendemos, como recordamos y por que a veces olvidamos. Los primeros estudios científicos de la memoria fueron realizados por Hermann Ebbinghaus (1885) quien hizo una clasificación de la memoria a partir de la temporalidad para recordar algo. Ramón y Cajal, quien anteriormente había descubierto a las neuronas y la conectividad que éstas tienen a través de las sinapsis, en 1894 propuso que el aprendizaje no produce proliferación de neuronas, pero si causa un crecimiento en las ramificaciones de las neuronas, un incremento en la conectividad y eficiencia de la comunicación entre estas células. En esa misma época otro trabajo muy importante para las neurociencias lo desarrollaba Karl Wernicke. Él encontró que diferentes conductas son controladas por diferentes regiones cerebrales interconectadas por vías neuronales {Kandel E. R. *et al.* 1991}. Años más tarde Ivan Pavlov y Edgar Thorndike desarrollan los primeros experimentos de memoria con animales {Milner B., 1998}. Posteriormente, William James acuña el término de memoria a corto plazo a toda aquella que es mantenida

por varios minutos a horas, y memoria a largo plazo cuando puede ser evocada meses o años después de haber sido adquirida. Por otro lado, Georg Elias Müller y Alfons Pilzecker (1900) demuestran que el aprendizaje no induce una memoria permanente instantáneamente, sino, que requiere de un determinado tiempo para fijarse o ser consolidada. En 1949, en pleno desarrollo de la fisiología, Donald Hebb postula que en la memoria a corto plazo hay una actividad reverberante dentro de la red neuronal, que induce cambios estructurales en las sinapsis y con ello el mantenimiento de la memoria por más tiempo. De igual forma tanto D. Hebb como Karl Lashley llegan a la conclusión ese mismo año que la memoria no reside en un lugar específico, sino que se encuentra distribuido en la red neuronal. Estos datos fueron confirmados a nivel molecular con experimentos de Flexner y colaboradores en 1963; Agranoff & Klinger un año después y Barondes & Cohen en 1966. Quienes demuestran que la memoria a corto plazo no requiere de síntesis de proteínas pero sí la de largo plazo {Lechner H. *et al.* 1999}.

Actualmente se conoce una gran parte de las estructuras cerebrales que participan en un aprendizaje determinado y se están identificando las proteínas y cascadas de señales moleculares involucradas en cambios estructurales o funcionales de las neuronas durante estos procesos.

Para abordar este conocimiento ha sido crucial tanto la observación de los cambios conductuales en personas con alguna alteración neurológica, como el desarrollo de modelos experimentales en animales que no es sino imitar un evento determinado en la vida del animal, bajo condiciones controladas, modificando algunas variables para ver la respuesta diferencial ante un estímulo específicamente. Por ejemplo, para estudiar la memoria espacio-temporal, se ocupa el laberinto de agua de Morris {Bures J, Fenton AA, Kaminsky Y, Zinyuk L. 1997}; para memoria emocional o afectiva, usualmente se utiliza el procedimiento de condicionamiento al miedo {Bermúdez-Rattoni F & Prado A. R. 2001}. En el caso del estudio de la memoria de reconocimiento al sabor se encuentran el condicionamiento aversivo a los sabores, inhibición latente y la atenuación de la neofobia {Bures, J., Bermúdez-Rattoni F. & Yamamoto T. 1998}. Este último tipo de memoria es

indispensable para la sobrevivencia de los animales, puesto que les permite discriminar entre un agente comestible de uno que no lo es o incluso de uno tóxico a partir de previas experiencias ante ese sabor y del recuerdo de sus consecuencias postingestionales.

Para conocer más acerca de la memoria gustativa y los mecanismos moleculares que lo conforman, en esta investigación se estudia la función que tiene un tipo de neurorreceptor en dos estructuras cerebrales que son muy importantes para la codificación de la memoria gustativa. Que serán descritas posteriormente.

Con el objeto de apreciar con mayor detalle la importancia de este tipo de memoria es conveniente hacer mención sobre los conceptos y definiciones de la memoria, así como hacer un recuento de la evolución del sistema gustativo – visceral, y conocer los avances que ha habido en la neurobiología del sistema gustativo y visceral.

1.1. Antecedentes.

1.1.1. Aprendizaje y Memoria.

La memoria y aprendizaje son procesos biológicos muy complejos que por medio de la adquisición de una experiencia, provoca un desencadenamiento de eventos que modifica la actividad a nivel molecular de la neurona, produciendo eventuales cambios en su citoarquitectura, en su comunicación e interacción entre estructuras cerebrales que finaliza con cambios en la conducta del animal.

Para entender el proceso de los sistemas de la memoria y el aprendizaje, es necesario definirlos y reconocer las clasificaciones de la memoria.

El aprendizaje se define como el proceso adaptativo que permite adquirir nuevos conocimientos del entorno, lo cual implica una modificación de la forma de representar a nivel cerebral uno o varios estímulos. La memoria es el proceso de codificación del conocimiento adquirido previamente, integración al sistema neuronal, almacenaje y recuerdo.

La memoria puede clasificarse dependiendo de sus características en:

- En memoria a corto plazo y a largo plazo.
 - Memoria a corto plazo, es una memoria lábil que dura de segundos a horas {Kandel E. R., Schwartz J. H. & Jessell T. M. 1991}.
 - Memoria a largo plazo, es más estable que la de corto plazo, dura horas, meses o años y requiere de síntesis de proteínas para su consolidación {Rosenblum K, Meiri N. & Dudai Y. 1993}, {Bermúdez-Rattoni F & Prado A. R. 2001}, {Kandel E. R., Schwartz J. H. & Jessell T. M. 1991}.
- La memoria de acuerdo a la información que representa, procesos cognoscitivos y las estructuras cerebrales implicadas, se clasifica en:
 - Memoria declarativa, es toda aquella que implica procesos cognoscitivos como evaluación, comparación e inferencia de hechos y eventos en estado de vigilia del animal y es posible verbalizarlo (en personas). Es proposicional y es afectada por amnesia {Squire L. R. & Zola S. M. 1997}. Las estructuras cerebrales cruciales para este tipo de memoria se encuentran en el lóbulo temporal medial y región de la línea media del diencéfalo. En particular, el hipocampo es indispensable para este tipo de memoria.
 - Memoria no declarativa. No es proposicional y rige los cambios en conductas de habilidad y la capacidad para responder apropiadamente a un estímulo a través de la práctica. Este tipo de memoria incluye a la memoria de hábitos, habilidades, habituación, sensibilización, condicionamiento clásico y *priming* o habilidad para detectar o identificar objetos como resultado de recientes encuentros {Squire L. R. 2004}. La memoria no declarativa incluye todo tipo de memorias que no requieren de un proceso cognoscitivo que implique discurrir. Estos tipos de memorias son ampliamente conservadas en todos los animales y no son alteradas por amnesia {Milner B. *et al.* 1998}.

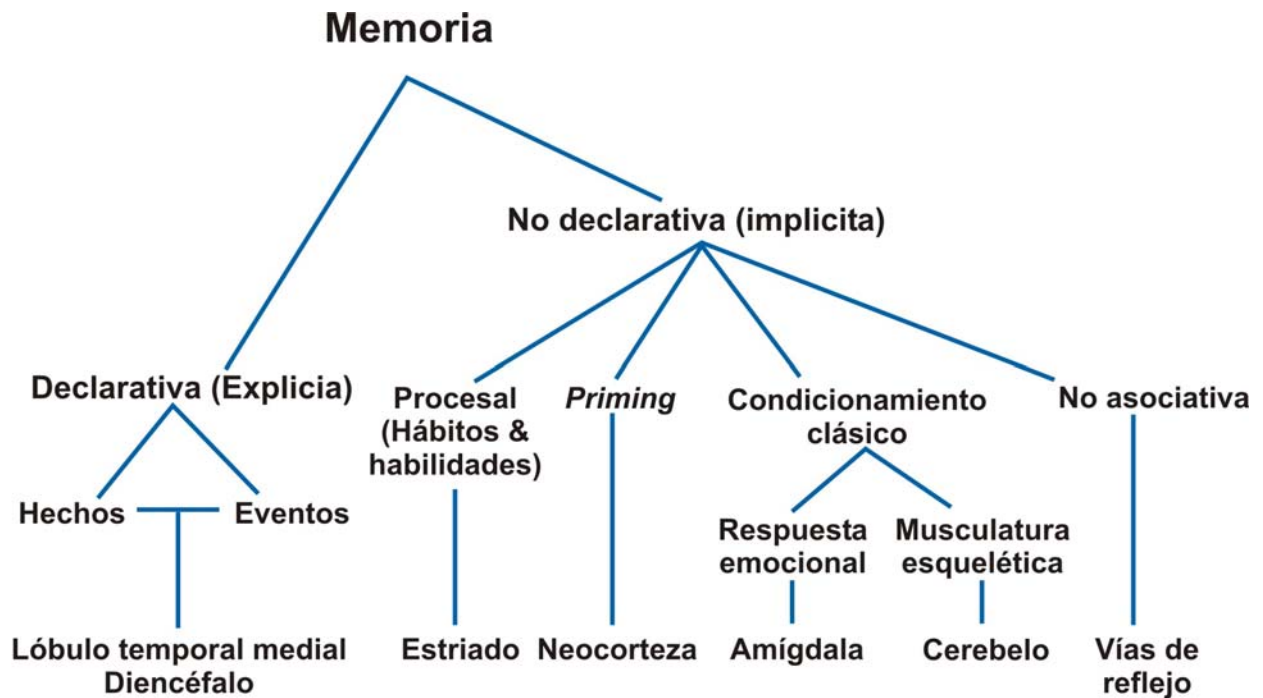


Figura 1. Clasificación de la memoria en mamíferos. División de la memoria y principales estructuras involucradas. Imagen modificada de referencia de "Milner B., Squire L. R. & Kandel E. R. (1998)".

1.1.2. Tipos de memoria.

Memoria no declarativa.

Memoria de habituación, consiste en la disminución de una respuesta ante un estímulo irrelevante presentado en repetidas ocasiones. Conforme el estímulo se hace familiar hay un detrimento de la respuesta.

Sensibilización, por el contrario a la memoria anterior, esta aumenta la respuesta ante un estímulo igual o similar al previamente adquirido. Por lo general ello ocurre por situaciones tensas o nocivas.

Memoria de procedimientos (hábito y habilidades) a partir de la repetición prolongada de una tarea como dibujar o cantar, se adquiere y gradualmente se perfecciona hasta llegar a hacerlo automáticamente. En este tipo de memoria el sistema cortico-estriado tiene un papel muy importante {Squire L. R. & Zola S. M. 1996}.

Condicionamiento clásico o Pavloviano. Se refiere al aprendizaje de asociación de por lo menos dos estímulos, uno incondicionado o natural que es inherente a la conducta del animal y un estímulo condicionado o artificial.

Al ser presentado un estímulo condicionado precedido inmediatamente por el incondicionado se genera la asociación entre estos estímulos, de manera que en subsecuentes presentaciones bastará con la presencia del estímulo condicionado para obtener una respuesta condicionada.

En el caso del condicionamiento aversivo a los sabores, el estímulo condicionado es el alimento y es asociado con el incondicionado, el malestar gástrico, como producto de la ingestión del alimento. Por ende en las subsiguientes exposiciones, la única presentación del alimento producirá una respuesta aversiva (vómito o no ingestión) de dicha comida.

Condicionamiento operante o instrumental. A partir de una conducta espontánea o casual se obtiene un estímulo reforzador, si esta dinámica se mantiene, conducta determinada–obtención de estímulo, el animal asocia estos factores y manipula la respuesta a su propio beneficio. Por ejemplo cuando una rata cada vez que golpea una palanca obtiene alimento, termina por aprender que al mover de una forma determinada la palanca, siempre obtendrá su comida.

Priming o memoria perceptual, según Tulving y Schacter es un cambio en la capacidad para identificar o producir un artículo como resultado de exposiciones previas al mismo {Schacter D. L. & Buckner R. L. 1998}. Se divide en *priming* perceptual y conceptual:

Priming perceptual: es una modalidad específica en la cual la información adquirida (palabras, objetos o patrones) no depende de codificación semántica o episódica de un artículo y las personas con amnesia¹ pueden retenerla.

Priming conceptual: procesamiento de la información que es beneficiada con la codificación semántica. Por ejemplo, categorizar ciertas palabras como plátano, manzana y piña, a partir de una palabra genérica como “Frutas” o como reconocer un mismo objeto con imágenes tomadas de distintos ángulos o asociar nuevas caras con nombres. Estos tipos de memoria pueden ser afectados o no por lesiones cerebrales en estructuras que son cruciales para la memoria declarativa, es decir en la región temporo-medial y diencefalo. Las

¹Amnesia, pérdida de la memoria.

estructuras cerebrales importantes para los *priming* se localizan primordialmente en el lóbulo temporal medial ventral como corteza temporal inferior (área TE, perirhinal y entorhinal), así como de la corteza prefrontal, insular y región occipitotemporal ventral {Wiggs C. L. & Martin A. 1998}, {Schacter D. L. & Buckner R. L. 1998}.

La memoria declarativa puede ser dividida en dos subgrupos, memoria episódica y semántica. Memoria episódica, es la memoria que mantiene información específica de la historia de vida del organismo, es decir, eventos o episodios que ha experimentado en su devenir. Es un proceso complejo que hace la representación de un evento a partir de contextualizar toda la información sensorial obtenida en ese momento. En tanto que la memoria semántica se refiere al conocimiento de las cosas, incluyendo el significado del vocabulario, conceptos y hechos. Por lo tanto es esencial para la formación del lenguaje, comprensión, lectura y escritura, así como reconocimiento de objetos y de caras {Hodges J. R. & Graham K. S. 2001}.

A nivel neurobiológico, se sabe que existen regiones neuronales con ciertos atributos, los cuales se encuentran interconectados con otros circuitos neuronales que en su conjunto permiten el desarrollo de una respuesta ante un estímulo determinado.

Por ejemplo, el neocórtex y el caudado son importantes para algunos tipos de memorias cuyo aprendizaje es gradual, como la memoria de hábitos y habilidades, la amígdala para cuestiones de afecto y recompensa, el cerebelo es esencial para el aprendizaje del condicionamiento al guiño del ojo, la neocórtex en *priming* y el lóbulo temporal medial en la memoria declarativa {Squire L. R. 2004}, {Kesner R. P. & Rogers J. 2004}.

1.1.3. Fases de la memoria

La memoria por su temporalidad se divide en:

- Memoria a Corto Plazo. Desempeño de una respuesta inmediata ante circunstancias parecidas a las ya experimentadas.

- Memoria a largo plazo. Propiedad de recordar y evocar información familiar basada en la flexibilidad, acción y patrones de complementación. Para su formación y consolidación requiere de síntesis de proteínas, proceso que tarda experimentalmente alrededor de ocho horas.

Las fases de la memoria son las siguientes:

- Adquisición. Proceso de atención selectiva ante un estímulo, obtención de nueva información.
- Consolidación. Desarrollo de la perpetuación de un aprendizaje por días, meses o años a partir del paso de una memoria a corto plazo a una de largo mediante síntesis proteica.
- Evocación. Proceso de traer el recuerdo.
- Reconsolidación. Proceso dinámico de asimilar experiencias previas al mismo tiempo que son evocadas {Squire L. R. 2004}, {Kesner R. P. & Rogers J. 2004}, también requiere de síntesis proteica.

1.1.4. Memoria gustativa.

Los animales tienen la capacidad para discriminar entre una posible fuente energética de una que no lo sea o incluso de un agente tóxico. Este carácter es ampliamente conservado y se presenta tanto en invertebrados como vertebrados; por lo que se considera que surgió hace 500 millones de años {Bures, J., Bermúdez-Rattoni F. & Yamamoto T., 1998}, en el periodo Ediacarínico (Precámbrico, Proterozoico tardío); prácticamente en la primera radiación de los Metazoarios {Brusca R. C. & Brusca G. J., 2005}.

Este tipo de conducta es conocida como neofobia o mejor dicho hiponeofagia (bajo consumo de sabores nuevos). Dicha capacidad innata consiste en el reconocimiento de las características físicas y químicas de los nuevos posibles nutrimentos a partir de un consumo moderado en las primeras ocasiones y si esto no tiene repercusión alguna y tiene buen sabor

(entre otras características físicas), será recordado como un alimento apetecible y su consumo será incrementado en subsecuentes presentaciones.

Por el contrario, si el alimento provoca molestias gástricas o algún síntoma de intoxicación, desarrollará en el sistema neuronal una aversión a ese sabor, como se puede observar en la figura 2.

1.1.4.1. *Memoria gustativa aversiva.*

La memoria gustativa aversiva fue descrita por John García y colaboradores en 1955 {resumido por Bures, J., Bermúdez-Rattoni F. & Yamamoto T., 1998}. Consiste en el cambio del valor hedónico² (emocional) positivo de un sabor apetecible (estímulo condicionado) a uno negativo (repugnante o aversivo) a partir del malestar gástrico o sistémico (estímulo incondicionado) que este produzca una vez deglutido {de la Torre-Vacas L & Agüero-Zapata A., 2006}. De tal forma que hay una asociación entre el estímulo condicionado con el incondicionado. A esto se le conoce también como condicionamiento aversivo a los sabores (CAS) {Bures, J., Bermúdez-Rattoni F. & Yamamoto T., 1998}. El grado de aversión es mayor cuando el malestar se manifiesta unos minutos u horas (1 a menos de 24h) después de la ingestión y conforme va aumentando el lapso de tiempo entre ambos factores, el grado de asociación disminuye y por ende el reconocimiento de las características tóxicas del alimento {Nachman M. & Jones D. R., 1974}, {Gutiérrez R, *et al.* 2003a}. Lo cual sugiere que la información gustativa permanece un tiempo relativamente largo en la memoria a corto plazo, hasta que se reintegra con la información visceral proveniente del nervio vago y vía hemática, que permitirá registrar al estímulo gustativo nuevo como uno familiar benéfico, perjudicial o neutro {Bures, J., Bermúdez-Rattoni F. & Yamamoto T., 1998}.

² Valor hedónico. Cambio de las características inherentes del estímulo gustativo, agradable o desagradable que determinará la respuesta conductual del animal.

1.1.4.2. Memoria gustativa apetecible.

Paradigma conductual descrito por Siegel 1974 y Domjan, 1977. Observaron que los animales al presentárseles un alimento que nunca antes habían probado que en principio puede o no ser apetecible y dependiendo de los beneficios que aporte, tales como características nutrientes, organolépticas apetecibles, sensaciones agradables y/o ausencia de malestar provocado por su ingestión. El animal le otorga un valor hedónico positivo, reconociéndolo como apetecible (agradable o seguro). De forma experimental esto se observa como un incremento en su ingesta en subsecuentes exposiciones. A este fenómeno se le denomina atenuación de la neofobia (AN) {Bures, J., Bermúdez-Rattoni F. & Yamamoto T., 1998}, {Gutiérrez R, *et al.* 2003a}. En condiciones controladas en laboratorio, se ha observado que para el reconocimiento de un sabor nuevo como apetecible, a diferencia del largo lapso de tiempo de la memoria aversiva a los sabores, en esta se registra en menos de 6 horas de haberlo probado por vez primera {Nachman M. & Jones D. R., 1974}, {Gutiérrez R, *et al.* 2003a}.

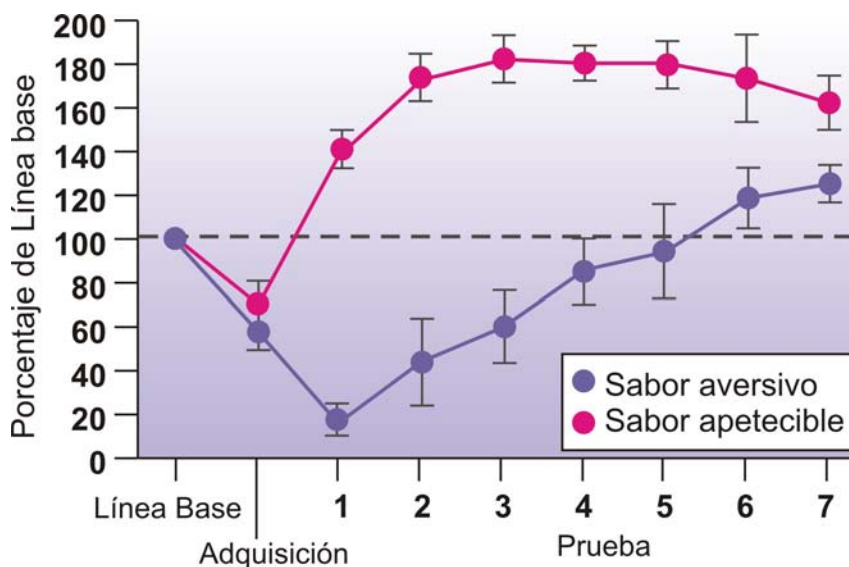


Figura 2. . Condicionamiento aversivo a los sabores (CAS) vs Atenuación de la Neofobia (AN). Se presenta el porcentaje de consumo de un sabor novedoso con respecto al consumo normal de agua. La grafica muestra un decremento de la ingesta durante la primera exposición del sabor nuevo y posteriormente, si el sabor tiene repercusiones gástricas hay una disminución del consumo, pero si no produce ningún malestar, en el día de la prueba incrementa la ingesta y conforme se va volviendo familiar tiende a extinguirse la conducta hasta obtener valores parecidos al consumo de agua. Imagen perteneciente a la referencia "Bermúdez-Rattoni F. 2004a"

Ambas tareas conductuales han sido de gran utilidad para conocer algunos de los mecanismos de la memoria debido a que se conocen las vías de ascenso y descenso de la información gustativa y visceral.

1.1.5. Sistema Gustativo (Sistema Nervioso Periférico).

1.1.5.1. Botones Gustativos en mamíferos.

Los botones gustativos, como se muestra en la figura 3, son conjuntos de células con receptores quimiosensoriales protegidas por células de soporte embebidas en un epitelio multilaminar o estratificado. Estas registran la cualidad y concentración del alimento. Se originan en el ectodermo o endodermo del epitelio local de la cavidad orofaríngea {Northcutt R. G. 2004}, y están constituidas por las siguientes células:

Están constituidas por cuatro tipos diferentes de células.

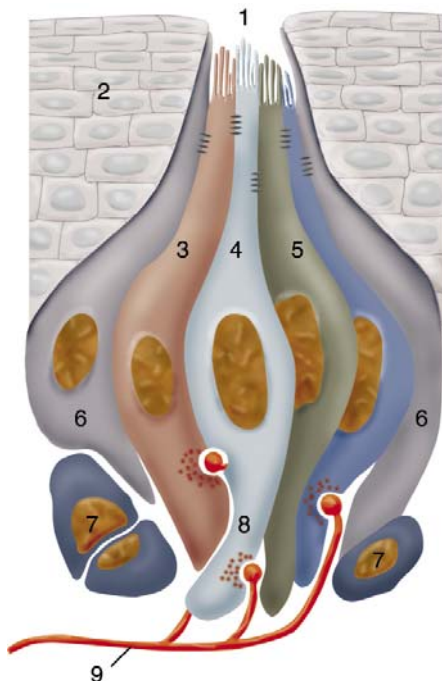


Figura 3. Botón gustativo.

- 1) Poro gustativo
- 2) Epitelio de la lengua
- 3) Célula gustativa intermedia (tipo III)
- 4) Célula gustativa clara (tipo II)
- 5) Célula oscura (tipo I)
- 6) Célula sustentacular
- 7) Célula basal (tipo IV)
- 8) Sinapsis de la fibra gustativa
- 9) Aferencia de la fibra gustativa

Tomada de la referencia "Csillag A. (2005)"

- Las células tipo I o células oscuras por su gran afinidad a tinciones basofílicas, son alargadas, angostas y extendidas desde la base del botón hasta el ápice del poro gustativo. Tienen una función secretora de una sustancia amorfa encontrada en los poros gustativos. También puede funcionar como célula de aislamiento y nutrición y como fagocito {Simon S. A. & Roper S. D. 1993}. En algunos casos pueden tener contactos sinápticos y por tanto funcionar como células sensoriales secundarias.

- Las células tipo II o células claras por su poca o nula afinidad a tinciones basofílicas y tipo III o intermedias. Ambos grupos celulares son alargados y se extienden por la base del botón al poro gustativo, tienen contactos sinápticos con fibras nerviosas, presentan microvellosidades en la región apical del poro, en estas microvellosidades se encuentran los receptores quimiosensoriales.

- Las células tipo IV o basales, son ovaladas o planas, se localizan en la base del botón en la lámina basal que separa el epitelio de la lámina subyacente. Se consideran como las células precursoras de los otros tipos celulares. En algunos vertebrados estas tienen protuberancias que se extienden hasta el plexo de aferencias nerviosas y es posible que tengan una participación como interneuronas.

Los botones están protegidos por células marginales, células epiteliales periféricas y se encuentran en la cavidad oral, distribuidas libremente en el epitelio, con excepción de la lengua, donde están mantenidas en papilas {Csillag A., 2005}.

Las papilas por su morfología se dividen en papilas filiformes (únicas que no presentan botones gustativos), fungiformes, foliadas y circunvaladas, ver figura 4.

Las papilas filiformes se hallan en la región dorsal, fungiformes las dos terceras partes antero-lateral de la lengua, las foliadas en la región postero-lateral de la lengua y las circunvaladas están situadas en la parte posterior dorsal de la lengua.

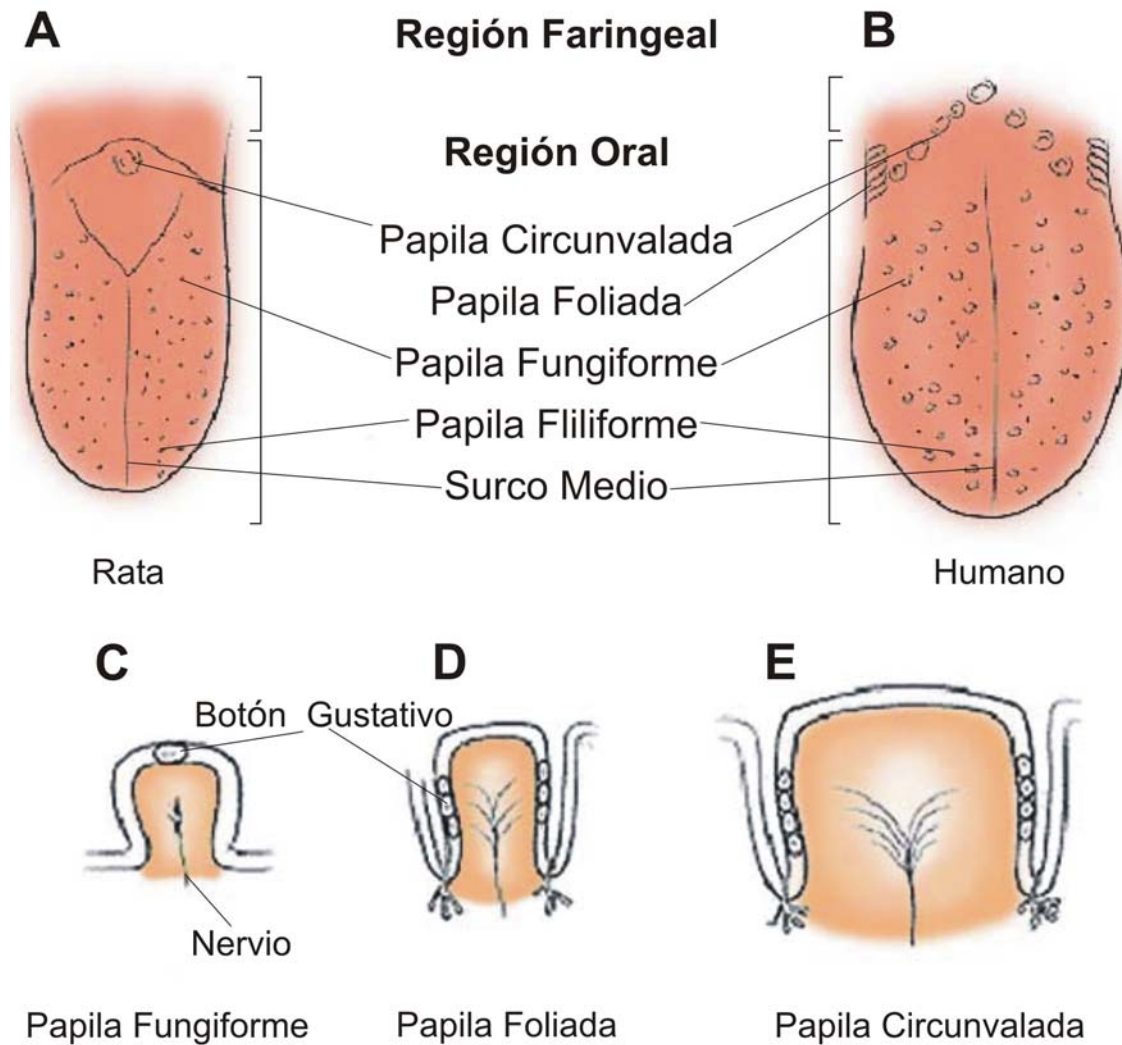


Figura 4. Papilas gustativas

El esquema muestra las papilas gustativas y su organización en la lengua de rata y humano. A) Lengua de ratón parte oral y faríngea y la eminencia intermolar de la lengua. B) Lengua de humano. C) Papila fungiforme. D) Papila foliada. E) Papila circunvalada. Imagen reproducida de la referencia "Jung HS, Akita K & Kim JY. 2004".

1.1.5.2. Receptores del sabor.

Hasta ahora, por lo menos se conocen tres tipos de receptores específicos del sabor asociados a proteínas G y tienen una localización diferencial en las papilas gustativas. También se encuentran canales iónicos que pueden enviar información de sabores salados y ácidos.

Entre los receptores asociados a proteínas G, están los receptores gustativos tipo T1Rs (por sus siglas en inglés), se encuentran principalmente en papilas fungiformes frontales de la lengua y paladar (son sensibles a calcio

y a feromonas); Los receptores T1R2, se encuentran principalmente en la región trasera y debajo de la lengua, en papilas foliadas y circunvaladas; Y los T1R3 se distribuyen en todas las papilas gustativas.

Los receptores son heterodiméricos y se expresan de la siguiente forma:

- T1R1+T1R3 Responden a L-aminoácidos, *umami* y a distintos sabores encontrados en la carne.
- T1R2+T1R3 Son necesarios para la discriminación de sabores dulces tanto naturales como artificiales.
- T1R3+T1R3 Detectan sabores dulces.

Existen otros receptores denominados T2R que tienen más de 30 variedades de receptores y cuya peculiaridad es detectar los sabores amargos.

Dependiendo de la coexistencia de dos o más formas genéticas de receptores en una misma célula gustativa provocará una apreciación distinta de las características de los alimentos {James P. 2004}.

La información de sabores salados es transmitida por canales iónicos de sodio, denominados canales de sodio epitelial (ENaC) {Stuart A. *et al.* 1998} y dependiendo del tipo de sal, pueden percibirse como salado, amargo, metálico o astringente {Simon SA, *et al.*, 2006}. De igual modo, los sabores ácidos son detectados por canales iónicos llamados receptores potenciales transitorios (TRP, por sus siglas en ingles) {Simon SA, *et al.*, 2006}.

Estas señales son transportadas de la región orofacial al cerebro a través de los siguientes pares de nervios craneales.

1.1.5.3. Pares de Nervios Craneales.

Los nervios craneales involucrados en la detección del sabor terminan en el Núcleo del Tracto Solitario.

Estos son:

- El nervio facial (VII) ramificación Cuerda del tímpano e intermediario de *Wrisberg*.
- Nervio trigémino (V) rama lingual-tonsilar y rama Petroso mayor superficial.

- Nervio glossofaríngeo (IX)
- Nervio vago (X), ramificación nervio laríngeo superior.

La información gustativa llega al nervio facial a partir de las ramificaciones de la Cuerda del tímpano a través del ganglio ótico del nervio petroso mayor superficial y del nervio lingual (perteneciente a la tercera división del nervio trigémino) inervan a las papilas fungiformes de la región rostral (2/3 partes) de la lengua {Saper C. B. 2002}.

El nervio facial por medio de la rama petroso mayor superficial a través del ganglio pterigopalatino inerva pequeñas subpoblaciones de botones gustativos de la pared bucal, órgano sublingual y algunas papilas foliadas. {Sydney A. *et al.* 1993}, {Paxinos G. & Watson C. 1995}.

El Nervio Glossofaríngeo, cuyos cuerpos neuronales se encuentran en el ganglio geniculado, inerva también a la parte posterior de la lengua y parte de la región orofaríngea teniendo contacto con la mayoría de los receptores gustativos de las papilas foliadas y a todas las circunvaladas. Este nervio termina en la parte más caudal de la región rostral y medial del Nervio del Tracto Solitario (NTS) {Paxinos G. & Watson C. 1995} extendiéndose al área postrema {Bures, J. *et al.* 1998}.

También existen poblaciones de botones gustativos en el paladar duro y suave, faringe y laringe. Los receptores localizados en la faringe y laringe son inervados por axones de la rama del nervio vago laríngeo superior; en tanto, el paladar duro, suave y la parte anterior de la lengua son inervados por la rama del nervio facial, nervio intermediario de *Wrisberg* que tiene sus cuerpos neuronales también en el ganglio geniculado {Paxinos G. & Watson C. 1995}. La rama de la laringe superior del nervio vago finaliza en la región caudal del NTS superponiéndose con los axones provenientes de la parte caudal de la lengua; en tanto, el intermediario de *Wrisberg* termina densamente en la región rostral del NTS {Paxinos G. & Watson C. 1995}, {Cliffor B. Saper, 2002}.

1.1.6. Sistema Gustativo (Sistema Nervioso Central).

La información gustativa viaja del NTS al Núcleo Parabraquial (NPB) región gustativa o *Waist*, el cual es considerado como la primera estructura cerebral donde se lleva a cabo la interacción entre el estímulo gustativo y el visceral. Este núcleo transporta la información por dos rutas, por el sistema talámico y por el límbico. Por el primero, manda la señal al núcleo talámico ventroposteromedial región *parvicellular* (tálamo gustativo) y al núcleo parasubtalámico que a su vez la transporta a la CI. Por el sistema límbico proyecta a la amígdala central (ACe) que tiene intercomunicación con la ABL y se conectan con la región disgranular de CI, quien manda proyecciones a la corteza orbitofrontal, considerada como la corteza gustativa secundaria (ver figura 5). Para mayor información, favor de revisar el apéndice I, de vías gustativas.

1.1.7. Vía del procesamiento de la información visceral.

El SNC obtiene información visceral a través de dos rutas: por medio del nervio vago y por vía hemática; la primera, tiene proyecciones al NTS; la segunda al área postrema, que a su vez proyecta para NTS y para NPB. El NTS manda la información visceral al NPB, al sistema límbico (amígdala) y al hipotálamo medial región *parvicellular* y lateral paraventricular. El NPB envía también a dichas regiones del hipotálamo y al tálamo ventro-postero lateral región *parvicellular* o tálamo visceral y a la ACe, quien tiene comunicación retroactiva con ABL y estas directa o indirectamente embocan sus axones a la región agranular de la CI {Paxinos G. & Watson C., 1995}. Para una descripción más detallada de la vía visceral, se recomienda revisar el apéndice II, de vía visceral del presente trabajo y ver la figura 5.

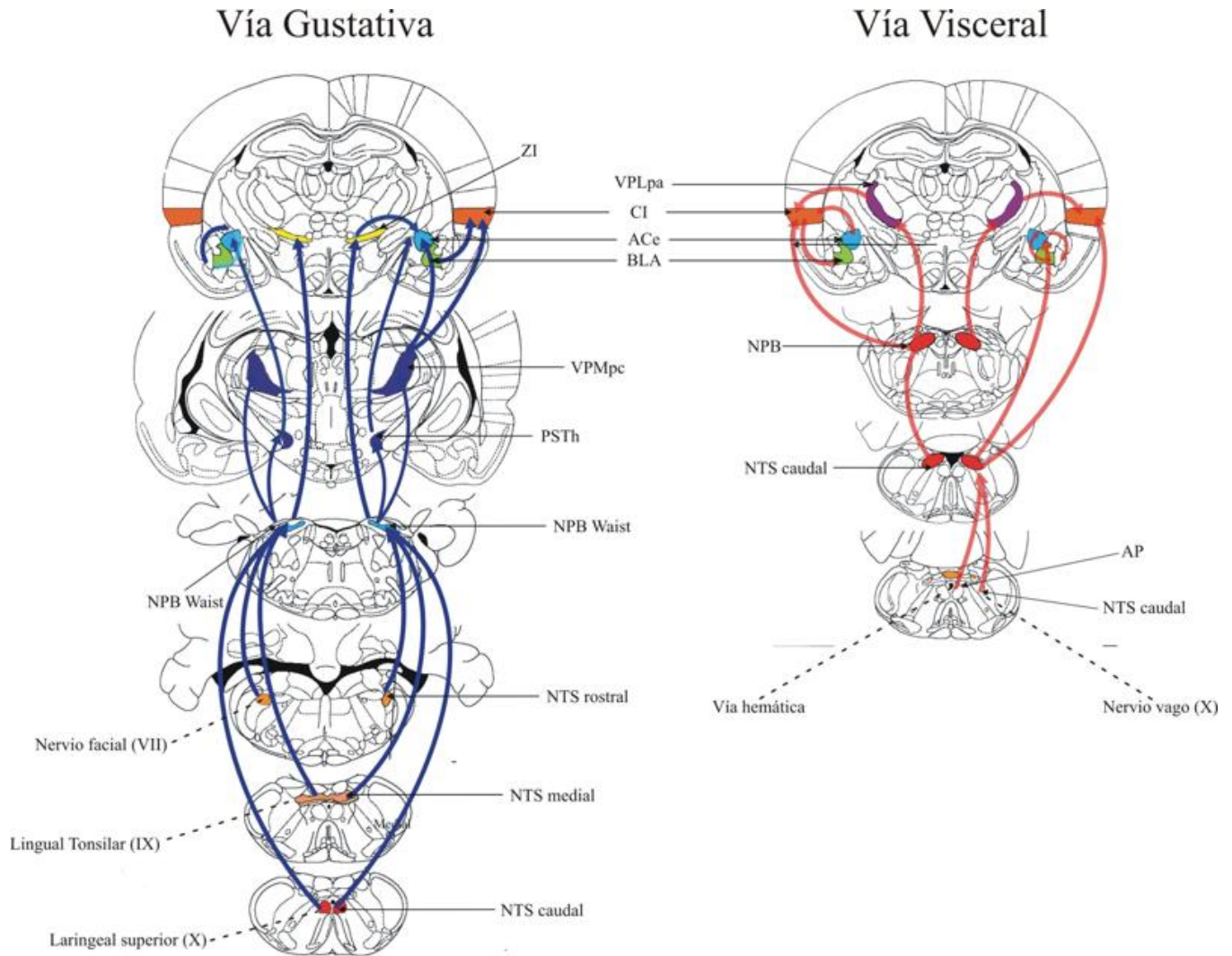


Figura 5. Vías del Procesamiento de Información Gustativa y Visceral.

NTS, núcleo del tracto solitario; NPB, núcleo parabraquial; PSTh, núcleo parasubtalámico; VPMpc, tálamo ventroposteromedial *parvicellular*; ABL, amígdala basolateral; ACe, amígdala central; CI, corteza insular; ZI, zona inserta; VPLpa, tálamo ventroposterolateral *parvicellular*; AP, área postrema. Las líneas punteadas muestran la entrada de la información al sistema nervioso central.

1.2. Neurotransmisores y receptores involucrados en la memoria gustativa.

Investigaciones recientes muestran que algunos neurotransmisores están ampliamente involucrados en la memoria gustativa. Dos de ellos son la Acetilcolina (ACh) y el Glutamato.

1.2.1. Acetilcolina.

La acetilcolina (ACh) es un neurotransmisor ampliamente estudiado, cuya participación es crucial en la conducta animal, puesto que está involucrado en procesos fisiológicos como la locomoción, nocicepción, atención, ansiedad, sueño, adicción, aprendizaje y memoria {Kandel E. R., Schwartz J. H. & Jessell T. M., 1991}, {Siegel G. J. 1994}. En la memoria gustativa, la liberación de acetilcolina en corteza cerebral proveniente del núcleo *Basalis Magnocellularis* (NBM), tienen un papel crucial, particularmente durante la detección del estímulo novedoso y por ende en la formación de la memoria gustativa (cuando se libera en CI), mas no en la evocación de la misma {Miranda M. I. & Bermudez-Rattoni F. 1999}. Se ha observado que ante la detección de un nuevo sabor, hay liberación de ACh en CI y conforme se hace familiar dicho sabor, disminuye la liberación del neurotransmisor {Miranda M. I. *et al.* 2000}.

La ACh presenta dos tipos de receptores, los muscarínicos y los nicotínicos; en el SNC se encuentran los siguientes receptores nicotínicos: $\alpha_2 - \alpha_{10}$ y los $\beta_2 - \beta_5$ {Siegel G. J. 1994} que pueden formar diferentes combinaciones y los α_7 a α_{10} pueden formar homómeros. Dichos receptores tienen amplia distribución en el cerebro, sin embargo el que se encuentra con mayor abundancia en estructuras que son parte de la vía gustativo – visceral son los heterómeros α_4/β_2 en tallo cerebral, amígdala, vía tálamo – cortical y corteza cerebral y $\alpha_4/\beta_2/\alpha_6/\beta_3$ en área ventral tegmental (VTA) y núcleo *acumbens* {Siegel G. J. 1994}.

Estudios realizados por Laviolette & van der Kooy muestran que microinfusiones de nicotina en VTA pueden producir tanto aversión, como preferencia a un lugar según la concentración. A baja concentración produce aversión, mientras que a una concentración alta producen lo contrario. {Laviolette S. R. & van der Kooy D. 2004}. En amígdala, el bloqueo a los receptores nicotínicos con mecamilamina (un antagonista específico para estos receptores), evita el aprendizaje de tareas implicadas en la memoria de

referencia, como es el caso de la prevención pasiva, lo que sugiere que receptores nicotínicos en amígdala pueden ser moduladores de esta memoria.

Los receptores muscarínicos de acuerdo a su homología en la secuencia de aminoácidos se clasifican en $M_1 - M_5$. Los receptores M_1 , M_3 y M_5 están acoplados a proteínas $G_{q/11}$ que activan la hidrólisis de fosfoinosítidos y la movilización de calcio; los M_2 y M_4 están acopladas con proteínas $G_{i/o}$ por tanto disminuyen la actividad de la enzima adenilato ciclasa {resumido por Hornigold DC. *et al.* 2003}.

Los receptores muscarínicos tienen una localización diferencial en las neuronas, en las terminaciones presinápticas se encuentran los receptores M_2 y M_4 que funcionan como autorreceptores y controlan la liberación de ACh, en tanto, los M_1 , M_3 y M_5 se localizan en la postsinapsis {resumido por Porter A. C. *et al.* 2002}. Estudios realizados por Ramírez-Lugo y colaboradores en 2003, muestran que los receptores muscarínicos postsinápticos son importantes para la adquisición del CAS en CI. El bloqueo de estos receptores con pirenzepina (antagonista selectivo para M_1 y M_3), o escopolamina (antagonista muscarínico inespecífico) durante la adquisición del CAS, abaten el aprendizaje; por el contrario cuando se microinyectan el día de la prueba no producen efecto alguno en la evocación de esta tarea {Ramírez-Lugo L. *et al.* 2003}.

Con respecto a la acción de los receptores muscarínicos presinápticos, la microinyección en CI del antagonista específico para M_2 (AFDX-116) no altera la conducta aún cuando incrementa la liberación de ACh en dicha corteza {Ramírez-Lugo L. *et al.* 2003}. Los receptores muscarínicos están implicados en procesos de memoria gustativo-aversiva tanto a corto como a largo plazo; Ferreira y colaboradores demuestran esto en el año 2002 que al microinyectar escopolamina en CI, antes de la presentación del estímulo novedoso e inmediatamente después del mismo. Ello abate la formación del CAS en el primer caso, pero no cuando se inyecta inmediatamente después {Ferreira G. *et al.* 2002}.

Para la memoria gustativa apetecible (atenuación de la neofobia), los receptores muscarínicos son esenciales tanto para la adquisición como para la consolidación de esta tarea. Gutiérrez y colaboradores demuestran que el bloqueo sobre los receptores muscarínicos con escopolamina en CI antes o inmediatamente después de la presentación del sabor novedoso, evita la atenuación de la neofobia, pero deja intacta la detección del sabor y no altera la capacidad del organismo de ingestión {Gutiérrez R *et al.* 2003a}. Por lo tanto, cuando se le vuelve a presentar el alimento (en un intervalo de 0 a 3 días), el animal consume poco como si fuera la primera vez que lo prueba; es decir, afecta la consolidación de la memoria.

Cabe destacar que los receptores muscarínicos ante un estímulo gustativo novedoso en CI activan a la proteína cinasa C (PKC) que a su vez fosforila a la cinasa de respuesta extracelular (ERK 1/2) {Berman DE, *et al.*, 1998}. ERK 1/2 activa a la proteína de unión de respuesta del AMPc (CREB por sus siglas en inglés) posibilitando la síntesis protéica para la formación de la memoria gustativa a largo plazo {resumido por Bermúdez-Rattoni F. 2004}. En la figura 6 se observa la vía de señales intracelulares acaecida en las neuronas de CI, provocada por estimulación ante un sabor nuevo.

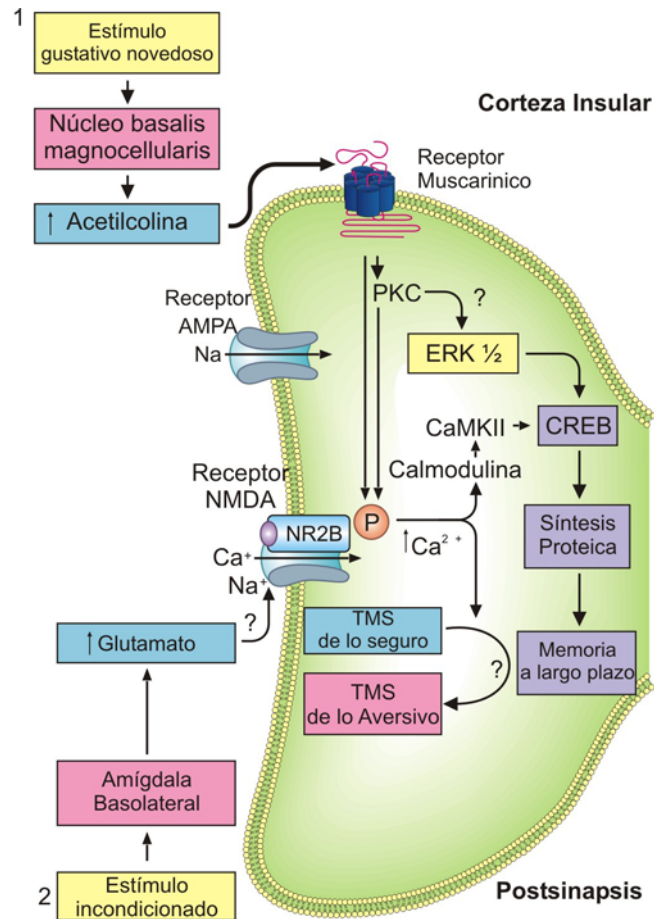


Figura 6. Integración de la memoria gustativa en corteza insular (CI).

La memoria gustativa apetecible es inducida por la liberación de acetilcolina proveniente del núcleo basal magnocellular (NBM) a CI. La activación de los receptores muscarínicos produce fosforilación de la subunidad NR2B del receptor NMDA que decae cuando el sabor se vuelve familiar. Los receptores muscarínicos producen una cascada de señales intracelulares que finaliza en la síntesis proteica y con ello la formación de la memoria gustativa apetecible a largo plazo (MLP). La información visceral arriba a la CI por medio de la liberación de glutamato en ABL y en la misma corteza proveniente de ABL, una vez presentado el estímulo incondicionado. La fosforilación de NR2B facilita la respuesta del estímulo aversivo y modifica de una memoria gustativa apetecible a una aversiva. Imagen modificada de la referencia: "Bermúdez-Rattoni F. 2004a".

1.2.2. Serotonina.

Las células serotoninérgicas se encuentran en la línea media del tallo cerebral, principalmente en el núcleo de Raphe, que tiene proyecciones prácticamente a todo el cerebro, de las cuales las fibras ascendentes dorsal y medial llevan la información a la neocorteza, a la región lateral de la corteza frontal y a la amígdala {Brailowsky S., 2002}.

Se sabe que las familias de receptores serotoninérgicos 5-HT₁ y 5-HT₂ modifican la conducta de ingesta. Los 5-HT_{1C} y los 5-HT_{1B} incrementan el estado de saciedad en ratas, mientras que los 5-HT_{2A} producen hipofagia {Kitchener SJ & Dourish CT, 1994}. El equipo de De Vry en el año 2000 publicó un estudio realizados en ratas bajo un modelo de CAS donde corrobora que la inhibición de 5-HT_{1/2} mediante varios antagonistas serotoninérgicos, de los cuales resalta la acción del fármaco *1-[2,5-dimetoxi-4-iodofenil]-2-aminopropano* (DOI), antagonista para 5-HT_{2A/AC}, inyectados intraperitro (ip) posterior al consumo del sabor nuevo, producen aversión a dicho sabor; posiblemente porque inducen malestar a partir de la activación de mecanismos eméticos. {De Vry J, *et al.*, 2000}. Mientras que el uso sistémico de agonistas serotoninérgicos 5-HT_{1A} atenúan el CAS y este último, puede ser provocado por inhibidores de la óxido nítrico sintasa, que fungen como estímulo aversivo {Wegener G. *et al.*, 2001}. Sin embargo, en otros laboratorios encuentran que antagonistas serotoninérgicos ip, bloquean el CAS {Gorzalka B, *et al.*, 2003}. Investigaciones realizadas con microdiálisis en NPB revelan que los niveles de 5-HT extracelular en esta estructura, aumentan considerablemente después de la estimulación con un sabor novedoso, es decir este neurotransmisor está involucrado en el procesamiento del estímulo gustativo novedoso y posiblemente esté implicado en la regulación de la ansiedad puesto que también se incrementan los niveles de liberación después de inducir dolor abdominal, pero no cuando se parean los dos estímulos {Zach P, Krivanek J, Vales K., 2006}.

1.2.3. Catecolaminas

Investigaciones recientes muestran que los receptores de noradrenalina, adrenalina y dopamina están involucrados en la formación y consolidación de varios tipos de memoria. Cuando se microinyectan los agonistas de norepinefrina o de receptores β-adrenérgicos en ABL, se mejora la consolidación de varias tareas mnemónicas como inhibición latente {Ferry B. & McGaugh JL. 1999} y tareas espaciales {Hatfield T. & McGaugh JL. 1999};

en tanto, si son inhibidos los receptores β -adrenérgicos, repercute negativamente en la consolidación de dichas memorias.

Con respecto a la memoria gustativa, la noradrenalina en ABL es necesaria para el aprendizaje del CAS {resumido por Yamamoto T. *et al.*, 1998}; en particular, los receptores β -adrenérgicos son necesarios durante la asociación entre el estímulo gustativo con el visceral y en la consolidación del CAS, ello se observa al microinyectar un antagonista de los receptores β -adrenérgicos, propanolol, de forma bilateral a una concentración de $1\mu\text{g}/0.2\mu\text{l}$ {Miranda MI, *et al.*, 2003}. Mientras que en CI, Berman y colaboradores, encuentran un significativo abatimiento en la adquisición memoria gustativa cuando se microinyecta propanolol a una concentración alta ($20\mu\text{g}/1\mu\text{l}$) en CI durante el CAS y la inhibición latente (20 minutos antes de la presentación del sabor novedoso en ambos) {Berman *et al.*, 2000}; No obstante, a bajas concentraciones ($2.5\mu\text{g}/1\mu\text{l}$), cinco minutos previos a la primer exposición del estímulo gustativo novedoso, Miranda y colaboradores, no registran afectación alguna en el desempeño del CAS en esta misma estructura {Miranda MI, *et al.*, 2008}. Con respecto a la AN, el propanolol microinyectado tanto en ABL como en CI a dosis baja impide el desarrollo de la tarea {Miranda MI, *et al.*, 2008}.

1.2.4. Dopamina

El sistema dopaminérgico mesolímbico se activa ante un estímulo de recompensa como es el caso de saborear un alimento grato, sin embargo, estudios recientes muestran que los receptores dopaminérgicos están más involucrados en el estado de anticipación o expectación ante un alimento, que en la palatabilidad del mismo {Barbano MF & Cador M. 2007}. Investigaciones realizadas por el grupo de Zito y colaboradores en 1988, muestran que el CAS es abatido cuando se eliminan las células dopaminérgicas en CI mediante el uso de *6 hidroxidopamina* (6-OHDA) o cuando son inhibidas por el bloqueador *α -flupenthixol* {Zito KA, *et al.*, 1988}. De igual forma, cuando se inhiben temporalmente los receptores D1/D5 con el antagonista *R(1)-7-chloro-8-hidroxi-3-metil-1-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1H-3-benzazepina hidrohloride* (SCH) 20

minutos antes de la presentación del sabor nuevo, se bloquea el CAS así como la inhibición latente, un tipo de aprendizaje en el cual un sabor novedoso apetecible se vuelve aversivo en subsecuentes presentaciones {Berman DE, *et al.*, 2000}. En contraste, el grupo de Fenu, encuentra en la región laminar del núcleo *accumbens*, que la inhibición específica de los receptores D1 durante la asociación de un estímulo gustativo novedoso (estímulo condicionado) y malestar gástrico (estímulo incondicionado) irrumpe la formación del CAS {Fenu S, Bassareo V & Di Chiara G. 2001}. Lo que sugiere que estos receptores son importantes tanto para la adquisición y asociación de la memoria aversiva y la adquisición de la memoria incidental (inhibición latente).

1.2.5. GABA

Se sabe que los neurotransmisores inhibitorios como GABA, tienen una participación importante en el CAS. La inhibición de GABA_A por medio de un antagonista benzodiazepina (midazolam) en ABL, produce alteraciones reversibles en la evocación de la memoria {Yasoshima Y, Yamamoto T & Kobayashi K. 2005}. También afecta la extinción de dicha tarea al tratarse con muscimol, otro agonista GABAérgico_{A/C} en la amígdala {Akirav I., 2007}. En CI el mismo antagonista perturba tanto la adquisición como la evocación del CAS y la formación de la inhibición latente {Berman *et al.*, 2000}. Mientras que los receptores GABA_B se han encontrado que están involucrados en diferentes fases del CAS. Los GABA_{B (1a)} en la adquisición y los GABA_{B (1b)} durante la extinción de la memoria {Jacobson LH, *et al.*, 2006}.

1.3. Glutamato.

El glutamato es un aminoácido de vital importancia en todos los organismos, puesto que es parte esencial de las proteínas, participa en la mayoría de las vías metabólicas e incluso funge como neurotransmisor excitador en el SNC.

Dicho aminoácido se ha considerado como el principal neurotransmisor excitador en el cerebro, prioritariamente en mamíferos y tiene un papel muy importante en procesos de plasticidad neuronal y en diferentes eventos de adquisición, consolidación y evocación de la memoria.

Los receptores glutamatérgicos se clasifican en ionotrópicos (forman canales iónicos) y metabotrópicos, receptores transmembranales asociados a proteínas cuya conformación heterotrimérica se disocia por cambio de GDP a GTP (proteína G).

1.3.1. Receptores ionotrópicos de glutamato.

Los receptores ionotrópicos como su nombre lo indica, son canales iónicos. Tienen una historia evolutiva muy amplia, puesto que comparten homología con secuencias de transportadores de aminoácidos periplasmáticos bacteriales y con transportadores de péptidos en plantas que son sensibles al glutamato y que están involucrados en la respuesta fótica {Lam H. M. *et al.*, 1998}.

Estos receptores son de transmisión rápida, se dividen en tres tipos de acuerdo a sus características farmacológicas, electrofisiológicas y estructurales {Riedel G., Platt B. & Micheau J., 2003}.

- Receptores al ácido propionico α -amino-3 hidroxil-5 metil-4isoxazol (AMPA)
- Receptores a Kainato (KA)
- Receptores a *N*-metil-D-aspartato (NMDA).

1.3.1.1. Receptores AMPA.

Los receptores AMPA (GluR1, GluR2, GluR3 y GluR4) están compuestos de 889 aminoácidos y pueden ser homodímeros o heterodímeros. Se encuentran asociados con canales catiónicos permeables a Na⁺ y K⁺. Tienen una baja afinidad al glutamato, pero una respuesta rápida en la postsinapsis al interactuar con este {Riedel G., Platt B. & Micheau J., 2003}.

Se encuentran asociados con canales catiónicos de baja conductancia (menores de 20 pS) y tienen rápido detrimento de sensibilidad {Kandel E. R. 1991}, {Riedel G., Platt B. & Micheau J., 2003}. Estos receptores están involucrados en plasticidad sináptica y regulación de receptores NMDA.

En cuanto a procesos mnemónicos los receptores AMPA incrementan la magnitud de la corriente provocada por los receptores de NMDA que producen potenciación a largo plazo (LTP, por sus siglas en ingles) en hipocampo {Staubli U, Rogers G. & Lynch G. 1994}; que es un modelo de plasticidad neuronal, cuyos mecanismos están relacionado con la formación de la memoria. En el hipocampo, los receptores AMPA/KA tiene un papel importante en la consolidación de la memoria de tareas no asociativas como habituación a un ambiente nuevo {Vianna M.R. *et al.* 2000}, así como en aversivas, tal es el caso de inhibición latente y en la evocación de memorias espaciales como el laberinto de agua {Riedel G., Platt B. & Micheau J., 2003}. Con respecto a la memoria gustativa, estos receptores fungen un papel importante en CI tanto en la adquisición como en la evocación de la memoria aversiva al sabor {Berman D. E. *et al.* 2000} y en ABL durante la asociación del estímulo gustativo con el malestar gástrico y en la evocación {resumido por Yamamoto T. *et al.*, 1998}, {Yasoshima Y, Yamamoto T & Kobayashi K. 2005}.

1.3.1.2. *Receptores a Kainato.*

Los receptores a kainato (KA) denominados GluR5, GluR6 y GluR7 son homoméricos y están asociados con canales de Na⁺ y K⁺ de baja conductancia; mientras que los receptores KA1-KA2 son de alta afinidad. Los receptores al kainato son muy parecidos a los AMPA tanto en sus respuestas farmacológicas como fisiológicas, por ende casi no hay literatura que distinga uno de los otros.

1.3.1.3. *Receptores NMDA*

Los receptores de NMDA controlan canales catiónicos de alta conductancia (40-50pS) son permeables a Ca²⁺, Na⁺ y K⁺, {Kandel E. 1991}, {Riedel G., Platt B. & Micheau J., 2003} se encuentran constituidos por las

subunidades NR1, NR2A-D y NR3A-B que forman una estructura pentamérica {Cull-Candy S. *et al.* 2001}, {Riedel G., Platt B. & Micheau J., 2003}. En estado inactivo el receptor se encuentra bloqueado por un ión Mg^{+} el cual es removido por la despolarización de la membrana celular para dar paso al flujo de iones por la activación previa de los receptores AMPA/KA aunado a la activación del receptor de NMDA {Cain DP., 1997}.

Los receptores de NMDA son de gran importancia en el desarrollo, mantenimiento y plasticidad del SNC y en distintas fases de la formación de la memoria de casi cualquier tipo de proceso cognoscitivo y mnemónico. Su bloqueo en hipocampo con el antagonista *ácido 2-amino-5-fosfonovalérico* (AP-V) {Davis S., Butcher S. P. & Morris R. G. M., 1992} y en CI con antagonistas competitivos como (*-3(-2 carboxipiperazina-4-il) propil-1-ácido fosfonoico*) (CPP) y *dizolcilpina malato* (MK-801) {Escobar M. L., Alcocer I. & Chao V. 1998}, abaten el LTP *in vivo* y se evita tanto la adquisición y consolidación del aprendizaje espacial en el laberinto de agua {Davis S., Butcher S. P. & Morris R. G. M., 1992}, {Gutiérrez H, et al., 1999} como del CAS {Gutiérrez H. *et al.*, 1999}, {Escobar M. L., Alcocer I. & Chao V. 1998}. Así como también cuando se micro inyecta AP-V en CI {Ferreira G. *et al.* 2002}.

Durante la estimulación ante un sabor novedoso, se ha visto que en CI se fosforila la subunidad NR2B {Rosenblum K. *et al.*, 1997} que permite al canal, el influjo de más Ca^{2+} al interior de la célula, lo cual actúa sinérgicamente con la activación de los receptores muscarínicos que actúan en ERK para provocar una cascada de señales durante la formación de la memoria gustativa para la consolidación a largo plazo de la misma {Berman DE, *et al.*, 1998} (ver figura 6).

Los receptores tipo NMDA son de crucial importancia para el procesamiento del estímulo aversivo, puesto que se ha observado una significativa liberación de glutamato tanto en amígdala como en CI durante la exposición al estímulo visceral {Miranda MI. *et al.*, 2002} cuyo mecanismo es sugerentemente mediada por los receptores NMDA {Bermúdez-Rattoni F. *et al.* 2004}.

Estudios realizados muestran que alteraciones en la liberación de glutamato pueden causar o estar involucradas en patologías tales como corea de Huntington, Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica, demencia por HIV y Alzheimer, entre otras. Sin embargo cuando se impide el funcionamiento de los receptores NMDA con antagonistas no competitivos, se pueden atenuar esas afecciones {Stefan B. *et al.* 2003}.

1.3.2. Receptores metabotrópicos de glutamato.

Los receptores metabotrópicos (*metaballein*, cambiar + *trope* giro), a diferencia de los ionotrópicos, no activan directamente a los canales iónicos, sino a proteínas G que son proteínas intramembranales {Demetrios K. *et al.* 2003} que a su vez activan o inactivan la formación de segundos mensajeros que originan cascadas de señales necesarias para la regulación de la expresión genética y orquestación de la plasticidad de las redes neuronales. Su forma de acción es más lenta con respecto a la ionotrópica, pero es más específica o moduladora.

Los receptores metabotrópicos de glutamato, a pesar de tener gran relevancia en mecanismos de neuromodulación, neuroprotección, participación en procesos de plasticidad sináptica y formación de la memoria, han sido poco estudiados.

Dichos receptores se dividen en tres grupos dependiendo de sus características farmacológicas, en cuanto a homología de secuencias y activación de vías de señales: Receptores metabotrópicos de glutamato tipo I, II y III {Block F. & Kosinski CM., 2001}, como se observa en la figura 7.

Receptores Glutamatérgicos

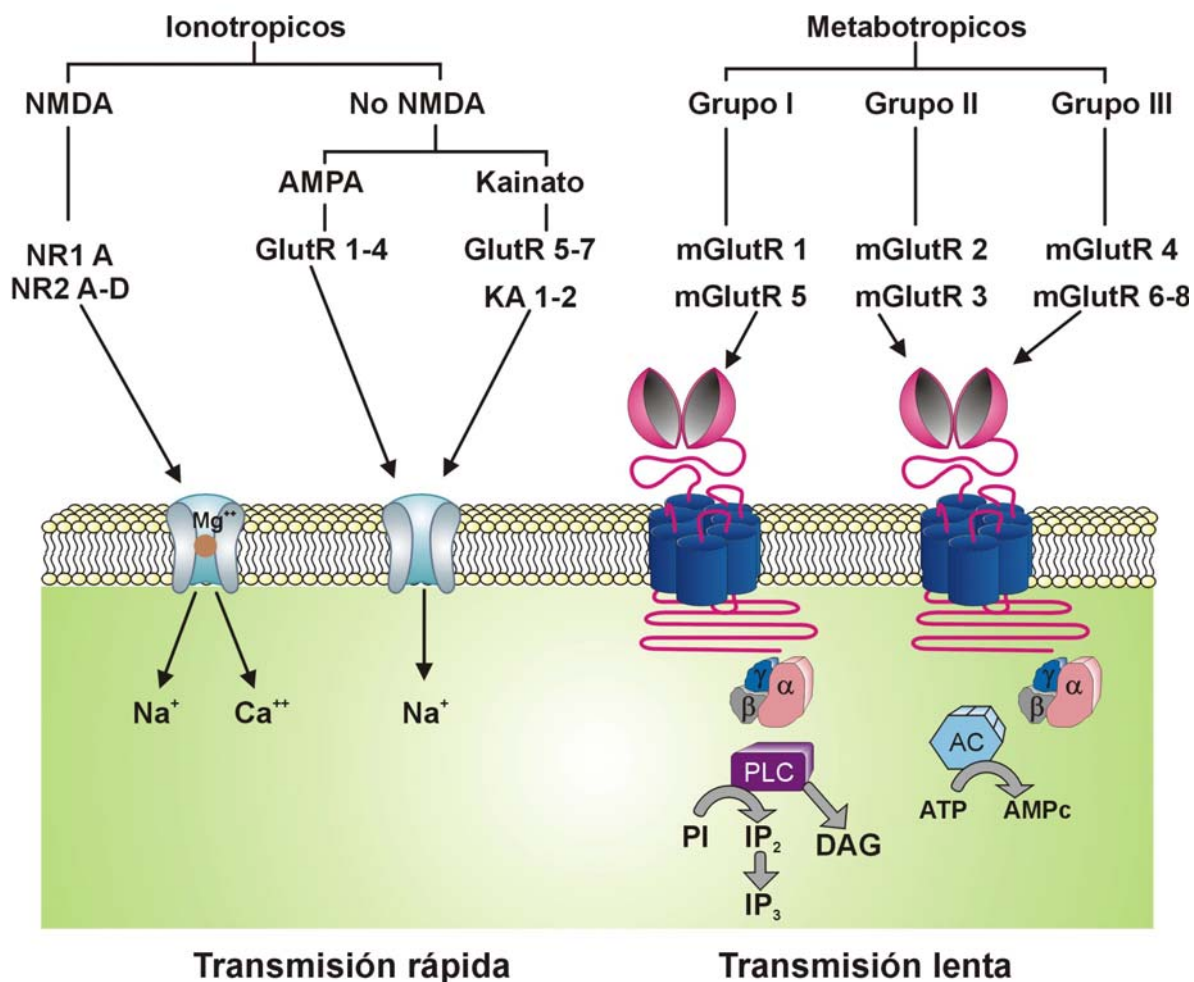


Figura 7. Clasificación de los receptores glutamatérgicos

Los ionotrópicos son de respuesta rápida ante la presencia del glutamato. AMPA y Kainato se encuentran asociados con canales de Na^+ y K^+ . Mientras que los receptores NMDA son permeables a Ca^{2+} , Na^+ y K^+ . Este canal está bloqueado por un ión Mg^+ cuando está inactivo, mas al despolarizarse la membrana o por unión de aspartato o glutamato, este es removido permitiendo el flujo de iones. Por otro lado los receptores de glutamato adosados a proteínas G son de transmisión lenta en comparación con los ionotrópicos y desencadenan una serie de cascadas moleculares. Los mGluR I activan la proteína fosfolipasa C (PLC) que incrementa la concentración de diacilglicerol (DAG) y esta a su vez a la proteína cinasa C (PKC) e incrementa la concentración de Ca^{2+} en la célula, a través de la formación de inositol trifosfato (IP_3). Mientras que la activación de mGluR II y III inhiben la adenosina ciclasa (AC) y disminuye la concentración de adenosina monofosfato cíclico (AMPc). Imagen modificada de "Block F. & Kosinski CM. 2001".

Los receptores metabotrópicos de glutamato tienen una distribución diferencial en la terminal sináptica, así como en la localización en el SNC, como lo muestra tabla 1.

Tabla 1. Cuadro comparativo de los receptores metabotrópicos de glutamato.

Receptor	Proteína G	Modulación intracelular	Localización
Grupo I			
mGluR 1	Excitadora G _{q/11}	PLC↑ IP ₃ + DAG→PKC ↑ →Ca ²⁺ ↑	Mayoritariamente en postsinapsis <i>glutamatérgica</i> . Amplia distribución con mayor abundancia en cerebelo.
mGluR 5	Excitadora G _{q/11}	PLC↑ IP ₃ + DAG→PKC ↑ →Ca ²⁺ ↑	Mayoritariamente en postsinapsis <i>glutamatérgica</i> y en glía. Muy expresado en cerebro anterior
Grupo II			
mGluR 2	Inhibidora G _{o/i}	AC↓→AMPc↓	En presinapsis en neuronas <i>glutamatérgica</i> y en otras. Tiene alta expresión en cerebro anterior, cerebelo y corteza.
mGluR 3	Inhibidora G _{o/i}	AC↓→AMPc↓	Ampliamente expresado en células gliales, en presinapsis y postsinapsis <i>glutamatérgicas</i> y de otras. Se distribuye en cerebro anterior
Grupo III			
mGluR 4	Inhibidora G _{o/i}	AC↓→AMPc↓	Tanto en presinapsis como postsinapsis se encuentran en neuronas <i>glutamatérgicas</i> y de otros neurotransmisores. Predominan en cerebelo.
mGluR 6	Inhibidora G _{o/i}	AC↓→AMPc↓	Sólo se expresan en células bipolares de la retina.
mGluR 7	Inhibidora G _{o/i}	AC↓→AMPc↓	Localización tanto en presinapsis como postsinapsis <i>glutamatérgica</i> y en otras neuronas, tiene una amplia distribución en SNC.
mGluR 8	Inhibidora G _{o/i}	AC↓→AMPc↓	Presinapsis <i>glutamatérgicas</i> y en otras. Alta distribución en cerebro anterior.

Los mGluR I producen activación de PLC que desencadena un incremento en IP₃ y DAG provocando la fosforilación de PKC y el aumento de Ca²⁺ intracelular. Los mGluR II y III regulan negativamente a la adenilato ciclasa que disminuye la concentración de AMPc.

1.3.2.1. Receptores metabotrópicos de glutamato tipo I (mGluR I).

Este es el grupo que ha sido más estudiado debido a que se encuentra presente en regiones del sistema nervioso central muy importantes tales como la corteza cerebral, hipocampo, tálamo y cerebelo, además por estar involucrado mecanismos de detección del dolor, en varias enfermedades

neurodegenerativas como Alzheimer, Corea de Huntington, Parkinson y desórdenes neuronales como la epilepsia e isquemia {Bordi F. & Ugolini A. 1999}.

El grupo I, comprende dos receptores, los mGluR 1 con cuatro variantes (a/ α , b/ β , c, d) y los mGluR 5 con dos variantes (a, b) {Muly E. C. *et al.* 2003}. Los mGluR I se unen a una proteína $G_q/11$ que activa a fosfolipasa C β_1 (PLC) β_1 la cual, está involucrada en la plasticidad sináptica {Hannan AJ, ABLkmore C. & Katsnelson A. 2001}. Esta hidroliza a la fostatidil inositol trifosfato para dar lugar a dos segundos mensajeros, inositol (1, 4, 5) trifosfato (IP_3) y diacilglicerol (DAG) {Bordi F. & Ugolini A., 1999}; {Conn PJ & Pin JP., 1997}, {Krauss G., 2003}. El IP_3 al unirse a receptores de canales de Ca^{2+} en la membrana del retículo endoplasmático (RE) produce una movilización de dichos iones acumulados en RE y desencadena un rápido incremento de Ca^{2+} en citosol, incrementando la excitabilidad de la membrana {Riedel G., Platt B. & Micheau J., 2003}, ver figura 9.

El DAG con Ca^{2+} como cofactor o en ausencia de este, activa a la proteína cinasa C (PKC), la cual está involucrada en múltiples procesos celulares. La PKC fosforila a proteínas cinasas que son importantes para la regulación de conductancias iónicas. La PKC activa a Raf, que fosforila a la proteína cinasa activadora de mitógeno 1 y 2 (MEK 1/2), esta a la proteína cinasa reguladora de señales extracelulares 1 y 2 (ERK1/2) {Zhao W., *et al.*, 2004} y ERK 1/2 a la proteína de unión de elemento de respuesta de adenosina monofosfato cíclico (CREB) {Mao L & Wang JQ., 2002} y ELK1 que son factores de transcripción. CREB también puede ser fosforilado por medio de la proteína cinasa dependiente de Ca^{2+} /calmodulina previamente activada por el incremento de Ca^{2+} intracelular {Krauss G., 2003}.

Los mGluR I también pueden promover la síntesis de proteínas mediante la activación de la cinasa activada por mitógeno (MAPK) a partir de tres vías: Por cascadas de señales provenientes de la estimulación de proteínas G adosadas a los receptores mGluR I, por fosforilación de Src o por proteínas de andamiaje tales como *Homer* 1b/c, importantes en la inserción y localización de los mGluR en membrana {Tu JC. *et al.*, 1998}. Mas si se activa

Homer 1a, inhibe la función de MAPK {Tu JC. *et al.*, 1998}, de modo que no se fosforila ni activa a ERK impidiendo la síntesis de nuevas proteínas. Recientemente se han encontrado factores de traducción que son activados por ERK o mediante otra vía alterna propiciada por los mGluR I que implica la fosforilación de la proteína cinasa 3-fosfoinositido (PI3K), Atk y proteína blanco de rapamicina de mamífero (mTor). Dichas vías activan al factor de iniciación de la traducción (eIF4E). A partir de la fosforilación de la cinasa N-terminal c-Jun (JNK), aumenta la transcripción controlada por el activador proteína-1, y a través de la activación de p38 que regula el factor nuclear κ B (NF- κ B), permite la traducción es regulada de forma negativa por la proteína de retraso mental frágil X (FMRP) {Gerber U, Gee CE & Benquet P. 2007} Por tanto, los mGluR I están involucrados en la plasticidad sináptica, formación de nuevas espinas dendríticas y filopodias que favorecen la comunicación interneuronal y por ende, la memoria y aprendizaje.

Por otro lado, estudios recientes muestran que los mGluR I pueden activar otras vías de señales simultáneamente con la vía PLC/IP₃/Ca²⁺. Tal es el caso de la vía adenosina monofosfato cíclico (AMPC) que posiblemente es causado por la activación de adenilato ciclasa (AC) a través de la estimulación de una proteína G_s {Hermans E. & Challiss RA., 2001}, {Conn PJ & Pin JP., 1997}.

Cabe hacer mención que la variante de los mGluR I, los mGluR 1a también pueden activar proteínas G_{o/i}. {Selkirk JV, *et al.* 2001}{Hermans E. *et al.* 2000}. Por tanto, los mGluR I activan una serie de cascadas de señales, sin embargo hasta el momento no se sabe cual de ellas está involucrada en los procesos de memoria gustativa. Empero, es sabido que para la memoria gustativa, en CI es necesario la activación de ERK {Swank MW & Sweatt JD. 2001}, {Berman DE. *et al.* 1998}, {Berman DE. *et al.* 2000} y en memoria gustativa aversiva la activación de AMPC {Miranda MI & McGaugh JL. 2004}, {Desmedt A, Hazvi S. & Dudai Y. 2003}, tirosina cinasa {Rosenblum K. *et al.* 1997} y PKC {Núñez-Jaramillo L, Delint-Ramirez I. & Bermúdez-Rattoni F. 2007}, mismas que regulan también la función de los receptores ionotrópicos tipo NMDA.

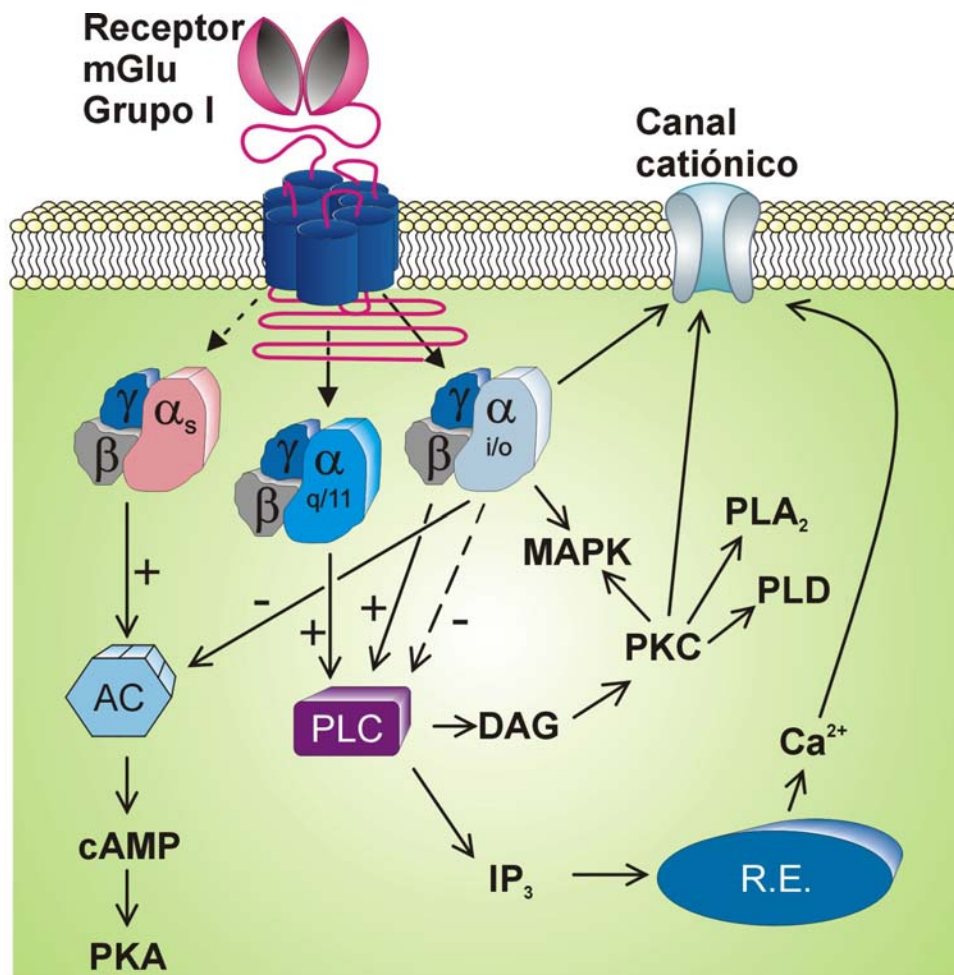


Figura 8. Cascadas de señales de los receptores mGluR I

Los mGluR I activan múltiples vías de señales a través de un acoplamiento diferencial de proteínas G. Los mGluR I se unen preferentemente a las proteínas G_{q/11} llevando a la activación de PLC el cual incrementa la movilización de Ca²⁺ intracelular a partir de la producción de IP₃ y actuación de PKC vía DAG. PKC está involucrado en la activación PLD, PLA₂ y MAPK, así como en la modulación de una variedad de canales iónicos. Los mGluR I se han visto acoplados a proteínas G_{i/o} de manera que inhibe a la AC, y modula la actividad de los canales iónicos a partir de MAPK, y posiblemente la regulación negativa de PLC. También los mGluR I controlan la activación de AC a partir del acoplamiento con la proteína G_s y por ende a AMPc y PKA. PLCβ, fosfolipasa Cβ; DAG, diacil glicerol; PKC, proteína quinasa C; IP₃, inositol trifosfato; R.E., retículo endoplasmático; Ca²⁺, calcio; PLD, fosfolipasa D; PLA₂, fosfolipasa A₂; MAPK, proteína activadora de mitógeno cinasa; AC, adenilato ciclasa; AMPc, adenosina monofosfato cíclico; PKA, proteína quinasa A. Figura tomada de "Hermans E. & Challiss J. 2001".

Localización.

Los receptores mGluR I se localizan en la región periférica del botón sináptico tanto en terminales presinápticas como postsinápticas con mayor predominancia en la postsinapsis {Baude A *et al.* 1993} {Luján R *et al.* 1996}, {Conn P. J. & Pin J.P. 1997}. Como se observa en la figura 8.

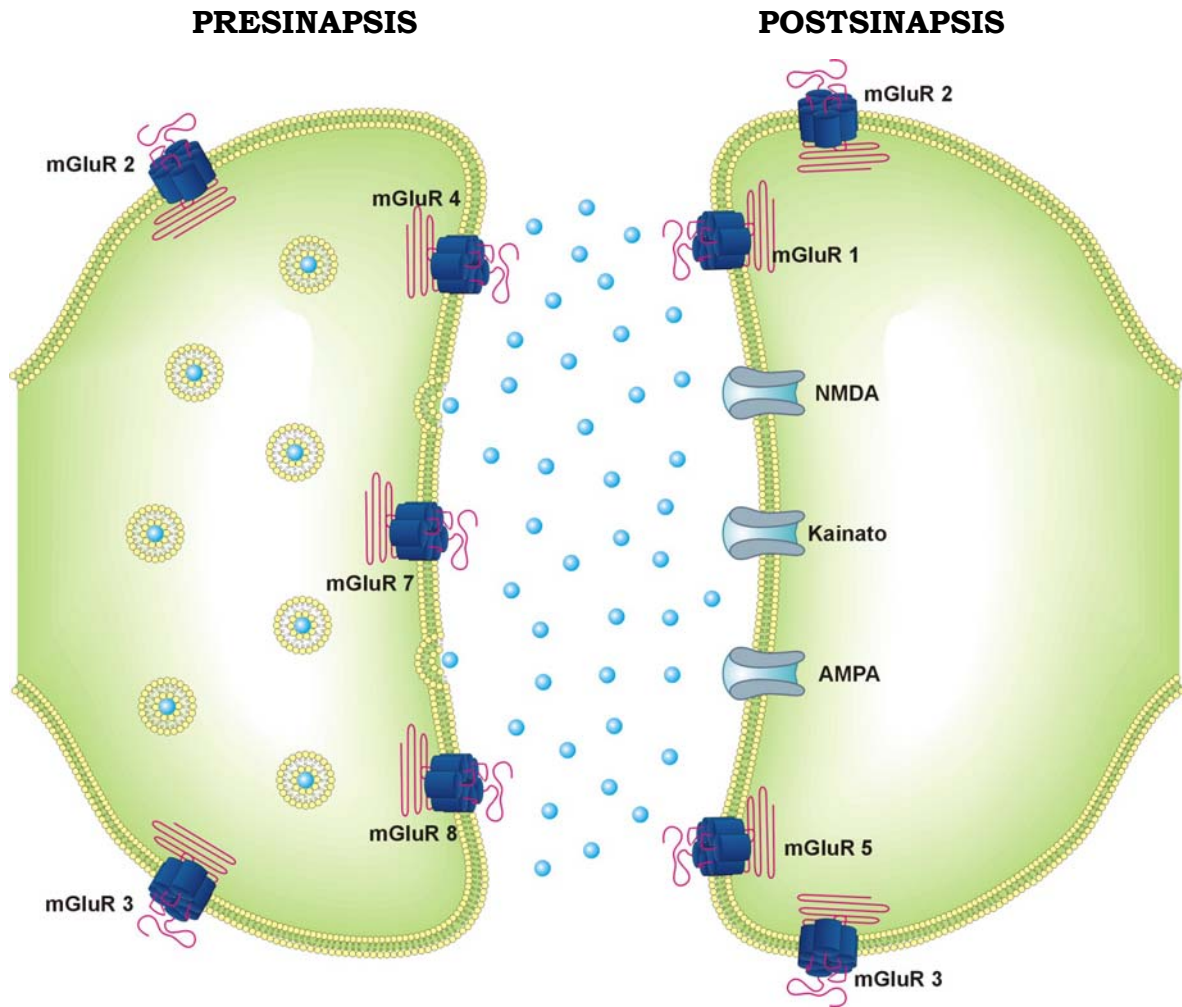


Figura 9. Localización de los receptores mGluR I en la sinapsis. Los receptores metabotrópicos tipo II (2, 3) y III (4, 6, 7, 8), se encuentran en presinapsis, aunque el tipo II se ha encontrado escasamente en postsinapsis. Los receptores mGluR I (1,5), se localizan en postsinapsis y escasamente en presinapsis. Imagen modificada de la referencia "Cartmell J. & Schoepp DD. 2000".

Los encontrados en la presinapsis controlan los efectos inhibitorios de la liberación de los neurotransmisores, por lo que actúan como auto o heterorreceptores que disminuyen la transmisión GABAérgica y glutamatérgica. Mientras que los mGluR I postsinápticos, pueden influir en la liberación del neurotransmisor en presinapsis por medio de mensajes retrógrados {Muly E. C. *et al.* 2003}.

Los mGluR I se encuentran ampliamente distribuidos en la corteza cerebral de ratas, con predominancia de mGluR1 α , seguido por mGluR 1 β y escasa presencia de mGluR 1c. En la corteza prefrontal se hallan tanto mGluR 5 {Homayoun H. & Moghaddam B. 2006} como mGluR 1 α en dendritas y

espinas de las células piramidales, así como en dendritas de las interneuronas {Muly E. C. *et al.* 2003}. Los receptores de mGluR I están presentes en el núcleo septal dorsolateral, en hipocampo y complejo amigdalino, núcleos mamilares, tálamo, núcleos ventrales posteromediales, núcleo geniculado, hipotálamo, cerebelo, núcleo *accumbens*, caudado putamen, *globus pallidus*, en sustancia nigra parte reticulata, núcleo interpeduncular y núcleo de Raphe. Tiene poca presencia en el estriado, incluyendo los tubérculos olfativos del estriado, núcleo talámico reticular y habénula (figura 10) {Lavreysen H. *et al.* 2004}.

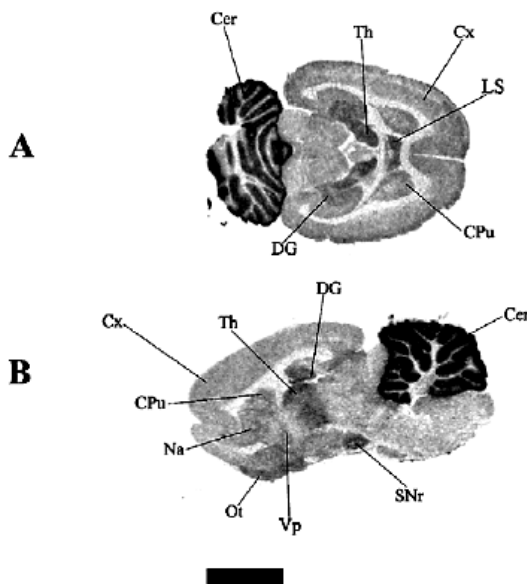


Figura 10. Localización de los receptores mGluR I en el cerebro de rata.

A) Corte coronal y B) corte sagital. Los sitios más oscuros presentan mayor densidad del receptor. Cx, corteza; Cer, cerebelo; Th, tálamo; LS, septum lateral; CPu, caudado putamen; DG, giro dentado del hipocampo; Na, núcleo *accumbens*; Ot, tubérculo olfativo; Vp, pallidum ventral; SNr, sustancia nigra parte *reticulata*.

Imagen tomada de "Lavreysen H. *et al.*, 2004".

Modulación.

Los receptores mGluR I tienen una función de neuromodulador del glutamato tanto en la presinapsis como en la postsinapsis. En la presinapsis, la activación de PLC acoplada al mGluR puede potenciar la liberación de glutamato, pero si PLC es desensibilizado, cambia a un efecto inhibitorio. En la postsinapsis, la activación rápida de los mGluR, activa la vía PLC-IP₃-Ca²⁺ abre canales de K⁺ produciendo hiperpolarización produciendo una inhibición lenta de la célula. Por el contrario, una estimulación lenta del mismo receptor, induce la activación de la proteína G que promueve el cierre de los canales de K⁺ dando como resultado una excitación lenta de la célula (despolarización) {Fiorillo CD. & Williams JT. 1998}. También se ha observado que la activación

de mGluR I incrementa la respuesta de muchas neuronas glutamatérgicas por corrientes de potenciación a través de los receptores ionotrópicos de glutamato {resumido por Valenti O, Conn PJ. & Marino MJ., 2002}.

Todos los receptores metabotrópicos de glutamato, además de acoplarse con las proteínas G, tienen interacción intracelular a partir de su carboxilo terminal con otras proteínas, lo que hace más compleja su función al activar otras cascadas de señales {Fagni L. *et al.*, 2004}.

La regulación de los mGluR I está dada por los receptores cinasa acoplados a proteína G (GRK), particularmente GRK2 y GRK4, cuya fosforilación induce la unión de β -arrestinas quienes secuestran e internan al receptor metabotrópico. También pueden ser controlados por reguladores de proteínas G (RSG), las cuales interactúan con las proteínas G e incrementan la actividad de GTPasa que evitan el desencadenamiento de transmisión de señales precedidas por las proteínas G. Tanto RGS2 como RGS4 actúan en las G_q y evitan la subsiguiente activación de PLC que conlleva a la inhibición de los receptores mGluR I. La proteína RGS2 bloquea a la G_q por inhibición de corrientes de calcio voltaje independiente, regulando la actividad de la subunidad $G\beta\gamma$, mientras que la inhibición voltaje dependiente media a la $G\alpha$ {resumido por Valenti O, Conn PJ. & Marino MJ., 2002}.

Los receptores mGluR I pueden asociarse con proteínas *Homer* que actúan como un puente entre los receptores y otras proteínas que contienen un dominio rico en prolina, tal es el caso de los receptores de rianodina o proteínas de densidad postsináptica llamadas Shank, las cuales a su vez se unen con las proteínas GKAP y PSD95. Estas últimas son proteínas de andamiaje que están unidas con la subunidad NR2B de los receptores tipo NMDA {Tu JC. *et al.*, 1998}. La señal de los receptores tipo NMDA es potenciada por la cinasa Src; recientemente se ha reportado que la interacción de los mGluR con β -arrestina activa a esta cinasa, pero también puede ser estimulada por segundos mensajeros producidos por los mGluR a partir de la vía PLC β , DAG, PKC, CAK β Pyk2 (cinasa de adhesión celular rica en β -prolina tirosina cinasa) como se indica en la figura 11. El sistema tiene un mecanismo de regulación negativa, la formación de IP_3 aumenta la liberación intracelular

de Ca^{2+} que activa a la proteína tirosina fosfatasa reduciendo la respuesta de los receptores NMDA {Gerber U, Gee CE, Benquet P. 2007}.

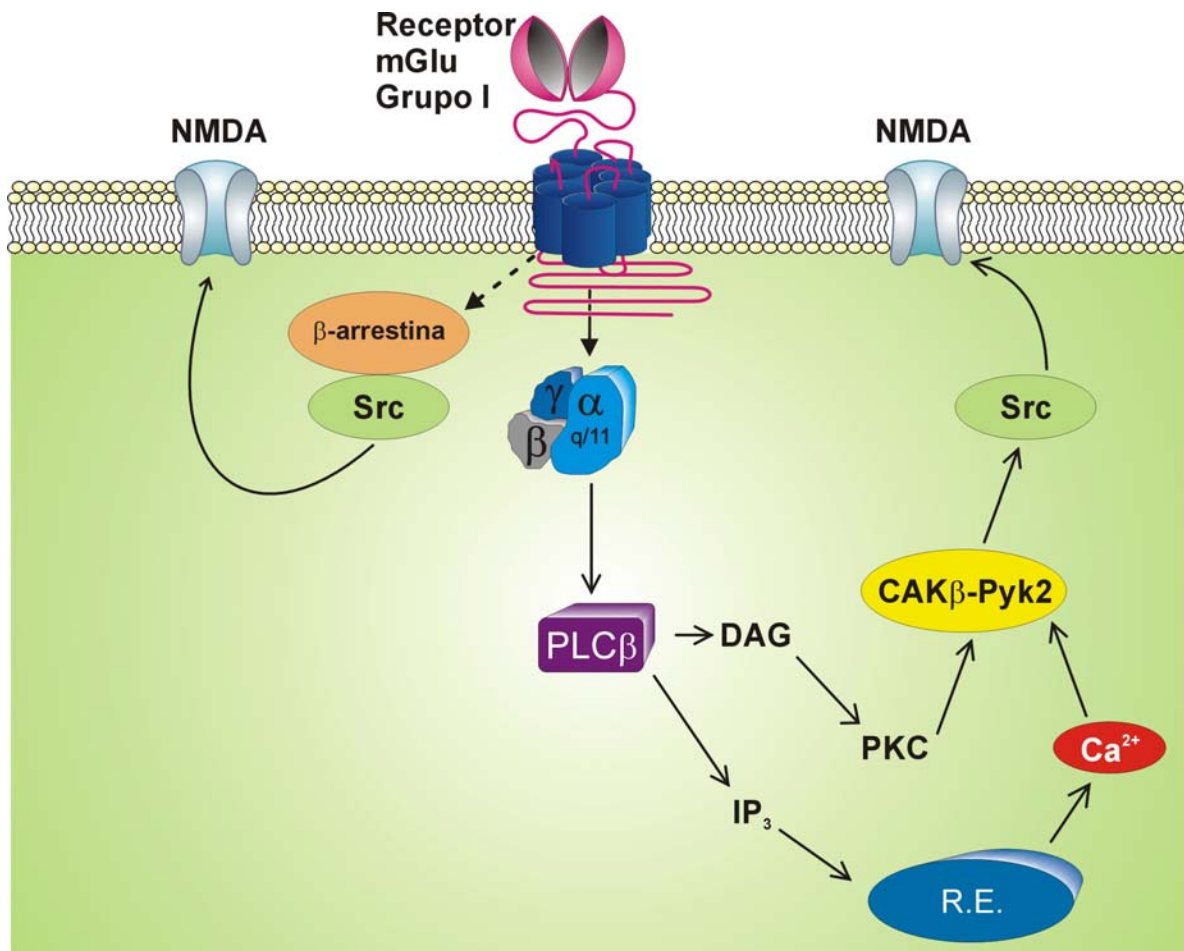


Figura 11. Regulación de la activación de receptores tipo NMDA, a partir de los receptores mGluR I. A través de la activación de proteínas G, se desencadena una reacción de señales de segundos mensajeros que culminan con la fosforilación de CAK β -Pyk2 que activa a Src y este incrementa la activación de los canales tipo NMDA. No obstante, la formación de IP $_3$ con la subsecuente liberación de Ca^{2+} intracelular dependiente de la activación de tirosina fosfatasa, atenúa la respuesta de NMDA. Mediante otra vía alterna exenta de activación de proteínas G, puede activarse la proteína adaptadora β -arrestina que se acopla a Src y a su vez potencian a NMDA. PLC β , Fosfolipasa C β ; DAG, diacil glicerol; PKC, proteína cinasa C; IP $_3$, inositol trifosfato; R.E., retículo endoplasmático; Ca^{2+} , calcio; CaCAK β -Pyk2, proteína cinasa de adhesión celular. Esquema tomado y modificado de "Gerber U, Gee CE. & Benquet P. 2007".

Implicación de los mGluR I en patologías y desórdenes neurodegenerativos y dolor.

El estudio de los receptores metabotrópicos ha permitido conocer de mejor manera algunas de las patologías del sistema nervioso central; lo que

permite dilucidar nuevas formas de tratamiento y prevención. Entre las cuales se encuentran:

- Enfermedades vasculares

Hipoxia, isquemia e infarto. Los receptores mGluR tienen un papel importante en estas lesiones en corteza e hipocampo, en el caso del grupo I, cuando se sobre activa con un agonista como *(S)-3,5-dihidroxifenil-glicina* (DHPG), se agrava la lesión. En tanto, si es inhibido por un antagonista como AIDA, disminuye significativamente la neurodegeneración, muerte neuronal y déficit de memoria {Lyeth B. G. *et al.* 2001} actuando como neuroprotectores. Aunque también se ha observado que los mGluR 1a al ser activados contribuyen a la neurotoxicidad del glutamato generando muerte celular postisquémica y muerte celular por necrosis. En contraste la activación e inhibición de los mGluR 5 con CHPG y *2-metil-6-(feniletinil) piradina* (MPEP) atenúa la muerte celular y facilita la mejoría ante la isquemia respectivamente {Bao W.L. *et al.* 2001}.

- Enfermedades desmielinizantes

Esclerosis múltiple, patología en la que se forman placas gliales desmielinizadas diseminadas por toda la sustancia blanca, tiene expresión aberrante tanto en neuronas como en glía {Geurts J. J. G. *et al.* 2003}.

- Enfermedades degenerativas

En epilepsia (displasia cortical focal) se encuentran sobre expresados los receptores mGluR I y II, en neuronas bizarras en forma de balón y en glía {Aronica E. *et al.* 2003}.

En la enfermedad de Parkinson, se han identificado mGluR en estructuras afectadas por el Parkinson, como es el caso del estriado, núcleos subtalámicos como sustancia nigra parte reticulata y *globus pallidus* parte interna. Tales receptores fungen como neuromoduladores de la transmisión *glutamatérgica* tanto en células glutamatérgicas como colinérgicas y dopaminérgicas. Conforme avanza la degeneración causada por la enfermedad, decrece la población de receptores mGluR II y III que provoca un incremento de glutamato en el estriado, manifestandose como una sintomatología parkinsoniana. {Senkowska A. & Ossowska K. 2003}.

La enfermedad de Alzheimer, puede implicar la participación de los mGluR I debido a que estos facilitan la liberación de glutamato y la formación de tramas fibrilares que son características del Alzheimer {Tsai V. W. *et al.* 2005}.

En la esquizofrenia, existe una reducción de la actividad de los receptores de NMDA en neuronas corticales. Estudios recientes muestran que al activar a mGluR 5 se potencia la actividad de NMDA y la inhibición de mGluR 5 bloquea la despolarización de la membrana inducida por NMDA en estriado y en corteza {Moghaddam B. 2004}.

- Adicción a drogas

Los receptores mGluR I además de regular la transmisión *glutamatérgica* en la corteza prefrontal y región límbica (núcleo *accumbens* y VTA), participan tanto en la adicción a las drogas como en cambios conductuales por abuso de las mismas. Resultados experimentales tanto en ratas como en ratones, muestran que los mGluR I están involucrados en la modulación del reforzamiento por consumo de drogas, puesto que al bloquear a los mGluR 5 con un antagonista MPEP, decrece la auto administración de cocaína, nicotina y alcohol {Kenny P. J. & Athina M. 2004}.

- Tumores

En células tumorales de la línea del glioma (glioma C6) se han localizado receptores mGluR 1, todavía no se sabe su participación en dichas células, pero por su vinculación a la sobre estimulación de glutamato, puede que esté involucrado en el glioma también como agente neurotóxico {Albasanz J.L., Ros M. & Martín M. 1997}.

- Dolor.

Mientras la activación exógena de mGluR I en tejido periférico de ratones produce hiperalgia³ térmica, el bloqueo de mGluR 1 decrementa el dolor y es totalmente abolido por la inhibición de mGluR 5, lo que sugiere un efecto diferencial entre estos receptores ante el dolor. Otro caso es la activación específica de mGluR 5 está implicado en alodinia⁴ y dolor neuropático, en

³ Hiperalgia. Sensibilidad excesiva al dolor.

⁴ Alodinia. Trastorno en el cual un estímulo, por lo general no doloroso, se percibe como doloroso.

tanto activación conjunta de los receptores mGluR 1 y 5 produce la hiperalgia térmica. {Neugebauer V. 2002}.

- Traumatismo cerebral.

La inhibición de la actividad de los mGluR I con el antagonista AIDA reduce considerablemente la degeneración neuronal y produce también una reducción de la conducta de déficit asociada con la lesión. Lo que sugiere que la activación de los mGluR I que contribuye a la patofisiología de la lesión traumática cerebral. De modo que el tratamiento con AIDA funciona como neuroprotector ante lesiones traumáticas {Lyeth B.G. *et al.* 2001}.

- Ansiedad, estrés y depresión.

Experimentos realizados en varios laboratorios muestran que los mGluR I están involucrados tanto fisiológica como conductualmente con estados de estrés y ansiedad, por ejemplo, en ratas cuando se microinyecta 3-*hidroxifenilglicina* (S-4C3HPG) en hipocampo, un antagonista de los mGluR 1 o se administra el antagonista de mGluR 5, MPEP ip, se produce un efecto {resumido por Swanson C.J. *et al.* 2005}.

El bloqueo de los receptores mGluR 1 con el antagonista AIDA o con el antagonista para los mGluR 5, MPEP, en el cuerno de Amón 1 (CA1) del hipocampo, tiene un efecto antidepresivo que a diferencia de los antidepresivos convencionales (monoaminérgicos), este no produce un efecto sedante {Palucha A. & Pilc A. 2002}.

Participación de los mGluR I en procesos de plasticidad y memoria.

El LTP y la disminución de la potenciación (depresión) a largo plazo (LTD, por sus siglas en inglés), son dos modelos de plasticidad sináptica y memoria dependientes de la actividad eléctrica. Se conocen dos formas de inducir LTP y LTD, una es por activación sináptica de los receptores tipo NMDA y la otra es al activar los mGluR. Gubellini y colaboradores en 2003, demuestran que el bloqueo de los receptores mGluR I y no del grupo II o III, abate por completo el LTP en la vía cortico-estriatal {Gubellini P. *et al.* 2003}. En CA1, los mGluR 5, mas no los mGluR 1 son necesarios para la inducción de LTP {Francesconi W., Cammalleri M. & Sanna P. P. 2004}, {Miura M., *et al.*

2002} y LTD {Harney S. C., Rowan M. & Anwyl R. 2006}, {Tan Y., Hori N. & Carpenter D. O. 2003}; así como en corteza perirhinal {resumido por Bashir Z. I. 2003}. Mientras que en corteza prelímbica se observa una facilitación de la inducción de LTP al suministrar DHPG {Morris S.H. *et al.* 1999}; en amígdala basolateral se requieren de los mGluR 1 y no de los mGluR 5 para la inducción de LTD {Azad S. C., *et al.* 2004} y en amígdala lateral se requieren los mGluR 5 para la formación del LTP {Rodrigues S. M., *et al.* 2002}.

Varios estudios realizados principalmente con ratas muestran que los mGluR I participan en la formación de la memoria; Riedel y colaboradores en 1994 encuentran que los mGluR I están involucrados en el aprendizaje espacial (laberinto en Y), al bloquearlos con el antagonista *(R,S)- α -metil-4-carboxifenilglicina* (MCPG) se evita la formación y retención de la memoria y se acrecienta con infusión del agonista *trans -azetidina-2,4- ácido dicarboxílico* (tADA) icv. {Riedel G., Wetzel W. & Reymann K. G. 1995}.

Para que se forme a largo plazo la memoria de discriminación de objetos, se requiere de la activación tanto de los mGluR 5 como de los mGluR II en corteza perirhinal {Barker G. R. I. *et al.* 2006}.

Schulz y colaboradores en 2001, observaron que la anulación de la actividad de los receptores mGluR 5 a partir de la administración oral de un antagonista específico para este, *2-metil-6-(feniletinil)piridina* (MPEP), produce pérdida de la adquisición y evocación del condicionamiento al miedo cuando se suministra antes del primer ensayo y antes de la prueba respectivamente {Schulz B. *et al.* 2001}. Resultados similares son obtenidos por el grupo de Rodríguez, los cuales sugieren que los mGluR 5 en amígdala lateral están involucrados en la adquisición del condicionamiento al miedo {Rodrigues S. M., *et al.* 2002}, en tanto, investigaciones desarrolladas por Gravius y colaboradores sugieren que hay diferencias en la participación de los receptores mGluR1 y mGluR5 durante la adquisición y expresión de condicionamiento al miedo y auditivo. Tanto el antagonista de los mGluR1, EMQMCM, [(3-etil-2-metil-quinolina-6yl)-(4-metoxi-ciclohexil)-metanona metanesulfonato] como el antagonista de los mGluR5 MTEP [(2-metil-1,3-tiazol-4y) etinil] bloquean la adquisición del condicionamiento contextual, sin afectar el

condicionamiento auditivo. Por otro lado el MTEP inhibe la expresión de condicionamiento al miedo y auditivo cuando se inyectan ip {Gravius A, *et al.* 2005}. Todo ello sugiere que el grupo I de los receptores metabotrópicos de glutamato están involucrados en procesos mnemónicos espaciales, de reconocimiento y aversivos.

Estudios previos en memoria gustativa.

Investigaciones recientes muestran que es necesario de la activación de los receptores mGluR 5 en la formación del CAS y no los mGluR 1. Esto al aplicar los antagonistas de mGluR5, MPEP, y de mGluR AIDA ip quince minutos antes de la presentación del sabor novedoso y aplicando un irritante gástrico, cloruro de litio (LiCl 0.15M a 1.33% del peso corporal) quince minutos después de haber terminado de ingerir la sacarina. {Schachtman T.R. *et al.* 2003} de igual modo disminuye la inhibición latente por inyección de MPEP 25 minutos antes de la preexposición a la sacarina, lo cual produce una fuerte aversión {Bills C. *et al.* 2005}. También se ha observado que los mGluR en amígdala están involucrados en la formación del CAS, al inyectar un antagonista metabotrópico para los grupo I y II MCPG inmediatamente después de la sacarina y 20 minutos antes del cloruro de litio, se impide la adquisición del condicionamiento {Yasoshima Y., Morimoto T. & Yamamoto T. 2000}, pero ello no ocurre cuando se inyecta en CI {Escobar M.L., Alcocer I. & Bermúdez-Rattoni F. 2002}.

1.3.2.2. Receptores metabotrópicos de glutamato tipo II y III.

El grupo II, comprende a los receptores mGluR 2 y mGluR 3. En tanto el grupo III al mGluR 4, mGluR 6, mGluR 7 y mGluR 8. Ambos grupos se encuentran distribuidos en estructuras como corteza cerebral, tálamo, *locus coeruleus*, núcleo del tracto solitario, cerebelo y corteza visual.

Ambos grupos reducen los niveles de AMPc en la célula y Ca^{2+} intracelular; o bien, por activación de proteínas $G_{o/i}$. Los mGluR II se encuentran primordialmente en presinapsis y los mGluR III en la región pre-terminal del axón y se localizan primordialmente en estructuras como corteza

cerebral, tálamo, *locus coeruleus*, núcleo del tracto solitario, cerebelo y corteza visual.

A continuación se describe la localización que tienen en el SNC según el artículo de Schoepp D. D. 2001.

1. Receptores mGluR 2 están representados en la región pre-terminal de las neuronas glutamatérgicas, cuya función es actuar como regulador retroactivo para evitar subsecuentes liberaciones de glutamato, de manera que previene la hiperexcitabilidad anormal que pudiera afectar las funciones del cerebro.
2. Los mGluR 3 se encuentran en hipocampo y corteza entorhinal, mayoritariamente en neuronas postsinápticas y en glía.
3. Los receptores mGluR 4 predominan en cerebelo y en menor proporción en hipocampo donde se han encontrado en el cuerpo y dendritas de neuronas piramidales, células granulares e interneuronas. Cabe hacer mención que los receptores mGluR 4, actualmente, son considerados como candidatos para la percepción del sabor del glutamato monosódico (*umami*), puesto que se han encontrado en papilas gustativas.
4. Los mGluR 6 tienen una distribución escasa en el SNC, aunque su concentración es elevada en retina
5. Receptores mGluR 7, su distribución es amplia en cerebelo anterior, tallo y médula espinal.
6. Los mGluR 8 se distribuyen en el bulbo olfativo, tracto lateral olfativo, hipocampo y médula espinal. Se localizan en la presinápsis y en periferia de la terminal axónica.

Los receptores mGluR II y III tienen una función neuromoduladora de la excitabilidad de la neurona, al disminuir los niveles de Ca^{2+} intracelular se evita la despolarización y por ende la liberación de glutamato o GABA, aunque también puede modular otros neurotransmisores como dopamina {van Berckel *et al* 2006}. De igual forma tienen un efecto neuroprotector al evitar la excitación glutamatérgica a nivel cerebral en estados patológicos, así como al atenuar la excitotoxicidad provocada por la activación desmedida de los

receptores ionotrópicos. Por otro lado también se encuentran involucrados en procesos de memoria y aprendizaje {Best A. R. *et al.* 2005}, {Barker G. R. I. *et al.* 2006}.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

El neurotransmisor, glutamato, es de crucial importancia para la formación y consolidación de la memoria, este es reconocido por los receptores ionotrópicos y metabotrópicos de glutamato. Mucho se sabe sobre la participación de los receptores ionotrópicos (NMDA, AMPA y Kainato) en procesos de memoria y aprendizaje, sin embargo poco han sido estudiados los receptores metabotrópicos, a pesar de estar ampliamente distribuidos en el cerebro y de tener una función tanto transmisora de señales neuronales, neuromoduladora de receptores glutamatérgicos, colinérgicos y GABAérgicos; así como de activar factores de transcripción y genes de expresión temprana indispensables para la formación de la memoria.

En la memoria gustativa, los receptores ionotrópicos de glutamato en corteza gustativa o insular, además de tener un papel importante en la consolidación de la memoria, también son importantes durante la asociación entre un sabor nuevo con un estímulo aversivo {Bures, J., Bermúdez-Rattoni F. & Yamamoto T., 1998}, pero si son inhibidos los receptores ionotrópicos tipo NMDA, con AP V, no evitan la formación de esta memoria gustativa apetecible {Gutiérrez R. *et al.*, 2003a}.

No se conoce a cabalidad a la función de los receptores mGluR durante la formación o consolidación de la memoria gustativa. Estudios previos muestran que los mGluR I en amígdala (una estructura cerebral muy importante para la formación de memorias aversivas), participan en la formación del CAS, mas no en CI. Sin embargo cuando se suministran antagonistas de mGluR I de forma sistémica, se observa que los mGluR 5 tienen un papel importante en el CAS, pero no los mGluR 1. Por otro lado, no hay registro sobre la actuación de los mGluR en la memoria gustativa apetecible.

Para conocer más acerca de los mecanismos involucrados en los procesos mnemónicos, se optó por estudiar a los mGluR I en CI durante la formación de una memoria gustativa apetecible (atenuación de la neofobia).

3.HIPÓTESIS.

Los receptores metabotrópicos de glutamato (mGluR) se encuentran ampliamente distribuidos en regiones cerebrales cruciales para el proceso de la memoria y aprendizaje, como es el caso de CI (corteza gustativa), además desempeñan un papel muy importante en la regulación de la liberación de neurotransmisores glutamatergicos, colinérgicos y GABAérgicos, así como en la modulación de sus respectivos receptores y son importantes para el desarrollo y mantenimiento de redes neuronales; por ende podrían ser importantes para la adquisición de un aprendizaje y retención de la memoria gustativa apetecible.

4.OBJETIVO GENERAL:

Identificar la participación de los receptores mGluR I en la corteza gustativa durante la formación de la memoria gustativa apetecible.

4.1. Objetivos Específicos:

1.- Identificar la participación de estos receptores en la memoria gustativa tanto apetecible como aversiva, usando como modelos el CAS y AN.

2.-Identificar en que fase de la memoria gustativa (adquisición o consolidación) están involucrados los receptores metabotrópicos del glutamato, a partir de una tarea de condicionamiento aversivo a los sabores y de atenuación de la neofobia.

5. MÉTODO

5.1. Modelo Biológico.

Se ocuparon ratas macho de la especie *Rattus norvegicus* cepa Wistar. El peso ponderal se situó entre 280 y 325g al inicio de la crianza. Se mantuvieron en cajas independientes con comida *ad libitum* y bajo condiciones controladas de temperatura ($\sim 22 \pm 2^\circ\text{C}$) y con ciclos luz-oscuridad de 12 horas. Todas las manipulaciones se hicieron durante la fase de luz.

Todos los experimentos fueron conforme a los lineamientos en materia de salud (Secretaría de Salud de México) y aprobado por el comité local de cuidados de los animales.

5.2. Cirugía.

Para la implantación de cánulas, los animales fueron anestesiados con pentobarbital (40mg/Kg.) ip. Se implantaron cánulas (9mm) bilaterales por medio de la técnica de estereotaxia (2.5mm) sobre la CI, siguiendo las siguientes coordenadas respecto a Bregma, anteroposterior 1.2mm, lateral $\pm 5.5\text{mm}$, y ventral -3mm {Paxinos & Watson, 1998}.

Se realizó una incisión sobre el plano sagital del cráneo y se colocaron separadores autoestáticos. Una vez identificado el punto de inserción de la cánula, se trepanó el cráneo de la rata para iniciar el microdescenso de la cánula hasta 2.5mm antes del área de estudio para evitar la lesión de la CI. Mediante un soporte de dos tornillos y cemento dental se fijaron las cánulas al cráneo. Se insertó un mandril en la cánula para evitar la obstrucción de la misma. Una vez terminada la operación quirúrgica, se dejó a las ratas recuperarse por cuatro días.

5.3. Procedimiento de microinyección.

Para la administración intracortical de fármacos se utilizaron jeringas de tipo Hamilton de 10µl acopladas a una bomba de microinyección (Carnegie Medicin Estocolmo, Suecia). El circuito de polietileno se ajusto a la cánula colocada previamente en el cerebro de la rata mediante una aguja de acero inoxidable (inyector) con un calibre de 30 y 2.5mm más larga que la guía cánula. Los diferentes fármacos se administraron en un volumen de 0.5µl por hemisferio con una tasa de 0.5µl/minuto. Se mantuvo el inyector en su posición durante otro minuto para favorecer la correcta difusión del fármaco administrado.

5.3.1. Fármacos.

Como vehículo se utilizó una solución artificial de líquido cefalorraquídeo (ACSF, por sus siglas en ingles), compuesto de 118 mM NaCl, 19 mM NaHCO₃, 4.7 mM KCl, 1.2 mM KH₂PO₄, 1.2 mM MgSO₄, y 2.5 mM CaCl₂ a pH 7.4 (T.J. Baker, Xalostoc, México); 3.3 mM glucosa, (Sigma, St. Louis MO) como vehículo. Para inducir activación de los receptores de glutamato se administraron 0.5µl de una solución 11.82 mM de ácido L-glutámico (Miranda *et al.*, 2002; Sigma-Aldrich, St. Louis MO). Se utilizo *(RS)-1-aminoindano-1,5-ácido dicarboxílico* (AIDA, Tocris), para inducir la inhibición selectiva de los receptores mGluR I a concentraciones de 3.5 mM, 7.04 mM y 10.5 mM. Todos los agentes farmacológicos fueron disueltos en el vehículo a pH neutro (7.4). Para disolver AIDA se utilizo una solución 1.1N de NaOH.

5.3.2. Modelos conductuales.

5.3.2.1. Neofobia y atenuación de la neofobia.

Después de cuatro días de recuperación de la cirugía, las ratas fueron privadas de agua durante 24 horas. En los siguientes cuatro días se les ofreció durante 15 minutos, 40ml de agua en probetas graduadas, en un horario de

11:00 am \pm 1 hora, para obtener la tasa de consumo promedio de líquido diario (línea base) de cada rata. Los animales fueron manipulados para habituarlos al contacto con el investigador y evitar estresarlos el día de la microinyección, así como también para valorar su estado de salud y excluir a los enfermos.

En el cuarto día, los animales son divididos en varios grupos de acuerdo a su la línea base en: grupos experimentales, controles vehículo y controles intactos, quienes no se les implementaron cánulas.

Durante el quinto día se les proporcionó 40ml de una solución de sacarina al 0.5% (Sigma, St. Louis, MO) durante 15 minutos, además de la microinyección de fármacos respectivos al experimento y al grupo de organismos experimentales o controles vehículos. En la tarde se les dio agua durante 15 minutos para hidratarlas, puesto que su primer consumo es menor en comparación de los días anteriores.

En los días 6-8 se les permitió beber nuevamente una solución de sacarina al 0.5% (solución cuya concentración elevada de sacarina le otorga un sabor fuerte, neofóbico *per se*) durante 15 minutos, seguido de agua para estudiar los efectos de las drogas en la atenuación a la neofobia. En la figura 12 se muestran los tiempos del experimento junto con los de las microinyecciones de los fármacos.

La neofobia y la atenuación de la neofobia son expresados en porcentaje de consumo con respecto a la línea base ($100 \times \text{Consumo de sacarina} / \text{promedio de la línea base de consumo de agua}$).

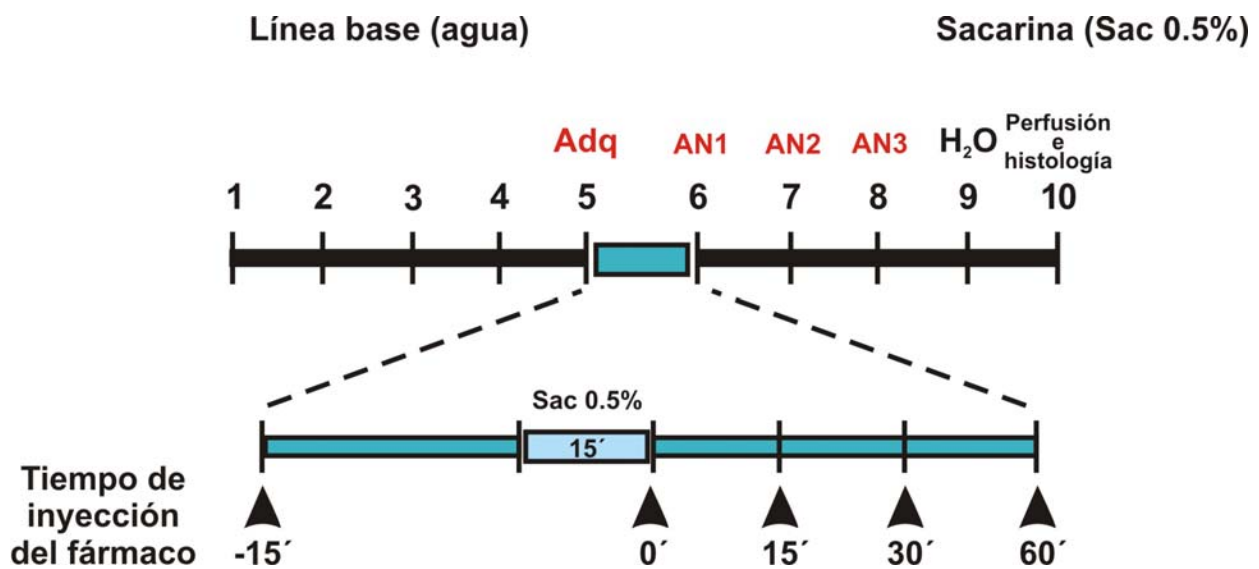


Figura 12. Metodología de atenuación de la neofobia e intervalos de inyección de los fármacos: 15 minutos antes del estímulo gustativo (-15'), inmediatamente después (0'), 15, 30 y 60 minutos después (15', 30' y 60' respectivamente).

5.3.2.2. Condicionamiento Aversivo a los Sabores CAS.

Los animales tratados con este protocolo, al igual que los anteriores, se dejan tranquilos cuatro días para reestablecerse de la cirugía y son privados de agua durante las siguientes 24 horas.

Se toma el registro del consumo promedio de agua en los subsecuentes cuatro días (15 minutos diarios) y en el quinto se le administra sacarina al 0.1% (40ml) en lugar de agua y una vez pasando 15 minutos de haberle quitado el bebedero, se les inyecta cloruro de litio ip 0.2M, 7.5ml/Kg. Ver figura 13.

Cabe destacar que las drogas (ácido glutámico, AIDA o ACSF) fueron microinyectadas intracorticalmente e inmediatamente después de haber consumido la sacarina (tiempo 0 minutos).

En las siguientes 72 horas se les presenta agua durante 15 minutos al día. Después, durante la prueba fueron estimuladas con la solución de sacarina al 0.1% y se cuantificó el consumo de esta con respecto a la línea base de agua para corroborar la aversión gustativa. Las ratas son hidratadas 15 minutos más tarde con 10ml de agua, durante 15 minutos. En los

próximos dos días se les ofrece nuevamente sacarina al 0.1% durante 15 minutos seguida de la hidratación.

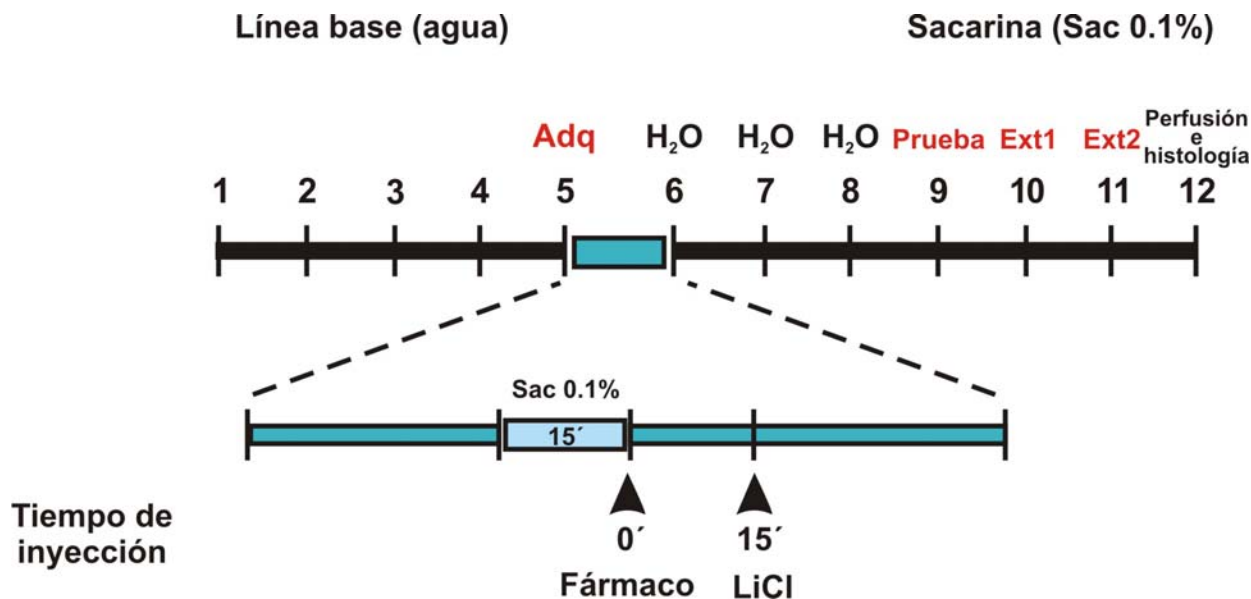


Figura 13. Metodología del Condicionamiento Aversivo a los Sabores (CAS) y tiempo de la microinyección de los fármacos.

En los días de adquisición (Adq), prueba y extinción uno y dos (Ext1 y Ext2 respectivamente) se les proporciona a las ratas sacarina al 0.1% en lugar de agua. El fármaco es microinyectado inmediatamente después de haber consumido por vez primera el sabor novedoso y 15 minutos después se aplica ip el irritante gástrico.

5.3.3. Histología

Para validar los datos conductuales, se hace un estudio histológico corroborando así que el área lesionada sea la estudiada, en este caso la CI. Los cerebros mal canulados son descartados del experimento.

Terminado el experimento las ratas son sacrificadas con una sobre dosis de pentobarbital y son profundidas por vía intracardiaca con una solución salina isotónica (0.9%), para evitar que el tejido se deteriore por cambios osmóticos y una vez terminada la eliminación de sangre, se cambia la solución por un fijador (paraformaldehído al 0.4%).

Los cerebros son removidos y preservados durante 3 días con tal fijador y posteriormente son cambiados a una solución de sacarosa al 30% por cinco

días aproximadamente. Los cerebros son cortados en criostato a $40\mu\text{m}$ y son teñidos con violeta de cresilo. Ver figura 14.

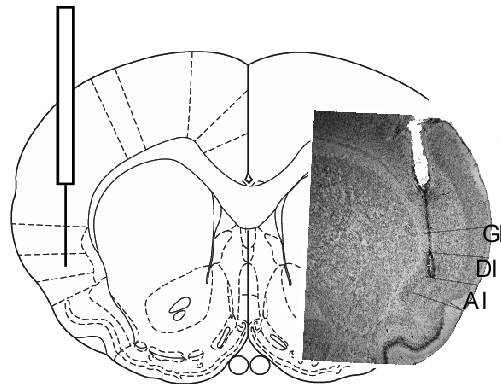


Figura 14. Sitio de microinyección de fármacos en CI.

La imagen muestra la trayectoria de la guía cánula y del inyector dispuesto entre la región disgranular (DI) y agranular (AI). GI= región granular. El esquema del cerebro fue tomado del atlas estereotáxico del cerebro de ratona de "Paxinos G. & Watson C, 1998".

5.3.4. Diseño Experimental

5.3.4.1. Experimento 1 "Implicaciones del glutamato en CI durante la Atenuación de la Neofobia"

Para identificar si hay activación de los receptores glutamatérgicos en CI en diferentes etapas del aprendizaje y memoria de un sabor apetecible, se administró glutamato a la CI de forma bilateral. Se dividió a los animales para estudiar el efecto temporal de la administración del glutamato y la asociación con estímulos gustativos (glutamato 15 minutos antes del estímulo con sacarina [Glut-15', n=8], inmediatamente posterior al consumo de sacarina [Glut 0', n=12], 15 minutos después de la sacarina [Glut 15', n=14], 30 minutos [Glut 30', n=10] y 1 hora después [Glut 60', n=13]). Para fines de comparación, el consumo de agua con sacarina fue contrastado con el consumo del grupo que recibió ACSF (ACSF -15', n=11; ACSF 0', n=14; ACSF 15', n= 14; ACSF 30', n= 12; ACSF 60', n= 14) y el grupo control intacto (Intacto, n= 30).

Se utilizó una prueba de ANOVA de una vía para establecer la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre los grupos experimentales con sus respectivos grupos controles y en los casos donde se encontró

diferencias estadísticas se hizo un análisis *post hoc* de Fischer con una significancia de (P=0.05).

Resultados.

Los grupos experimentales inyectados con glutamato antes del consumo de sacarina no presentan cambios en la ingesta del nuevo sabor con respecto al grupo control, por tanto no tiene repercusión en la percepción del sabor ($F_{2,24} = 1.269$, $P = 0.2924$).

Durante la atenuación de la neofobia (día de la prueba o segunda estimulación con la solución de sacarina), los grupos intacto, control, glutamato antes y glutamato 15 minutos después del consumo de dicha solución, no tuvieron diferencias significativas: Por el contrario los grupos tratados con glutamato inmediatamente y a la media hora después de la presentación de la sacarina, muestran un consumo bajo de esta en el día de la prueba (atenuación de la neofobia), en comparación con el grupo control. En la tabla 2 se muestran los grupos de animales tratados en este experimento.

Tabla 2. Efectos en la formación de la memoria gustativa al sobre activar los receptores glutamatérgicos en CI a diferentes tiempos, durante la atenuación de la neofobia.

Grupo	No. individuos	Nombre	Droga	Tiempo (min) de inyección	Efectos en la memoria
Experimental	8	Glut-15'	Glutamato	15' antes	Ninguno
Experimental	12	Glut 0'	Glutamato	0'	Bloquea
Experimental	14	Glut 15'	Glutamato	15' después	Ninguno
Experimental	10	Glut 30'	Glutamato	30' después	Bloquea
Experimental	13	Glut 60'	Glutamato	60' después	Ninguno
Control	11	ACSF 15'	Vehículo	15' antes	Ninguno
Control	14	ACSF 0'	Vehículo	0'	Ninguno
Control	14	ACSF 15'	Vehículo	15' después	Ninguno
Control	12	ACSF 30'	Vehículo	30' después	Ninguno
Control	14	Glut 60'	Vehículo	60' después	Ninguno
Control Intacto	30	Intacto	Ninguna		Ninguno

Únicamente Glu 0', tuvo significancia ($F_{2,34} = 8.207$, $P = 0.0012$) así como el Glu 30' ($F_{2,22} = 10.001$ y $P = 0.0008$). En la figura 15 se muestra el comportamiento de los animales durante la neofobia y durante la atenuación de la misma.

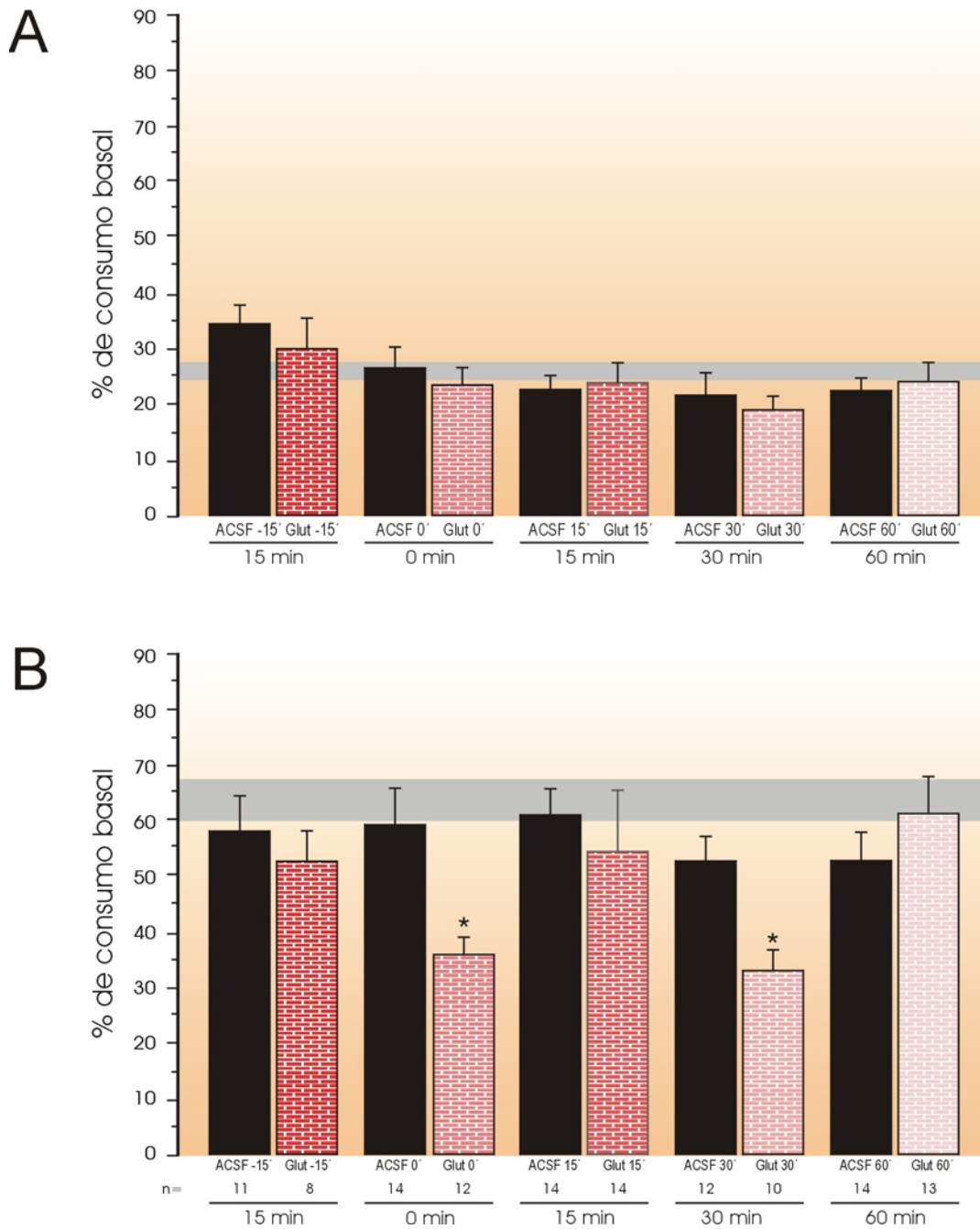


Figura 15. Efecto de la infusión de ácido glutámico (Glu) a diferentes tiempos en CI en la AN. Muestra cambios en la memoria gustativa apetecible por inyección bilateral de glutamato en CI en diferentes tiempos durante la formación de la memoria gustativa apetecible. A) Muestra el porcentaje de consumo de sacarina 0.5% en el primer día (neofobia). B) Porcentaje de ingesta de sacarina en el día de la prueba (atenuación de la neofobia). La línea sombreada representa el porcentaje promedio (con su error estándar) del consumo basal del grupo control intacto.

Los resultados obtenidos en el experimento 1 muestran que los receptores glutamatérgicos están involucrados de alguna forma en la formación de la memoria gustativa apetecible. Tomando en consideración los trabajos previos en este laboratorio, los cuales indican que los receptores

ionotrópicos de glutamato como el NMDA, no participa durante la atenuación de la neofobia {Gutiérrez Ranier *et al.* 2003a}, {Gutiérrez R., Téllez L. A. & Bermúdez-Rattoni F. 2003b}, {Ferreira G. *et al.* 2002} y por ende podría pensarse que los AMPA/Kainato tampoco, debido a que estos regulan la actividad de los NMDA. Por tanto, lo más probable es que los receptores mGluR estén participando. Por lo que se consideró investigar si los receptores mGluR I tienen alguna ingerencia en este tipo de memoria.

5.3.4.2. Curva dosis respuesta de AIDA.

Para ver como está involucrado este receptor, se hicieron experimentos farmacológicos con el antagonista específico de los receptores mGluR I, denominado AIDA.

Sin embargo, como hay pocos estudios farmacológicos *in vivo* con estas drogas, se evaluaron cuales eran las dosis más utilizadas en la literatura y a partir de ellas se hizo una curva dosis – respuesta tomando en consideración las concentraciones ocupadas en algunos trabajos tanto *in vitro* como *in vivo*, para seleccionar la más adecuada a ser inyectada inmediatamente después del estímulo gustativo.

Las concentraciones estudiadas fueron: AIDA 3.5mM, 7.04mM y 10.5mM.

Resultado.

El resultado mostrado en la siguiente gráfica muestra que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los grupos durante la primera presentación del estímulo gustativo $F_{3,24} = 0.618$, mientras tanto, en la atenuación de la neofobia sí son significativas las diferencias en el consumo de sacarina ($F_{3,24} = 2.921$; $p < 0.05$). Para AIDA, la dosis idónea fue a una concentración de 3.5mM (consultar figura 16), cabe destacar que las dosis ocupadas para este fármaco, no producen efectos colaterales como movimientos involuntarios o efecto anestésico aparente, ni tampoco amnesia crónica en las ratas.

A partir del conocimiento de esta concentración del fármaco, se procedió a plantear el siguiente experimento.

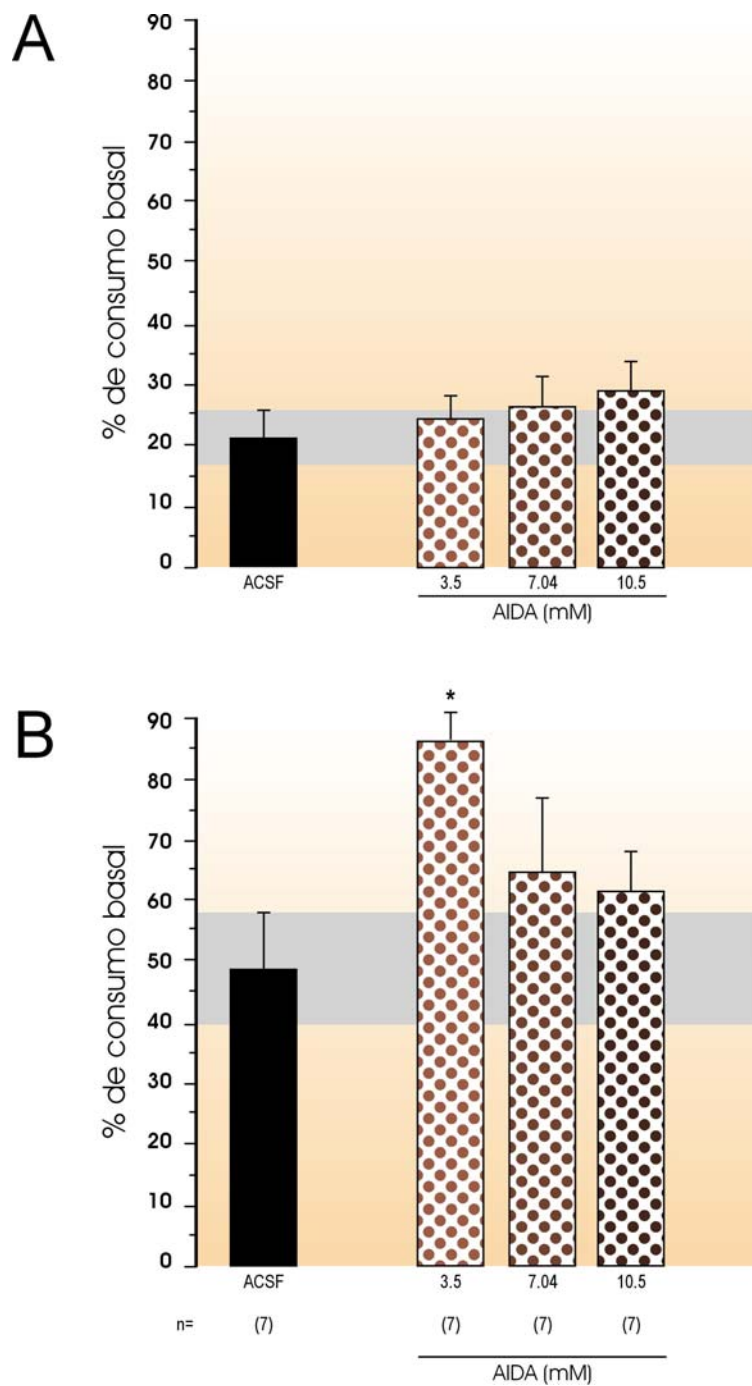


Figura 16. Curva dosis respuesta de AIDA inyectada bilateralmente en CI durante la AN, al tiempo 0min. A) Primera presentación del sabor (neofobia). B) Segunda presentación (atenuación de la neofobia). Las inyecciones fueron echas inmediatamente después de probar el sabor.

5.4. Experimento 2 “Importancia de la inhibición de los mGluR I en corteza insular durante la atenuación de la neofobia”.

Se inhibieron los receptores metabotrópicos tipo I en CI mediante la microinyección bilateral del antagonista AIDA en los tiempos de participación del glutamato durante la atenuación de la neofobia y fueron comparados contra Glut 0' y Glut 30', así como con los grupos control correspondientes (consultar tabla 3).

Tabla 3. Efectos en la formación de la memoria gustativa al sobre activar los receptores glutamatérgicos en CI a diferentes tiempos, durante la atenuación de la neofobia.

Grupo	No. individuos	Nombre	Droga	Tiempo (min) de inyección	Efectos en la memoria
Experimental	12	Glut 0'	Glutamato	0'	Bloquea
Experimental	12	AIDA 0'	AIDA	0'	Favorece
Control	14	ACSF 0'	Vehículo	0'	Ninguno
Experimental	10	Glut 30'	Glutamato	30' después	Bloquea
Experimental	8	AIDA 30'	AIDA	30' después	Favorece
Control	12	ACSF 30'	Vehículo	30' después	Ninguno

Resultados.

Se encontró que no hay diferencias significativas entre los grupos durante la neofobia, empero, se muestran diferencias entre los grupos infundido con AIDA a los tiempos 0' y 30' ($F_{5,62}=9.732$, $P<0.0001$) con respecto al grupo control y al grupo de experimental de glutamato en los mismos tiempos de inyección. Mientras que los resultados de glutamato muestran una disminución de la memoria reflejada por una reducción de la atenuación de la neofobia, la inhibición de los mGluR I con AIDA produce un incremento en la atenuación de la neofobia y por ende, un incremento de la memoria gustativa apetecible, como se observa en la figura 17. Lo anterior sugiere que los mGluR I requieren estar inhibidos para que se facilite la memoria en este tipo de aprendizaje. Pero para conocer qué tan específico es este fenómeno, se sugiere el próximo experimento.

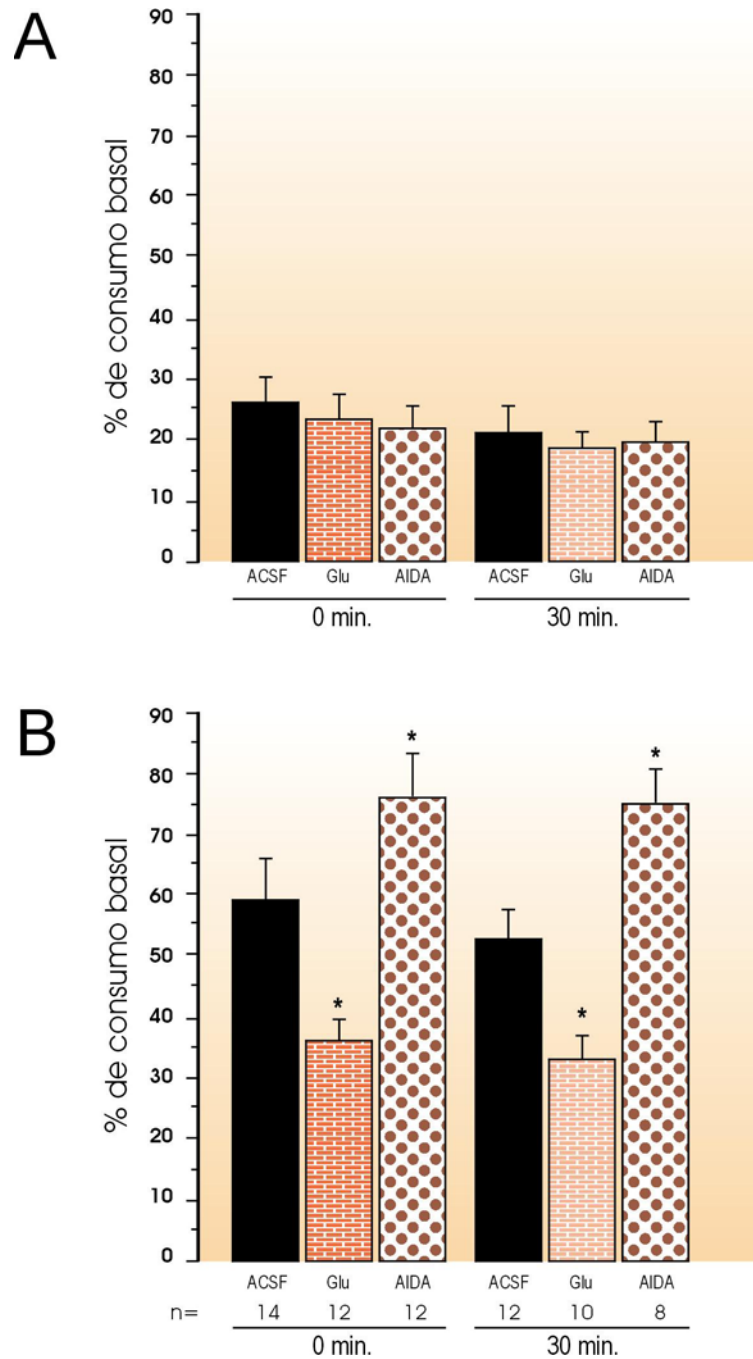


Figura 17. Efecto de la infusión en CI del agonista y antagonista (AIDA) de los receptores mGluR I en AT. A) Muestra el porcentaje de consumo de sacarina 0.5% en el primer día. B) Porcentaje del ingesta del nuevo sabor en el segundo día (atenuación de la neofobia). La línea punteada representa el promedio de consumo del grupo control.

5.4.1.1. Experimento 3 "Microinyección del agonista y antagonista de los mGluR I en IC durante AN"

Para corroborar que el efecto de modulación de la memoria es debido a la regulación de la actividad de los receptores glutamatérgicos a partir de los

receptores mGluR I, se microinyectó AIDA y glutamato en CI (0.5µl) en cada hemisferio, bajo las mismas condiciones y concentraciones que en los grupos anteriores.

Dicho experimento consistió en probar dos grupos experimentales con sus respectivos controles:

1. Al tiempo cero minutos (AIDA & Glu 0' n=9)
2. Otro a los 30 minutos (AIDA & Glu 30' n= 7).

Resultados.

Se observa en la figura 18 que no hay diferencias significativas entre los grupos experimentales con sus controles, tanto en la neofobia, como durante la atenuación de la neofobia. En esta última, los datos se analizaron por medio de *t student*, (ACSF 0' vs AIDA & Glutamato 0' $t_{22}= 11.131$, $P<0.0001$; ACSF 30' vs AIDA & Glutamato 30' $t_{17}= 9.836$, $P<0.0001$).

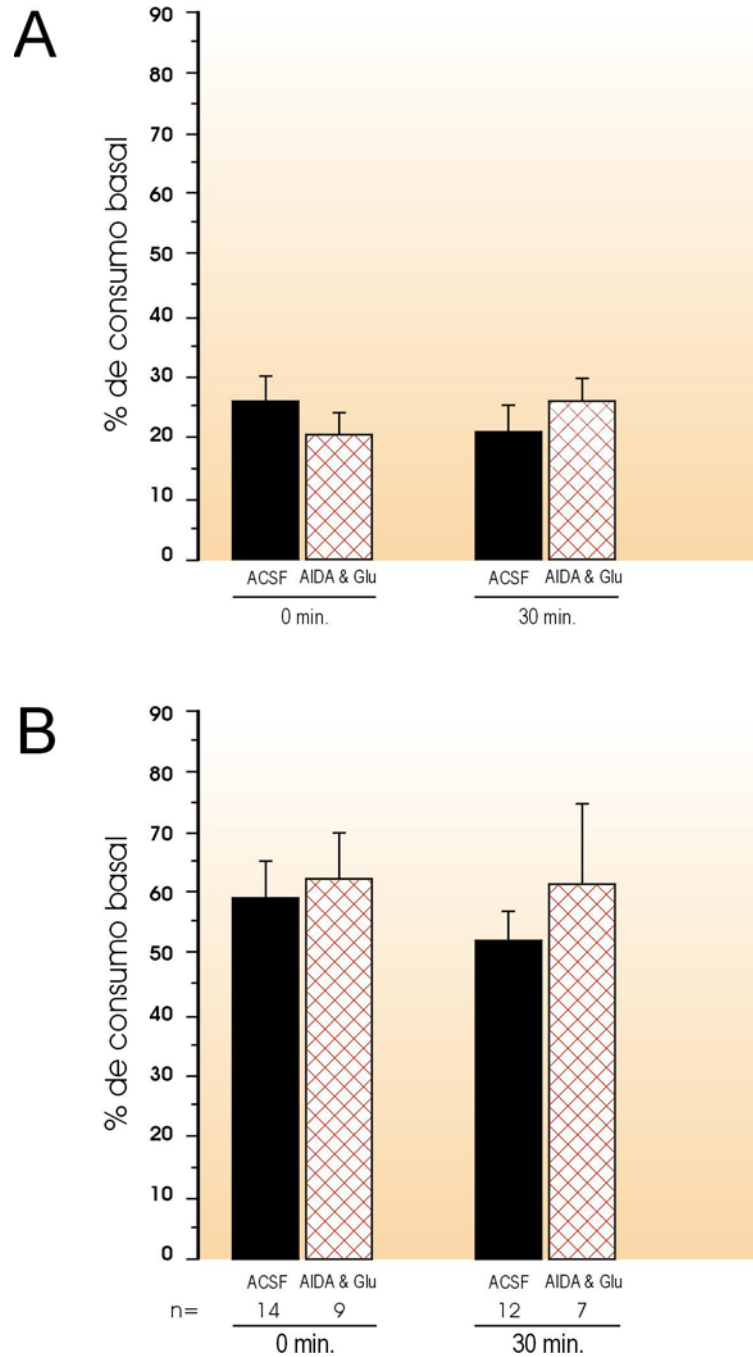


Figura 18. Microinyección del agonista junto con el antagonista de los receptores mGluR I en CI durante AN.

A) Muestra el porcentaje de consumo durante la neofobia. B) Porcentaje de la atenuación. En esta última, la combinación de AIDA con Glutamato en los dos tiempos tienen un efecto de anulación de las conductas obtenidas cuando se microinyectan en grupos separados como se observa en el experimento anterior.

5.5. Experimento 4 “Posible implicación de los mGluR I en CI durante el CAS”.

Con objeto de conocer si los receptores mGluR I están involucrados en el procesamiento de la aversión a los sabores. Se analizaron los efectos de AIDA inyectada en IC inmediatamente después de haber retirado el bebedero con sacarina, previo a la inducción del irritante gástrico (LiCl) ip (~5 min ± 2 min), dicho grupo se le denominó, AIDA 0' + LiCl y a un grupo control (+/-) con AIDA sin irritante gástrico (AIDA 0' + NaCl); un grupo control (-/+), cuya microinyección es con solución vehículo con LiCl (ACSF 0' + LiCl); y otro grupo (-/-), con vehículo y sin irritante y ACSF 0' + NaCl. La concentración del cloruro de litio fue de 0.2M (7.5ml/Kg) ip, aplicada 15 minutos después de la sacarina. En la tabla 4 se muestran los grupos

Tabla 4. Inhibición de los mGluR I en CI durante la formación de la memoria gustativa aversiva en un modelo de condicionamiento aversivo a los sabores (CAS).

Grupo	No. individuos	Nombre	Droga	Tiempo (min) de inyección	Efectos en la memoria
Experimental	6	AIDA 0'+LiCl	AIDA	0'	Ninguno
Control (+/-)	7	AIDA 0'+NaCl	AIDA	0'	Ninguno
Control (-/+)	5	ACSF 0'+LiCl	Vehículo	0'	Ninguno
Control (-/-)	7	ACSF 0'+NaCl	Vehículo	0'	Ninguno

5.5.1. Resultado

No hay diferencias significativas entre los grupos durante la adquisición del CAS, de igual manera no hay diferencias en la prueba, entre los grupos a los cuales se les aplicó CAS según los datos obtenidos con la “*t student*”, (AIDA + LiCl *vs* ACSF + LiCl, $t_{10} = 5.98$, $P = 0.0001$). Sin embargo, en el grupo experimental sin irritante gástrico (AIDA + NaCl) con respecto a su control (ACSF + NaCl), hay un incremento del consumo de sacarina el día de la prueba ($t_{13} = 7.66$, $P < 0.0001$), es decir se observa nuevamente una preferencia al sabor novedoso a una concentración menor (sacarina al 0.1%) que la tratada en el experimento dos. Como se puede visualizar en la grafica 19, lo cual sugiere que los receptores mGluR I en CI, no están involucrados en la formación de la memoria gustativa aversiva. No obstante, es probable que en

otras estructuras cerebrales que conforman el trazo gustativo, sí tengan alguna injerencia, por lo que se propuso indagar en BLA, bajo la atenuación de la neofobia. Dicha estructura tiene un papel importante en el condicionamiento aversivo a los sabores, debido a que presenta una mayor liberación de glutamato que la CI tras la inyección ip de LiCl {Miranda MI, Ferreira G, Ramirez-Lugo L, Bermudez-Rattoni F. 2002}. Sin embargo no se sabe si esa liberación de glutamato también participa durante la atenuación de la neofobia.

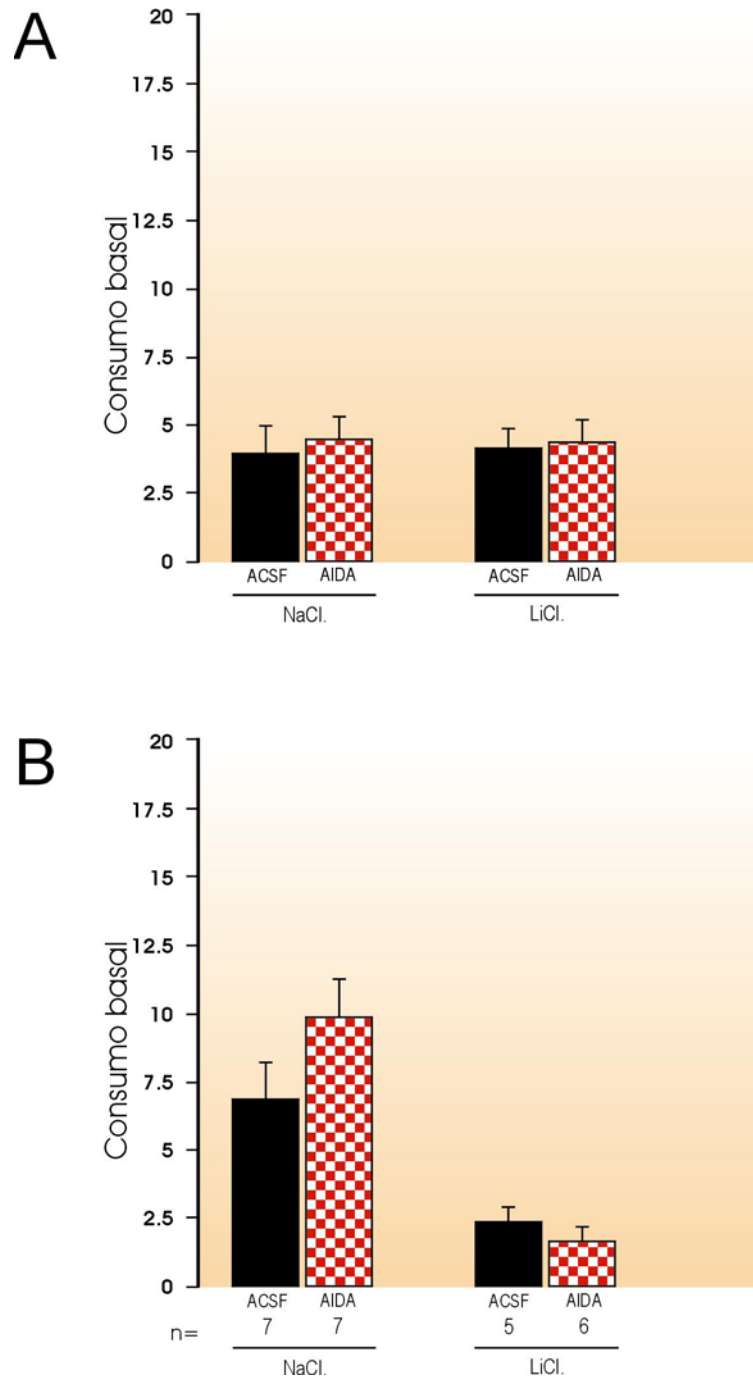


Figura 19. Inhibición de los receptores mGluR I con AIDA en CI durante la adquisición del CAS.
A) Muestra el consumo de sacarina 0.1% durante la adquisición (primer presentación del sabor novedoso). **B)** Segunda presentación del sabor nuevo una vez asociado al irritante gástrico (LiCl) o no, en el caso de inyección ip de NaCl. No se abate el CAS cuando se inyecta bilateralmente AIDA en CI tiempo 0´ tanto durante la adquisición como durante la prueba de la tarea.

5.6. Experimento 5 “Probable participación de los mGluR I en Amígdala durante la AN”.

Considerando la importancia de la ABL en la memoria gustativa, se hizo un estudio en esta estructura para ver si están involucrados de igual forma los receptores metabotrópicos de glutamato tipo I, como se observa en la tabla 5.

Tabla 5. Inhibición de los mGluR I en ABL & en CI durante la formación de la memoria apetitiva en AN.

Grupo	No. individuos	Nombre	Droga	Tiempo (min) de inyección	Efectos en la memoria
Experimental	10	AIDA 0' ABL	AIDA	0'	Ninguno
Experimental	7	AIDA 0' CI	AIDA	0'	Favorece
Control	10	ACSF 0'	Vehículo	0'	Ninguno

5.6.1. Resultados.

Como se denota en la gráfica 20 y es corroborado por la ANOVA, no hay diferencias significativas entre los grupos durante la neofobia ($F_{2,28} = 0.711$, $P = 0.4999$). En la atenuación de la neofobia, el grupo al que se le inyectó AIDA en el tiempo cero en ABL y el control en la misma estructura no presentan diferencias significativas, en contraste si las hay entre AIDA tiempo 0 minutos en CI con respecto a los otros dos grupos. $F_{2,28} = 4.9114$, $P = 0.0148$.

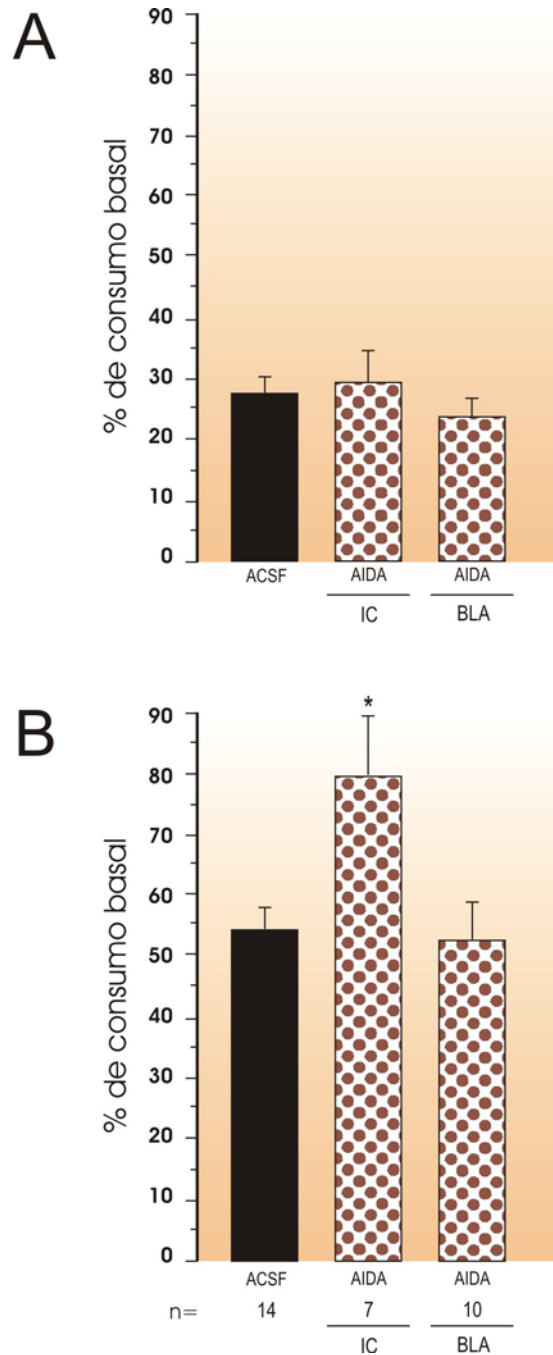


Figura 20. Inhibición de los receptores mGluRI con AIDA en ABL, durante la formación de la memoria gustativa apetecible en la AN, como ocurre en CI.
 A) Muestra el porcentaje de consumo de sacarina al 0.5%, durante la neofobia. B) Porcentaje de consumo de sacarina durante la atenuación de la neofobia.

A continuación se presenta en la figura 21, un compendio de los resultados obtenidos en los experimentos anteriores de AN, donde se observa los efectos que tiene la sobre activación o la inhibición de los receptores mGluR I en CI, durante la formación de una memoria apetecible en ratas.

En el tiempo “0 minutos” durante la neofobia no hay diferencias significativas entre el grupo control (ACSF), glutamato, AIDA y AIDA & Glutamato ($F_{3,46} = 0.249$), mas en la atenuación de la neofobia se observan cambios significativos entre estos grupos ($F_{3,46} = 6.355$; $p < 0.01$). Mientras el grupo tratado con glutamato presenta un detrimento en la ingesta de sacarina, AIDA la incrementa con respecto al control $p < 0.05$ y el grupo tratado con AIDA & Glutamato no muestra efectos significativos al compararse con el grupo control.

De igual forma se observa una respuesta normal (sin diferencias significativas) durante la neofobia entre los grupos inyectados 30 minutos después; control (ACSF), Glutamato (Glu 30), AIDA (AIDA 30) y AIDA con Glutamato (AIDA & Glu 30) ($F_{3,41} = 1.082$). Durante la atenuación de la neofobia si hay diferencias significativas en estos grupos ($F_{3,41} = 5.016$; $p < 0.01$). El grupo al cual se le inyectó glutamato 30 minutos después de la ingesta de sacarina muestra detrimento de la memoria apetecible (presenta todavía neofobia), en tanto el grupo manipulado con AIDA tiene una facilitación de esta (atenúa más rápido la neofobia) en comparación con el grupo control ($p < 0.05$). El grupo AIDA & Glu 30 no tiene diferencias significativas con su control, ni tampoco el grupo glutamato inyectado 60 minutos después, el cual fue comparado con su respectivo grupo control mediante una prueba de “*t*” no pareada ($t_{26} = 0.319$).

En la figura 21 se muestra un resumen de los efectos provocados por la estimulación e inhibición de los receptores mGluR I en CI a diferentes tiempos durante la formación de una memoria gustativa apetecible.

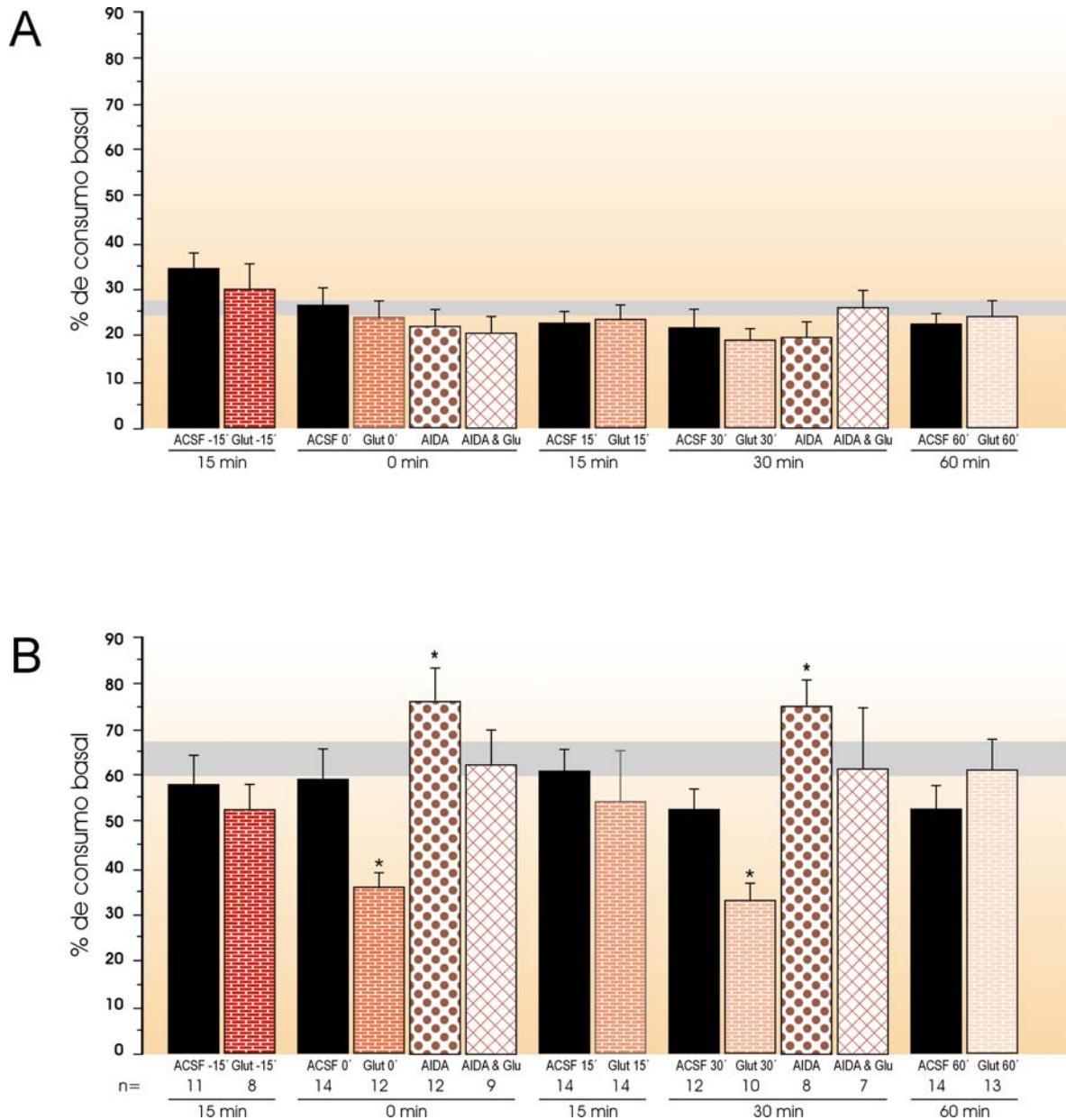


Figura 21. Diferentes efectos del glutamato, AIDA y AIDA/Glutamato inyectados en CI antes, inmediatamente después de la primera presentación del sabor, a los 15, 30 o 60 minutos después durante la AN.

La línea gris representa el promedio de los grupos controles con un $p < 0.05$. A) Muestra el porcentaje de consumo de sacarina al 0.5%, durante la neofobia. B) Porcentaje de consumo de sacarina durante la atenuación de la neofobia.

6.DISCUSIÓN.

Durante el procesamiento de la memoria hay cambios en cuanto a la comunicación neuronal que puede dar como resultado modificaciones citoarquitectónicas de las mismas, con el fin de formar una vía rápida o trazo que modifique la entrada y salida de información, ya sea, ante subsecuentes

estimulaciones o ante otros procesos mnemónicos, como la evocación. En la actualidad, se conocen las estructuras cerebrales que implicadas en el sistema gustativo, así como las estructuras involucradas en la formación de la memoria gustativa, (ver apéndice I) y se ha observado que en varias de estas, se activan genes de expresión temprana, como *c-fos*, {Yasoshima Y. *et al.* 2006} además hay síntesis {Rodríguez-Ortiz C. J. *et al.* 2005} y fosforilación de proteínas {Berman D. E. *et al.* 2000}, {Rosenblum K. *et al.* 1997} que modifican la respuesta neuronal ante subsecuentes presentaciones del sabor novedoso.

En la CI principalmente se han evidenciado estos cambios y se han reconocido los neurotransmisores con sus respectivos receptores que son indispensables en el reconocimiento de nuevos sabores, sabores familiares apetecibles y aversivos {Miranda M. I. *et al.* 2000}, {Berman D.E. *et al.* 2000}, {Bermúdez-Rattoni F. *et al.* 2004}.

En el presente estudio se observó que la infusión de glutamato, en la CI, tanto inmediatamente después de haber ingerido por primera vez un sabor o a la media hora, se produce un estado de no familiaridad (mantenimiento de la novedad) al sabor en subsecuentes presentaciones, pero no cuando se estimulan a los quince o sesenta minutos después de haberlo probado. La inhibición de dichos receptores, durante la misma ventana de activación que el glutamato, favorece la atenuación de la neofobia, mas no afecta la conducta hiponeofágica, es decir, no altera la percepción del nuevo sabor, y en cambio, favorece la adquisición del nuevo aprendizaje. Si se inyecta un combinado de glutamato y AIDA (el inhibidor de los mGluR1) se nulifican sus efectos, por tanto se obtiene una atenuación de la neofobia normal.

Dicho patrón podría significar que la formación de la memoria gustativa apetecible es lábil por lo menos en dos tiempos donde la modulación por los mGluR I es crucial para clasificar un sabor. Cuando están inactivos se vuelve apetecible (familiar) y por el contrario, si están activos se mantiene como novedoso. Dicho de otra forma, la sobre activación de los receptores glutamatergicos produce un aumento del ruido sináptico y por ende alteraciones en la memoria {Maciejak P, *et al.* 2003}.

Miranda y colaboradores {Miranda M.I. *et al.*, 2002} encontraron al hacer microdiálisis, tanto en CI como en amígdala, un aumento significativo de glutamato en presencia de un irritante gástrico y si se inyecta glutamato (2µg) intracortical, se expresa una fuerte aversión al sabor, es decir, el glutamato está involucrado en la formación de la memoria gustativa aversiva. En mi experimento, se observa que los mGluR 1 no están involucrados (o no significativamente) en la aversión a los sabores, según los datos obtenidos en el CAS. No en tanto, sí tienen un valor importante en la memoria gustativa apetecible y en particular durante la adquisición y consolidación de esta, ya que se modifica la conducta de atenuación a la neofobia cuando se inyecta glutamato o el antagonista de los mGluR 1 una vez adquirida la memoria, esto es inmediatamente después de haber consumido sacarina 0.5% por primera vez (tiempo 0 minutos o 30 minutos después de la adquisición) (posiblemente durante la consolidación de dicho aprendizaje). Cabe destacar que la estimulación con dichos fármacos no afectan la detección del sabor, puesto que al inyectarse 15 minutos antes de percibir el sabor novedoso, no modifica la neofobia. Según resultados de Schachtman y colaboradores, el CAS es abatido por la inyección ip del antagonista para los receptores mGluR 5 (MPEP) y no de los mGluR 1 (AIDA) {Schachtman T. R. *et al.* 2003}, de igual forma, cuando son inhibidos los mGluR I en CI no se bloquea el CAS {Escobar M. L. Alcocer I. & Bermúdez-Rattoni F. 2002}. Lo cual podría sugerir que los mGluR 5 actúan en el CAS mientras que, de acuerdo a mi investigación, los mGluR 1 en CI, están involucrados en los procesos mnemónicos del aprendizaje gustativo apetecible (atenuación de la neofobia) y tienen dos fases de acción, una durante la adquisición y otra en la consolidación del aprendizaje.

Con respecto a la participación del glutamato en dos tiempos distintos, fenómenos parecidos acontecen en otros trabajos como el de Ferreira y colaboradores {Ferreira G. *et al.* 2002} quienes sugieren que hay activación de los receptores de NMDA en CI, durante el consumo del estímulo gustativo novedoso y nuevamente durante la percepción del irritante gástrico o aversivo.

Estas ventanas de activación suceden en otros casos como en la fosforilación de tirosinas en CI después de la ingestión de un sabor nuevo, solo que esta permanece encendido por tiempos bajos (de minutos a horas) {Rosenblum K. *et al.* 1995}. Así como durante la consolidación de una tarea denominada condicionamiento contextual al miedo, en la cual hay fosforilación de las proteínas ERK1/2 y CREB de 0-1 hora y de 9-12 horas {Trifilieff P. *et al.* 2006}. En otras palabras, el comportamiento de la activación de proteínas en dos fases distintas, durante la formación y consolidación de la memoria es observada en varios protocolos conductuales.

Eckert y Racine sugieren que los mGluR 1 están involucrados en la formación de metaplasticidad (un proceso que induce cambios nimios en la sinapsis, no detectables electrofisiológicamente, pero permite subsecuentes cambios en el sistema) que favorece la facilitación de la memoria y de la inducción del LTP {Eckert MJ, Racine RJ. 2004}. Además Maciejak P. y colaboradores han encontrado que los mGluR 1 participan en la consolidación de la memoria de condicionamiento al miedo {Maciejak P, *et al.* 2003}. Al suministrar en el hipocampo el antagonista de los mGluR 1, AIDA, tanto el agonista como antagonista de mGluR 5 (CHPG y MPEP respectivamente) una vez adquirido el condicionamiento al miedo, hay un incremento de la conducta de congelamiento en el grupo inyectado con AIDA, es decir hay una facilitación de la memoria, en tanto, los agonistas y antagonistas de mGluR 5 no produjeron ningún efecto. También demuestran que la presencia de AIDA en hipocampo decrece significativamente la expresión de *c-fos* en el giro dentado y CA1 durante el periodo de tiempo correspondiente al incremento del condicionamiento a la conducta de congelamiento. Cabe destacar que la expresión de *c-fos* está involucrada en la detección de la novedad e implicada en aprendizaje y reconocimiento de nuevos eventos cognitivos.

Los resultados emanados en este trabajo de memoria gustativa, coinciden con los datos obtenidos por Maciejak P y colaboradores, lo que sugiere que la falta de activación de los receptores mGluR 1 está asociada a la pérdida de novedad del estímulo gustativo, formando una memoria gustativa apetecible. Por otro lado, los mGluR 5 –según Schacman– participan en la

formación de la memoria gustativa aversiva, sin embargo esto último habría que confirmarlo al inyectar bilateralmente en CI y amígdala bajo las mismas condiciones que en el presente estudio, puesto que ellos los aplican intra peritoneal, por tanto no son tan específicos pues afectan a todas las estructuras cerebrales y a órganos.

7. CONCLUSIÓN.

- Los receptores mGluR I participan negativamente o requieren estar inactivos en la formación y/o consolidación de la memoria gustativa apetecible.
- Los receptores mGluR I podrían estar ejerciendo una regulación negativa sobre los receptores tipo NMDA, así como también con los AMPA/Kainato y/o tener intercomunicación cruzada (*cross talk*) con receptores de ACh, los cuales están ampliamente involucrados en procesos de memoria gustativa apetecible.
- Los receptores metabotrópicos de glutamato tipo I no afectan el procesamiento del estímulo gustativo puesto que se observa una conducta hiponeofagia a la sacarina (0.5%) en la primera presentación, pero si se aprecian modificaciones en la adquisición y la consolidación de la memoria apetecible, porque al inyectar AIDA en CI inmediatamente o a los 30 minutos después de haber consumido el sabor novedoso, se observa una mejora en la formación de la memoria apetecible.
- Con los elementos antes señalados es posible considerar futuros trabajos de investigación que nos permitan escudriñar en las funciones de los receptores metabotrópicos de glutamato, así como la observación sobre las distintas interacciones de los receptores en cuanto cascadas intracelulares para producir procesos de plasticidad sináptica y neuroprotección de las células neuronales.
- Los experimentos presentados permiten dar cabida a otras investigaciones de enfermedades neurodegenerativas como demencias,

Síndrome de Alzheimer, epilepsias, excitotoxicidad, esquizofrenia y la esclerosis múltiple.

Apendice I. Vías del procesamiento de la información gustativa.

Núcleo del Tracto Solitario (NTS) o Fascículo Solitario.

La información gustativa, al igual que la visceral, respiratoria y pulmonar viajan del NTS al núcleo parabraquial. La gustativa es transportada de forma ipsilateral rodeando al *brachium conjunctivum* hasta la región posteromedial y lateral. {Reilly S. 1999}, {Karimnamazi H. *et al.* 2002}. Sin embargo, algunos estudios electrofisiológicos y con técnicas de doble marcaje, demuestran que en la región *Waist* (región gustativa), se encuentra el 15% de la población de neuronas transportadoras de información visceral. Por otro lado, se encontró actividad orosensorial de la cavidad oral posterior, en la región rostral y lateral correspondiente a la parte visceral {Karimnamazi H. *et al.* 2002}.

Núcleo Parabraquial (NPB).

El núcleo parabraquial podría ser la primer área donde se procesa la información gustativa y visceral, según investigaciones de John-Paul Baird *et al.* (2001). Puesto que células gustativas registradas electrofisiologicamente en el NPB fueron coactivadas o moduladas por distensión gástrica. También encontraron inhibición de algunas pocas células gustativas a partir de diferentes estimulaciones gástricas con infusión intragástrica lipídica, infusión de glucosa, glucagon e insulina, que imitan los procesos de saciedad.

El NPB transporta la información por medio de dos rutas, una, se conecta bilateralmente con la región *Parvicellular* del núcleo talámico ventroposteromedial (núcleo gustativo del tálamo) {Paxinos G. & Watson C. 1995} que a su vez proyecta a CI; y al núcleo parasubtalámico en el cual confluye información gustativa y visceral del nervio glossofaríngeo y vago, provenientes del NTS. El Núcleo parasubtalámico, también manda la información a la CI. {Goto M. & Swanson L. W., 2004}.

La otra vía es por medio del sistema límbico conectándose con la ACe {Sakai N., & Yamamoto T., 1999}, núcleo de la *estria terminalis* del tálamo, hipotálamo lateral y sustancia *inominata*. Todas estas estructuras envían la información a la CI {Reilly S., 1999}.

Proyecciones del Núcleo Parabraquial al Núcleo del Tálamo Gustativo

El NPB envía axones al tálamo ventroposteromedial *parvicellular* o tálamo gustativo de forma bilateral, al igual que al núcleo parasubtalámico cuya función es modular la respuesta digestiva y metabólica, puesto que adquiere información del núcleo parasimpático preganglionico del cerebro medio, de los núcleos motores orofaciales, aferencias viscerales y gustativas del NTS y NPB e información olfativa a través de la amígdala {Goto M. & Swanson L. W., 2004}.

Las proyecciones del tálamo ventroposteromedial pasan rostrolateralmente a través de la *zona inserta* en la cual pueden formarse algunas sinapsis colaterales, y entra en la *cápsula interna*. Continúa avanzando a través del tercio ventral del *caudado-putamen* arribando a la *cápsula externa*, penetra las capas profundas de la corteza hasta llegar al *claustrum* al cual lo rodea y termina finalmente en la CI localizada en la región dorsal del *surco* rhinal por donde cruza la arteria media cerebral {Paxinos G. & Watson C. 1995}.

De igual forma el núcleo parasubtalámico manda axones ipsilaterales a la CI región agranular, a la BLA región caudolateral, ACe parte medial, parte ventral capsular y en la periferia de la lateral. También tiene algunas proyecciones a la corteza entorhinal {Goto M. & Swanson L. W., 2004} y al *globus pallidus*, el cual tiene conexiones recíprocas con la corteza prelímbica y la CI agranular región dorsal y es muy importante en la regulación de la ingesta {Brog JS, *et al.* 1993}.

Por otra parte, el tálamo mediodorsal y subcomisura ventral tegmental tiene comunicación bidireccional con el núcleo *accumbens*, con la corteza orbital lateral e insular agranular ventral. Recibe proyecciones de la corteza

piriforme y las manda de igual forma a la CI. Así mismo, interacciona con la corteza olfativa primaria y núcleos corticales de la amígdala y corteza orbital medial {Ray J. P. & Price J. L., 1992}.

Proyecciones del NPB al sistema límbico (cerebro anterior), las conexiones son bidireccionales y se ha visto que en amígdala, hipotálamo lateral y CI, se modulan las respuestas gustativas del NPB y NTS.

Muchos axones del NPB se extienden ventrolateralmente a través de la zona inserta y la cápsula interna para distribuirse ampliamente en el cerebro anterior ventral, con el cual tiene conexiones ipsilaterales, principalmente con el área gris ventrolateral a central en el paquete tegmental dorsal y algunos en ventral, también tiene conexiones con el tracto tegmental central lateral. Los fascículos ventrales los manda a la sustancia Nigra parte compacta y continúan rostralmente a través del hipotálamo posterior lateral, evitando al núcleo subtalámico y el pedúnculo cerebral. De igual manera, tiene contacto con la ACe subdivisión medial, la parte ventrolateral del núcleo basal *parvicellular*, núcleo basomedial y accesorio {McDonald A. J., 1999}.

Las porciones celulares más dorsales se comunican con el tálamo para terminar densamente en la extremidad medial del núcleo posteromedial ventral y se pierden en el parafascicular central medial, entre otros núcleos de la línea media {Paxinos G. & Watson C. 1995}.

Estría terminal del tálamo

La estría terminal del tálamo es una estructura perteneciente al cerebro medio, cuya función (junto con la amígdala) posiblemente esté involucrada en la asociación o integración entre un estímulo gustativo con uno visceral {de la Torre-Vacas L & Agüero-Zapata A., 2006}. Recibe proyecciones del NTS rostral y medial y del NPB medial y manda gran cantidad de las proyecciones al núcleo *accumbens* región caudal, algunas de estas fibras continúan en la región ventromedial del núcleo *accumbens* y rostral, para terminar en las capas profundas del tubérculo olfativo y en el extremo rostral del núcleo septal

lateral. Algunas otras fibras que llegan al núcleo *accumbens* son enviadas a la sustancia *innominata* caudal.

La ACe recibe fibras de la estria *terminalis/ansa peduncularis* tanto en región ventral y medial. Muy pocas fibras son llevadas a otras partes del núcleo amigdalino. En tanto que la basta mayoría de las fibras de la estria terminal región descienden a través del hipotálamo. Las fibras entran por el hipotálamo lateral a la sustancia *Innominata* medial y área preóptica lateral. Algunas de las eferencias continúan al núcleo hipotalámico paraventricular llegando hasta el pedúnculo cerebral. También llegan al VTA. Todas estas estructuras tienen una gran relevancia en el control de la actividad motora orofacial.

El estriado región anterolateral inerva también al *Estriatum* olfativo, parte del sistema estriatopalidal dorsal y sistema neuroendocrino cuyas funciones están ampliamente vinculadas con el control de la homeostasis, predominantemente en el sistema autónomo y en la conducta de ingestión.

Cabe destacar que dicha región del estriado, al igual que la ACe reciben gran cantidad de impulsos provenientes de la corteza gustativa, visceral y olfativa, corteza prefrontal (infralimbica y prelimbica), corteza entorhinal, hipocampo y algunas cortezas relacionadas con el sistema auditivo, visual y somatosensorial.

Núcleo *accumbens*

El núcleo *accumbens* está involucrado en funciones de locomoción, ingesta {Sangeeta M. *et al.*, 2004}, motivación y respuesta de reforzamiento {Kirouac G. J. & Ciriello J., 1997}. Es parte del estriado ventral {Kirouac G. J. & Ciriello J., 1997}, localizado en la parte rostrbasal del cerebro medio; rostralmente delimita con el núcleo endopirhiforme dorsal y con la corteza orbital región ventral y caudalmente con los núcleos estria terminal del tálamo. Anatómicamente se divide en dos subnúcleos:

Núcleo *accumbens* central que rodea a la comisura anterior y a su vez es cubierta por el otro subnúcleo del *accumbens*, el laminar o periférico (*Shell*), el

cual colinda dorsolateral con el caudado-putamen {Paxinos G. & Watson C. 1995}.

Núcleo *accumbens* recibe información del sistema límbico, así como de corteza prefrontal (prelímica, infralímica, y cingulada), hipocampo (laminar a partir del subinículum ventral y el subnúcleo central del subinículum dorsal) y BLA, Basomedial {Helm K. A., *et al* 2003}, {Kirouac G. J. & Ciriello J., 1997}, {Brog JS *et al.* 1993}, *globus pallidus* ventral, aferencias dopaminérgicas del mesencéfalo ventral, VTA y tálamo paraventricular, núcleo talámico intralaminar y medial {Kirouac G. J. & Ciriello J., 1997}.

Cabe destacar que la información proveniente del núcleo amígdalino basal accesorio es de origen sensorial multimodal primordialmente auditiva y visceral. Estos impulsos llegan a los dos subnúcleos, pero el laminar los manda al VTA lateral, mientras que el central a la sustancia Nigra {Wright CI, *et al.* 1996}.

Algunas de las inervaciones provenientes del hipotálamo llevan información visceral, por lo que, puede estar involucrado en el procesamiento de la información gástrica {Sangeeta M. *et al.*, 2004}.

Ambos subnúcleos tienen proyecciones con estructuras involucradas en procesos de motivación y emoción, como el sistema límbico (sustancia *Innominata*, núcleos de la estria terminal del tálamo y materia gris del periacueducto), corteza prefrontal, además de tener comunicación con estructuras que participan en la transmisión y codificación de la información viscerosensorial, como el caso del núcleo *paragigantocellular* lateral, el núcleo reticular lateral de la formación reticular de la médula ventrolateral y del NTS medial y caudal {Kirouac G. J. & Ciriello J., 1997}; con cortezas relacionadas con memoria gustativa, CI agranular (en *accumbens* laminar medial y lateral, así como en el subnúcleo central), corteza entorhinal lateral (en laminar lateral y central) y aígda basal {Brog JS *et al.* 1993}. Tiene comunicación con otras estructuras como área hipotalámica lateral rostrocaudal {Helm K. A., *et al* 2003}, hipocampo (*subinículum*, CA1 y la porción caudodorsal) {Brog JS *et al.* 1993}. Investigaciones Ramírez-Lugo y colaboradores en 2006, muestran que el núcleo *accumbens* tiene una importancia significativa en la formación de la

memoria gustativa. Al inhibir los receptores muscarínicos antes de la adquisición del estímulo gustativo en el subnúcleo periférico, se abaten tanto la formación de la memoria apetecible como aversivo. Por otro lado, si se inhiben los receptores tipo NMDA en ambos subnúcleos se evita la formación de la memoria aversiva y no apetecible {Ramírez-Lugo L, Zavala-Vega S & Bermúdez-Rattoni F. 2006}.

El subnúcleo central de tiene aferencias con estructuras que participan en mecanismos motores voluntarios, como son de los ganglios basales (*pallidum* ventral, núcleo subtalámico y sustancia nigra) por lo que se ha involucrado en estas funciones {Kelley A. E., 2004}, {Helm K. A. *et al.*, 2003}.

El subnúcleo laminar (*Shell*) recibe información gustativa y visceral del NTS y de forma indirecta recibe información de la corteza gustativa a partir del NPB y tálamo. También pueden provenir de la amígdala de forma directa o indirecta por dos vías. La primera es a partir de la ruta NTS –NPB – amígdala central (ACe), VTA – *accumbens*. Por la otra es por CI – amígdala basolateral (ABL) – *accumbens* {Kirouac G. J. & Ciriello J., 1997}.

El núcleo *accumbens* laminar, tiene comunicación con el hipotálamo lateral que parece ser importante para controlar la conducta de motivación, al igual de la corteza piriforme e infralímbica {Kelley A. E., 2004}, {Helm K. A. *et al.*, 2003}. Por otra parte, recibe información del estriado ventral (área de la obesidad), por lo que se sugiere que está involucrado en el control de la ingesta. Este subnúcleo envía información a la región límbica subcortical, hipotálamo lateral, VTA, *pallidum* ventral ventromedial y a los centros autónomos del tallo cerebral {Kelley A. E., 2004}, {Helm K. A. *et al.*, 2003}.

Núcleo *Magnocellularis*

Una de las vías de comunicación ajenas a las relacionadas con la transmisión de señales gustativas y viscerales es la presente estructura. El núcleo basal *magnocellularis* o de *Meynert* en primates {Mogenson GJ *et al.*, 1983}, provee de acetilcolina a todo el manto cortical, amígdala, tálamo, hipotálamo y *globus palidus*.

Estas proyecciones que también envía a la corteza, pueden participar en la regulación de la activación de esta estructura que influye de forma indirecta en la formación de una conducta ante un estímulo y en procesos de memoria y aprendizaje {Miranda M. I.& Bermudez-Rattoni F., 1999}.

Núcleo Hipotalámico Lateral

El núcleo hipotalámico paraventricular y lateral, se encuentra implicado en procesos de alimentación {Wang C. *et al.* 2001}, integra las señales fisiológicas relacionadas al control y almacenaje de energía, es capaz de controlar la necesidad de consumo de un alimento con características particulares en cuanto a proteínas, carbohidratos y ácidos grasos, dependiendo de la escasez de estos en el cuerpo. Algunas de las vías de comunicación del hipotálamo son a través de las proyecciones bidireccionales del NTS, NPB, corteza, ACe y algunos núcleos del cerebro anterior ventral como es el caso del tálamo, cuyas funciones son cruciales también para la regulación de la homeostasis, ingestión, motivación y memoria gustativa.

En varios estudios se ha observado que la activación del hipotálamo es fácilmente modificado por señales tales como distensión gástrica, hiperosmolaridad, aumento de los niveles de insulina y de glucosa en sangre, almacenaje de energía, utilización de la misma y expectación de saciedad. Dicha modificación en la actividad del hipotálamo por efecto de la saciedad produce, entre otras cosas, la regulación de la actividad de neuronas gustativas del NTS, que coincide con la suspensión de la ingesta. La lesión de esta estructura provoca hipofagia en el individuo, llevándolo hasta la anorexia. {Wang C. *et al.* 2001}. Por ello, ha sido considerado como una de las estructuras más importante en donde se lleva a cabo la representación del hambre, algunas de las estructuras con las que participa en esta tarea son el periacueducto ventrolateral de la materia gris, núcleo talámico paraventricular y corteza prefrontal medial {Sewards TV & Sewards MA., 2003}.

El hipotálamo en presencia de un estímulo gustativo neofóbico activa las vías de norepinefrina principalmente en la región paraventricular, de manera

simultánea que se activan en tallo cerebral produciendo una conducta de alerta. Por otro lado, el hipotálamo puede ser activado por medio del sistema simpático produciendo una liberación de epinefrina a partir de compuestos adrenérgicos lo cual lleva a un incremento de glucosa en la sangre, incremento del metabolismo y mantenimiento de un estado de alerta {Dennis A.*et al.* 2002}. También dicha estructura cerebral está involucrada en procesos de detección de sabores aversivos {Helm K. A. *et al.*, 2003}.

Amígdala

La amígdala es una estructura muy importante, puesto que está involucrada en el desarrollo de conductas asociadas con factores emocionales y motivacionales, así como en mecanismos de memoria y aprendizaje.

Se localiza en la parte anteromedial del lóbulo temporal, sobre el estriado y anterior a la porción ventral de la formación hipocampal y está formado por los siguiente núcleos:

Núcleo amigdalino basolateral, núcleo amigdalino intercalado, periacueducto gris y núcleo amigdalino central {McDonald A. J., 1999}.

La amígdala recibe proyecciones con información sensorial del tálamo y diversas cortezas sensoriales (auditiva, somatosensorial, visual y olfativa), incluyendo a la corteza prefrontal y perhirinal. De igual forma, tiene amplia comunicación con estructuras del cerebro medio y anterior tales como, hipocampo, hipotálamo, núcleos de la estría terminal del tálamo y tallo cerebral que son áreas importantes para el desarrollo de una respuesta conductual puesto que activan centros autónomos y endocrinos. Estudios electrofisiológicos y farmacológicos corroboran el hallazgo anatómico, siendo así, la amígdala es considerada una estructura muy importante en la formación de asociaciones entre estímulo sensorial y eventos biológicamente importantes para el organismo que implican cambios conductuales en cuanto a motivación o reacciones emocionales. Por ejemplo, está involucrada en procesos biológicos como dormir y despertar, orientación, conductas aversivas,

respuesta ante un castigo o recompensa, conducta de ingesta, reproducción y cuidado maternal {McDonald A. J., 1999}.

El núcleo amigdalino tiene muchas proyecciones al estriado, estructura que tiene un papel muy importante en el desarrollo de respuestas conductuales. Dicha trama tiene su origen en la amígdala basolateral y se aloja mayoritariamente en la región ventral y medial del estriado, incluyendo al núcleo *accumbens*.

Por otro lado, la ACe manda información autonómica, somática, sensorial y endocrina al hipotálamo y tallo cerebral a través de la estría terminal del tálamo.

La amígdala tiene una amplia comunicación con el manto cortical, preferentemente de forma ipsilateral; esta conexión cortico-amigdalina, lleva información sensorial, emocional y motivacional a todo el manto cortical.

Con respecto a las vías sensoriales, recibe información olfativa a través del bulbo olfativo {McDonald A. J., 1999} y de la corteza piriforme a la amígdala lateral y núcleo geniculado {Phillips A. G., *et al.* 2003}. Que a su vez mandada al tálamo parasubtalámico {Goto M. & Swanson L. W. 2004}.

La información gustativa llega a la ACe de forma directa del NTS e indirectamente del NPB, sin embargo la mayoría de la proyecciones que recibe la amígdala tanto de estas estructuras como de la CI anterior, llegan de la amígdala basolateral y del núcleo cortical de la amígdala, los cuales también tienen relevo en la ACe .

Corteza insular (CI).

La CI en el cerebro de ratas se encuentra en la superficie lateral del hemisferio cerebral, en la región dorsal al surco rhinal rostral a la corteza perirhinal, por donde cruza la arteria cerebral media.

La CI colinda en la región rostral con la corteza orbital, caudalmente con la corteza perirhinal, lateral con *claustrum* y cuerpo calloso (cápsula externa); en la parte ventral con el surco rhinal y la corteza periforme y dorsal con la

corteza somatosensorial I en la parte dorso rostral, en dorso caudal con la corteza somatosensorial II y más caudal con la corteza temporal.

Histológicamente se divide en tres regiones, agranular, disgranular y granular (ver figura 22). La región mas ventral (disgranular y agranular) está relacionado con el sistema gustativo {Yamamoto T. *et al.* 1987}, {Yamamoto T. *et al.* 1988}, principalmente en la parte rostral {Cechetto D.F. & Saper C. B., 1987}. En la región dorsal (en la capa granular) se encuentran neuronas con actividad termo receptiva de la lengua, así como neuronas táctiles de la lengua en la porción limitrofe con la corteza somatosensorial {Sewards T. V. 2004}. En la capa granular región caudal, se encuentran las neuronas viscerosensoriales {Paxinos G. & Watson C. 1995}.

Estudios electrofisiológicos hechos por Yamamoto y colaboradores, muestran que la CI disgranular presenta características diferenciales en cuanto a respuesta a la estimulación por medio de un sabor determinado. Las neuronas que se estimulan preferentemente con un sabor dulce se encuentran en la parte rostral y con sabores amargos, como la quinina, primordialmente en la región caudal y en la región granular. Las neuronas estimuladas tanto por sabores salados como ácidos se encuentran dispersas {Paxinos G. & Watson C. 1995}.

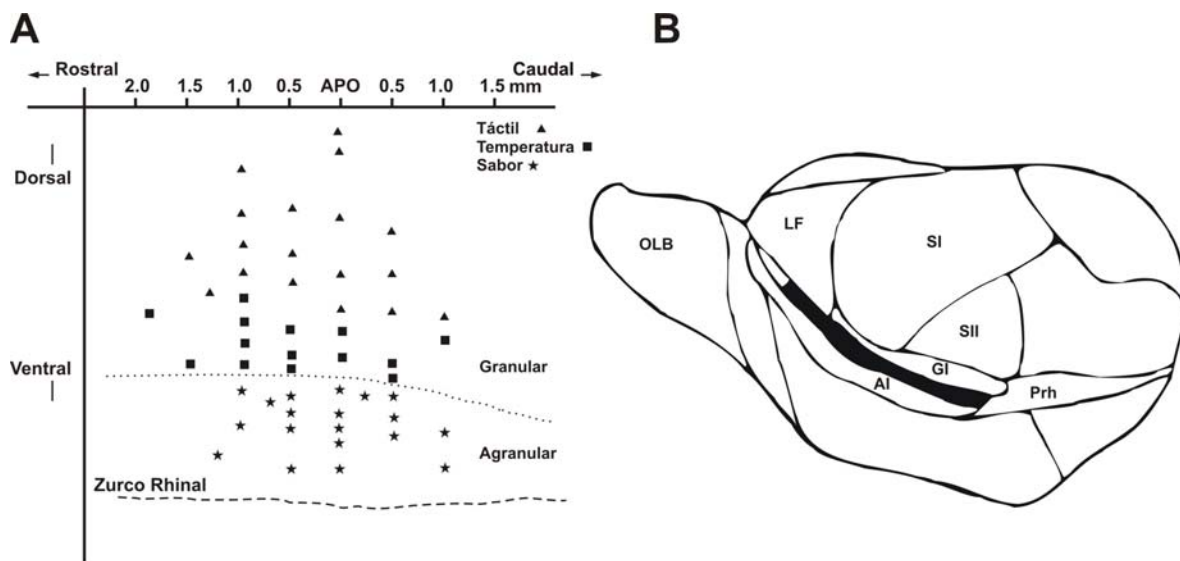
Otros experimentos realizados por el mismo grupo demuestran que pueden reconocerse dos tipos de neuronas. Tipo I (sensoriales) responden con un incremento de descargas ante uno o más sabores independientemente de que sean aversivos o no. Tipo II (hedónicas), neuronas encontradas principalmente en la región dorsal y caudal, algunas son excitadas ante un estímulo gustativo apetecible como el azúcar y su actividad decrece conforme este va siendo más aversivo. Otras células tipo II se activan con sabores aversivos y se inhiben con apetecibles {Yamamoto T., *et al.*,1989}.

Por lo tanto la CI es una estructura importante tanto para la detección del sabor como de los efectos viscerales posteriores y también juega un papel importante en la asociación de dichos estímulos. También recibe información olfativa, sensorial, auditiva y visual por medio de otras áreas, por lo que se le

ha considerado una estructura multimodal. Recibe información de las siguientes estructuras:

El núcleo *accumbens* inerva a la CI primordialmente a la región rostral, a partir del subnúcleo central y laminar lateral {Brog JS *et al.* 1993}. También del núcleo talámico ventroposteromedial región parvicelular, amígdala y áreas corticales adyacentes como prefrontal, entorhinal, perirhinal y corteza prelímbica.

Estudios de fMRI en humanos muestran una convergencia entre estímulos gustativo y olfativo en la región agranular anterior de la CI, en la región caudal de la corteza fronto-orbital y en la corteza cingulada anterior.



Corteza prefrontal

La corteza prefrontal, al igual que la amígdala, juega un papel importante en los mecanismos de toma de decisiones, anticipación de una consecuencia emocional o de motivación, así como en procesos mnemónicos {Pickens C. L. *et*

al., 2003}. Lesiones de esta corteza por medio de fármacos, muestran un detrimento en el aprendizaje de aversión a los sabores. Esta corteza se encuentra entre la corteza premotora y motora en el lóbulo frontal.

La parte lateral y caudolateral de la corteza orbitofrontal es considerada como la corteza gustativa secundaria {Rolls E. T. 2000}, {Gallagher M. *et al.*, 1999}, puesto que la mayoría de las proyecciones de la corteza gustativa son enviadas a esta estructura cortical. Sin embargo, como en el caso de la CI, el estímulo gustativo no es el único representado en esta zona, converge también información somatosensorial a partir de las áreas corticales 1,2 y SII, olfativa de la corteza olfativa primaria y piriforme, visual proveniente de la corteza temporal inferior {Pickens C. L. *et al.*, 2003}.

La región mediodorsal paralaminar, proyecta al campo visual frontal en la región anterior al surco arcuato en primates {Rolls E. T. 2004}.

La región caudal de la corteza orbitofrontal recibe información de la amígdala, así como del tálamo mediodorsal y corteza olfativa; proyecta a la corteza temporal inferior, corteza entorhinal, cingulada, preóptica, VTA, hipotálamo lateral y núcleo caudado {Rolls E. T. 2004}.

Algunos experimentos realizados por Rolls y cols. demuestran que en la segunda corteza gustativa también hay una representación específica de cada uno de los sabores básicos, una representación del sabor del agua, proteínas y estímulos astringentes como el ácido tánico {Rolls E. T. 2004}.

Se ha considerado que esta estructura participa de manera importante en la asignación del valor hedónico del sabor, proceso que es modificado por factores de hambre, sed y saciedad.

A pesar de ser una estructura especial de la percepción gustativa, no está exenta de recibir otro tipo de información sensorial, por lo que es considerada, al igual que la CI, como una estructura multimodal en donde se procesa las señales sensoriales, se asocian a otros estímulos y participa de manera importante en la memorización de sus características aunadas a sus repercusiones o a estímulos de reforzamiento.

Se sabe que algunas de las células que se activan con la presencia de un sabor, también se activan con estímulos olfativos y/o con la textura del

alimento y por separado se activan poblaciones de células ante características de miscibilidad del alimento. La entrada de un estímulo olfativo es representado en la parte lateral de la corteza orbitofrontal anterior y cuando es congruente con el sabor, hay estimulación de la parte medial de la misma corteza cerebral. {de Araujo I. E., *et al.* 2003}.

Apendice II. Vías del procesamiento de la información visceral.

La información gastrointestinal viaja a través del nervio vago y en menor medida por el esplácnico.

El nervio vago inerva entre otras estructuras viscerales, al tracto gastrointestinal, desde el esfínter del esófago, hasta el colon {Teff K. L. & Mattes R. 2000}, {Andrews P. L. & Sanger G. J. 2002}. Llevando la información a dos regiones del tallo cerebral, al núcleo *Ambiguus* cuya transmisión es predominantemente de mecanorreceptores y al núcleo motor dorsal del vago localizado en la parte media del ala gris en el piso del cuarto ventrículo, este último obtiene información tanto de mecanorreceptores como de quimiorreceptores, que envía a diferentes subnúcleos del NTS con predominancia a la región caudal. {Andrews P. L. & Sanger G. J. 2002}. El núcleo dorsal del vago también tiene comunicación con algunas fibras secundarias del nervio glossofaríngeo, centro olfativo y vestibular que llevan, entre otras cosas, información olfativa aunada a la gustativa produciendo reflejos de salivación, secreción de jugos gástricos o vómito. {Frodden E. E. 1985}.

Área postrema

El área postrema es considerada el núcleo emético, se localiza en la línea media del piso del cuarto ventrículo parte caudal. Recibe proyecciones del nervio vago de forma directa e indirectamente por vía hemática, también tiene aferencias del hipotálamo paraventricular y dorsomedial; releva la información al NTS, NPB, núcleo dorsal motor del vago, núcleo *ambiguus*, entre otras estructuras del cerebro medio. Este órgano es muy importante en la percepción viscerosensorial puesto que detecta el malestar gástrico por medio del nervio vago, así como las sustancias tóxicas presentes en la sangre {Bures, J., Bermúdez-Rattoni F. & Yamamoto T., 1998}.

Núcleo del Tracto Solitario.

Las aferencias gastrointestinales ocupan la parte caudal, intermedial, central y subnúcleos gelatinosos del NTS. La información del nervio vago también puede provenir a través de vía hemática arribando al área postrema, un órgano circunventricular sensible a las toxinas presentes en sangre, y de ahí al NTS, formación reticular medular y NPB.

El NTS proyecta a la formación reticular medular (ventrolateral caudal) incluyendo a la zona *parvicellular* que integra tanto información gustativa como gastrointestinal. También manda información al NPB lateral y en menor cantidad a la ACe (prioritariamente región lateral y medial), conectándose de forma ipsilateral {Spray K. J. & Bernstein I. L., 2004}.

Tiene conexiones bilaterales con el núcleo hipotalámico dorsomedial, paraventricular y al área hipotalámica lateral importantes para la detección de un sabor aversivo {Helm K. A. *et al.* 2003}, {Spray K. J. & Bernstein I. L. 2004}.

Núcleo Parabraquial (NPB).

El NPB lateral recibe información visceral del NTS región caudal y de área postrema y la manda principalmente a la región ventroposterolateral del núcleo *parvicellular* del tálamo (VPLpc), complejo talámico intralaminar, zona inserta {Sakai N. & Yamamoto T. 1999}, hipotálamo paraventricular {resumido por Bermúdez-Rattoni F, *et al.* 2004b}, CI región agranular, ACe región lateral {McDonald A. J. 1999} e hipotálamo lateral {Reilly S. 1999} {Paxinos G. & Watson C. 1995}.

Núcleo Talámico.

El núcleo talámico dorsomedial y paraventricular lleva información a la CI región agranular y al núcleo talámico paraventricular. El núcleo paraventricular recibe aferencias del núcleo preóptico mediano y periventricular, ventromedial y del núcleo hipotalámico dorsomedial así como del área hipotalámica lateral.

Por otro lado, el tálamo ventroposterolateral obtiene información propioceptivas y viscerotópicas por una vía alterna al NTS y NPB, esta es por medio del sistema *Lemniscus* de la columna dorso medial, localizado en la lámina III y IV del asta dorsal, cuya función primordial es transmitir los impulsos somatosensoriales y vibratorios de la piel y víscera torácica y abdominal {Rong P. J. *et al.*, 2004}.

Zona Inserta.

La zona inserta, recibe proyecciones viscerotópicas del NPB lateral y las envía al complejo talámico intralaminar y este a su vez a la ABL {Groenewegen, H.J. & Berendse, H.W. 1994}. La zona inserta también tiene comunicación con hipotálamo lateral y región preóptica, áreas involucradas en la regulación de la sed y hambre.

Núcleo hipotalámico dorsomedial.

El núcleo hipotalámico dorsomedial, recibe información del NTS y del NPB. Contribuye al descenso de proyecciones al NPB, complejo vagal y corda espinal. Por otro lado, el área hipotalámica lateral, tiene proyecciones del NPB, área infralímbica y de la CI y manda al núcleo *accumbens* {Mehendale S. *et al.* 2004}.

Amígdala

El complejo amigdalino es componente indispensable para la evaluación de la información externa e interna del cuerpo; una vez que ha sido reconocida, la amígdala puede coordinar una respuesta conductual {Wright C. I. *et al.* 1996}.

La amígdala manda información al área hipotalámica lateral, NPB, médula ventrolateral y NTS, mayoritariamente a la región *parvicellular* y en menor proporción a la ventrolateral {Spray K. J. & Bernstein I. L., 2004}.

La ACE tiene conexiones con NTS, NPB, CI región agranular y el complejo talámico posterior intralaminar (zona inserta).

Las neuronas del núcleo central región lateral responden mayoritariamente a información cardiovascular, barorreceptor y visceral provenientes de la ínsula granular, disgranular visceral y agranular posterior y en menor medida la corteza periamigdalina y el núcleo basal accesorio {McDonald A. J. 1999}, {Paxinos G. & Watson C. 1995}.

La ABL recibe información viscerosensorial de CI, complejo talámico posterior intralaminar y del núcleo central de la amígdala.

La ABL tiene algunas pocas proyecciones al núcleo *accumbens* central región medial, el cual manda la información a la sustancia *nigra* región rostral, que la envía al tálamo medial y este a la corteza prelímbica, la cual puede controlar también la activación de centros autónomos de la médula oblonga y tallo cerebral. En cambio, la ABL accesoria (porción caudal), manda dicha información al núcleo *accumbens* medial, principalmente a la región laminar o periférica y subsecuentemente este lo envía al VTA lateral. Algunos otros subnúcleos de la ABL como el *magnocellular* y el *parvicellular* también mandan impulsos a núcleo *accumbens* prioritariamente al subnúcleo periférico y este proyecta a la PAG, al área extrapiramidal del cerebro anterior (MEA) y al VTA lateral, estructuras muy importantes en la coordinación del complejo motor y respuesta autónoma {Wright C. I. et al. 1996}.

Corteza insular.

La corteza insular agranular caudodorsal, recibe información visceral proveniente del tálamo ventroposterolateral, ACE, estría terminal y NPB que llevan la información visceral del NTS. Esta misma zona cortical está relacionada con la respuesta autónoma (respiratoria, cardiovascular y gastrointestinal), por ende tiene conexiones con PAG, hipotálamo lateral, corteza orbital ventrolateral y lateral, estriado, núcleo *pericoeruleus* y *subcoeruleus*.

Cabe hacer mención que las lesiones en CI no producen cambios en la sensibilidad gustativa ni gastrointestinal, pero si produce déficit en la adquisición y retención de aprendizajes de tareas gustativas, lo que sugiere que dicha corteza está más relacionada con la memoria gustativa y su repercusión gastrointestinal {Bures, J., Bermúdez-Rattoni F. & Yamamoto T., 1998}.

Vía visceral

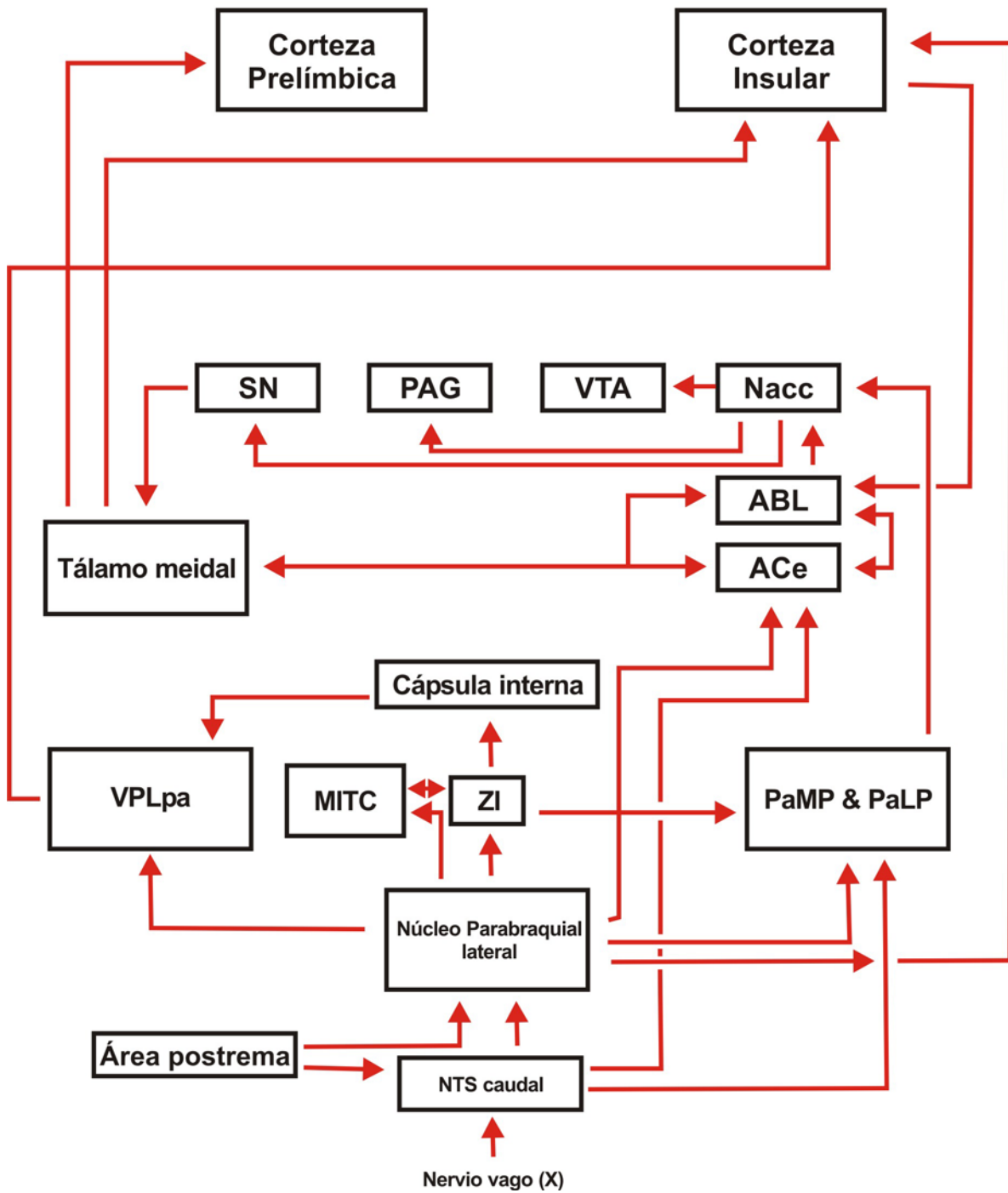


Figura 24. Gráfico que muestra las aferencias de la vía visceral. Amígdala Basolateral (BLA), Amígdala Central (ACe), Área Ventral Tegmental (VTA), Materia Gris Periacueductal (PAG), Núcleo *Accumbens* (NAcc), Núcleo del Tracto Solitario (NTS), Núcleo Talámico Ventro Postero Lateral Paraventricular (PaLP), Substancia Nigra (SN).

8. REFERENCIAS.

1. Akirav I. NMDA Partial agonist reverses blocking of extinction of aversive memory by GABA(A) agonist in the amygdala. *Neuropsychopharmacology*. 2007 Mar;32(3):542-50
2. Albasanz J.L., Ros M., Martín M. Characterization of metabotropic glutamate receptors in rat C6 glioma cells *European Journal of Pharmacology* 326 1997.85-91
3. Andrews PL. & Sanger GJ. Abdominal vagal afferent neurones: an important target for the treatment of gastrointestinal dysfunction. *Curr Opin Pharmacol*. 2002 Dec;2(6):650-6
4. Aronica E., Gorter JA., Jansen GH., van Veelen CW., van Rijen PC., Ramkema M., Troost D. Expression and cell distribution of group I and group II metabotropic glutamate receptor subtypes in taylor-type focal cortical dysplasia. *Epilepsia*. 2003 Jun;44(6):785-95.
5. Azad S. C., Monory K., Marsicano G., Cravatt B. F., Lutz B., Zieglgänsberger W., & Rammes G. Circuitry for Associative Plasticity in the Amygdala Involves Endocannabinoid Signaling *Journal of Neuroscience*, 2004 24(44):9953-9961
6. Baird JP, Travers SP, Travers JB. Integration of gastric distension and gustatory responses in the parabrachial nucleus *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol* 2001 (281): R1581-R1593
7. Bao W.L., Williams A.J., Faden A.I., Tortella F.C. Selective mGluR5 receptor antagonist or agonist provides neuroprotection in a rat model of focal cerebral ischemia *Brain Research* 922 (2001) 173-179
8. Barbano MF, Cador M. Opioids for hedonic experience and dopamine to get ready for it. *Psychopharmacology (Berl)*. 2007 Apr; 191(3):497-506.
9. Barker G. R. I., Bashir Z. I., Brown M. W. & Warburton E. C. A temporally distinct role for group I and group II metabotropic glutamate receptors in object recognition memory *Learn. Mem.* 2006 13: 178-186
10. Bashir Z. I. On long-term depression induced by activation of G-protein coupled Receptors *Neuroscience Research* 45 (2003) 363-367
11. Baude A, Nusser Z, Roberts JD, Mulvihill E, McIlhinney RA, Somogyi P. The metabotropic glutamate receptor (mGluR1a) is concentrated at perisynaptic membrane of neuronal subpopulations as detected by immunogold reaction. *Neuron* 1993;11:771-787
12. Benquet P, Gee CE, Gerber U. Two distinct signaling pathways upregulate NMDA receptor responses via two distinct metabotropic glutamate receptor subtypes. *J Neurosci*. 2002 Nov 15;22(22):9679-86
13. Berman DE, Hazvi S, Neduva V, Dudai Y. The role of identified neurotransmitter systems in the response of insular cortex to unfamiliar taste: activation of ERK1-2 and formation of a memory trace. *J Neurosci*. 2000 Sep 15;20(18):7017-23
14. Berman DE, Hazvi S, Rosenblum K, Seger R, Dudai Y. Specific and differential activation of mitogen-activated protein kinase cascades by unfamiliar taste in the insular cortex of the behaving rat. *J Neurosci*. 1998 Dec 1;18(23):10037-44
15. Bermúdez-Rattoni F & Prado A. R. Memoria, dónde reside y cómo se forma. 2001 Trillas México.
16. Bermúdez-Rattoni F, Ramírez-Lugo L, Gutiérrez R, Miranda MI. Molecular signals into the insular cortex and amygdala during aversive gustatory memory formation. *Cell Mol Neurobiol*. 2004b Feb;24(1):25-36
17. Bermúdez-Rattoni F. Molecular mechanisms of taste-recognition memory. *Nat Rev Neurosci*. 2004a Mar;5(3):209-17
18. Best A. R., Thompson J. V., Fletcher M.L. & Wilson D. A. Cortical metabotropic glutamate receptors contribute to habituation of a simple odor-evoked behavior. *Journal of Neuroscience* 2005 25(10):2513-2517
19. Bills C, Schachtman TR, Serfozo P, Spooen WP, Gasparini F, Simonyi A. Effects of metabotropic glutamate receptor 5 on latent inhibition in conditioned taste aversion. *Behav Brain Res*. 2005 Feb 10;157(1):71-8

20. Block F. & Kosinski CM. Glutamate antagonists in neurology. *Nervenarzt*. 2001 Jun;72(6):393-405
21. Bordi F. & Ugolini A. Group I Metabotropic Glutamate Receptors: Implications for Brain Diseases. *Progress in Neurobiology* 1999 (59): 55 – 79
22. Brailowsky, Simón (2002). *Las sustancias de los sueños: neuropsicofarmacología* 3a Ed. Fondo de Cultura Económica. México D.F.
23. Brog JS, Salyapongse A, Deutch AY, Zahm DS. The patterns of afferent innervation of the core and shell in the "accumbens" part of the rat ventral striatum: immunohistochemical detection of retrogradely transported fluoro-gold. *J Comp Neurol*. 1993 Dec 8;338(2):255-78
24. Brusca R. C. & Brusca G. J., (2005). *Invertebrados* 2a Ed. McGraw-Hill/Interamericana. España Pp. 5
25. Bures J, Fenton AA, Kaminsky Y & Zinyuk L. Place cells and place navigation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997 Jan 7;94(1):343-50
26. Bures, J., Bermúdez-Rattoni F. & Yamamoto T. (1998) *Conditional Taste Aversión* Oxford Psychology Series No. 31 Oxford University Press USA
27. Buresová O & Bures J. The effect of anesthesia on acquisition and extinction of conditioned taste aversion. *Behav Biol*. 1977 May;20(1):41-50.
28. Burighel P, Lane NJ, Fabio G, Stefano T, Zaniolo G, Carnevali MD, Manni L. Novel, secondary sensory cell organ in ascidians: in search of the ancestor of the vertebrate lateral line. *J Comp Neurol*. 2003 Jun 23;461(2):236-49. Erratum in: *J Comp Neurol*. 2003 Sep 8;464(1):114
29. Cain DP. LTP, NMDA, genes and learning. *Curr Opin Neurobiol*. 1997 Apr;7(2):235-42
30. Cartmell J, Schoepp DD. Regulation of neurotransmitter release by metabotropic glutamate receptors. *J Neurochem*. 2000 Sep;75(3):889-907
31. Cechetto DF, Saper CB. Evidence for a viscerotopic sensory representation in the cortex and thalamus in the rat. *J Comp Neurol*. 1987 Aug 1;262(1):27-45.
32. Conn PJ. & Pin JP. Pharmacology and functions of metabotropic glutamate receptors. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 1997;37:205-37
33. Cortelli P, Pierangeli G. Chronic pain-autonomic interactions. *Neurol Sci*. 2003 May;24 Suppl 2:S68-70
34. Csillag A. (2005) *Atlas of the Sensory Organs Functional and Clinical Anatomy*. In Andrea D. Székely & András Csillag (eds), *A The Organ of Taste*. Ed Humana Press Inc. Pp 187-198
35. Cull-Candy S, Brickley S, Farrant M. NMDA receptor subunits: diversity, development and disease. *Curr Opin Neurobiol*. 2001 Jun;11(3):327-35
36. Davis S., Butcher S. P., and Morris R. G. M. The NMDA Receptor Antagonist *D-2-amino-phosphonopentanoate* (D-AP5) Impairs Spatial Learning and LTP in vivo at Intracerebral Concentrations Comparable to Those that Block LTP in vitro *Journal of Neuroscience*, 1992, 12(1): 21-34
37. de Araujo IE, Rolls ET, Kringelbach ML, McGlone F, Phillips N. Taste-olfactory convergence, and the representation of the pleasantness of flavour, in the human brain. *Eur J Neurosci*. 2003 Oct;18(7):2059-68
38. de la Torre-Vacas L, Agüero-Zapata A. The neural bases of taste aversion learning: the formation of acquired hedonic taste representations. *Rev Neurol*. 2006 Jul 1-15;43(1):25-31
39. De Vry J, Eckel G, Kuhl E, Schreiber R. Effects of serotonin 5-HT(1) and 5-HT(2) receptor agonists in a conditioned taste aversion paradigm in the rat. *Pharmacol Biochem Behav*. 2000 Aug;66(4):797-802.
40. Desmedt A, Hazvi S, Dudai Y. Differential pattern of cAMP response element-binding protein activation in the rat brain after conditioned aversion as a function of the associative process engaged: taste versus context association. *J Neurosci*. 2003 Jul 9;23(14):6102-10
41. Dobzhansky, T. 1970, *Genetics of the Evolutionary Process*, Columbia University Press, New York
42. Dong HW, Swanson LW. Organization of axonal projections from the anterolateral area of the bed nuclei of the stria terminalis. *J Comp Neurol*. 2004 Jan 6;468(2):277-98

43. Eckert MJ, Racine RJ. Metabotropic glutamate receptors contribute to neocortical synaptic plasticity in vivo. *Neuroreport*. 2004 Dec 3;15(17):2685-9
44. Escobar ML, Alcocer I, Bermúdez-Rattoni F. In vivo effects of intracortical administration of NMDA and metabotropic glutamate receptors antagonists on neocortical long-term potentiation and conditioned taste aversion. *Behav Brain Res*. 2002 Feb 1;129(1-2):101-6
45. Escobar ML, Alcocer I, Chao V. The NMDA receptor antagonist CPP impairs conditioned taste aversion and insular cortex long-term potentiation in vivo. *Brain Research* 812(1998):246-251
46. Fagni L, Ango F, Perroy J, Bockaert J. Identification and functional roles of metabotropic glutamate receptor-interacting proteins. *Semin Cell Dev Biol*. 2004 Jun;15(3):289-98
47. Fenu S, Bassareo V, Di Chiara G. A role for dopamine D1 receptors of the nucleus accumbens shell in conditioned taste aversion learning. *J Neurosci*. 2001 Sep 1;21(17):6897-904.
48. Ferreira G., Gutiérrez R., De la Cruz V. & Bermúdez-Rattoni F. Differential involvement of cortical muscarinic and NMDA receptors in short- and long-term taste aversion memory *European Journal of Neuroscience*, 2002 (16):1139-1145
49. Ferry B, McGaugh JL. Clenbuterol administration into the basolateral amygdala post-training enhances retention in an inhibitory avoidance task. *Neurobiol Learn Mem*. 1999 Jul;72(1):8-12
50. Fiorillo CD. & Williams JT. Glutamate mediates an inhibitory postsynaptic potential in dopamine neurons. *Nature*. 1998 Jul 2;394(6688):78-82
51. Francesconi W., Cammalleri M., Sanna P. P. The metabotropic glutamate receptor 5 is necessary for late-phase long-term potentiation in the hippocampal CA1 region *Brain Research* 1022 (2004) 12-18
52. Frodden E. E. 1985 *Texto de Anatomía del Sistema Nervioso Central* Ed. Oteo México D.F. Ciudad Universitaria
53. Gallagher M, McMahan RW, Schoenbaum G. Orbitofrontal cortex and representation of incentive value in associative learning. *J Neurosci*. 1999 Aug 1;19(15):6610-4
54. Gerber U, Gee CE & Benquet P. Metabotropic glutamate receptors: intracellular signaling pathways. *Curr Opin Pharmacol*. 2007 Feb;7(1):56-61
55. Geurts J. J. G., Wolswijk G., Bö L., van der Valk P., Polman C. H., Troost D. and Aronica E. Altered expression patterns of group I and II metabotropic glutamate receptors in multiple sclerosis *Brain*. 2003 Aug;126(Pt 8):1755-66.
56. Gorzalka B, Hanson L, Harrington J, Killam S, Campbell-Meiklejohn D. Conditioned taste aversion: modulation by 5-HT receptor activity and corticosterone. *Eur J Pharmacol*. 2003 Jun 20;471(2):129-34
57. Goto M & Swanson LW. Axonal projections from the parasubthalamic nucleus. *J Comp Neurol*. 2004 Feb 16;469(4):581-607
58. Gravius A, Pietraszek M, Schafer D, Schmidt WJ, Danysz W. Effects of mGlu1 and mGlu5 receptor antagonists on negatively reinforced learning. *Behav Pharmacol*. 2005 Mar;16(2):113-21.
59. Groenewegen, H.J., Berendse, H.W. The specificity of nonspecific midline and intralaminar thalamic nuclei. *Trend Neuroscience* 1994 (17): 52-57
60. Gubellini P., Saule E Centonze D., Costa C. Tropepi D. Bernardi G. Conquet F. Calabresi P. Corticostriatal LTP requires combined mGluR1 and mGluR5 activation *Neuropharmacology* 44 (2003) 8-16
61. Gutiérrez H, Hernandez-Echeagaray E, Ramirez-Amaya V, Bermudez-Rattoni F. Blockade of N-methyl-D-aspartate receptors in the insular cortex disrupts taste aversion and spatial memory formation. *Neuroscience*. 1999 Mar;89(3):751-8
62. Gutiérrez R, Rodríguez-Ortiz CJ, De La Cruz V, Núñez-Jaramillo L, Bermudez-Rattoni F. Cholinergic dependence of taste memory formation: evidence of two distinct processes. *Neurobiol Learn Mem*. 2003b Nov;80(3):323-31
63. Gutiérrez R, Téllez LA, Bermúdez-Rattoni F. Blockade of cortical muscarinic but not NMDA receptors prevents a novel taste from becoming familiar. *Eur J Neurosci*. 2003a Apr;17(8):1556-62

64. Hannan AJ, Blakemore C, Katsnelson A, Vitalis T, Huber KM, Bear M, Roder J, Kim D, Shin HS, Kind PC. PLC-beta1, activated via mGluRs, mediates activity-dependent differentiation in cerebral cortex. *Nat Neurosci.* 2001 Mar;4(3):282-8
65. Harney S. C., Rowan M., & Anwyl R. Long-Term Depression of NMDA Receptor-Mediated Synaptic Transmission Is Dependent on Activation of Metabotropic Glutamate Receptors and Is Altered to Long-Term Potentiation by Low Intracellular Calcium Buffering *Journal of Neuroscience*, January 25, 2006 • 26(4):1128–1132
66. Hatfield T, McGaugh JL. Norepinephrine infused into the basolateral amygdala posttraining enhances retention in a spatial water maze task. *Neurobiol Learn Mem.* 1999 Mar;71(2):232-9
67. Helm KA, Rada P, Hoebel BG. Cholecystokinin combined with serotonin in the hypothalamus limits accumbens dopamine release while increasing acetylcholine: a possible satiation mechanism. *Brain Res.* 2003 Feb 14;963(1-2):290-7
68. Hermans E, Saunders R, Selkirk JV, Mistry R, Nahorski SR, Challiss RA. Complex involvement of pertussis toxin-sensitive G proteins in the regulation of type 1alpha metabotropic glutamate receptor signaling in baby hamster kidney cells *Mol Pharmacol.* 2000 Aug;58(2):352-60
69. Hermans E. & Challiss RA. Structural, signalling and regulatory properties of the group I metabotropic glutamate receptors: prototypic family C G-protein-coupled receptors *Biochem J.* 2001 Nov 1;359:465-84
70. Hodges JR, Graham KS. Episodic memory: insights from semantic dementia. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2001 Sep 29;356(1413):1423-34.
71. Homayoun H. and Moghaddam B. Bursting of prefrontal cortex neurons in awake rats is regulated by metabotropic glutamate 5 (mGlu5) receptors: rate-dependent influence and interaction with NMDA receptors. *Cereb Cortex.* 2006 Jan;16(1):93-105
72. Hornigold DC, Mistry R, Raymond PD, Blank JL, Challiss RA. Evidence for cross-talk between M₂ and M₃ muscarinic acetylcholine receptors in the regulation of second messenger and extracellular signal-regulated kinase signalling pathways in Chinese hamster ovary cells. *Br J Pharmacol.* 2003 Apr;138(7):1340-50
73. Jacobson LH, Kelly PH, Bettler B, Kaupmann K, Cryan JF. GABA(B(1)) receptor isoforms differentially mediate the acquisition and extinction of aversive taste memories. *J Neurosci.* 2006 Aug 23;26(34):8800-3
74. James P. Taste and Smell: from Molecular Biology to Behaviour *Nutrition Reviews*; Nov 2004; 62, 11; Health Module
75. Jung HS, Akita K & Kim JY. Spacing patterns on tongue surface-gustatory papilla. *Int J Dev Biol.* 2004;48(2-3):157-61
76. Kandel E. R., Schwartz J. H. & Jessell T. M. (1991) *Principles of Neural Science* 3rd Ed. Prentice Hall USA
77. Karimnamazi H., Travers S. P., Travers J. B. Oral and gastric input to the parabrachial nucleus of the rat *Brain Research* 2002 (957): 193–206
78. Kelley A. E. Ventral striatal control of appetitive motivation: role in ingestive behavior and reward-related learning *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 27 (2004) 765–776
79. Kenny PJ & Markou A. The ups and downs of addiction: role of metabotropic glutamate receptors. *Trends Pharmacol Sci.* 2004 May;25(5):265-72.
80. Kesner RP. & Rogers J. An analysis of independence and interactions of brain substrates that subserve multiple attributes, memory systems, and underlying processes. *Neurobiol Learn Mem.* 2004 Nov;82(3):199-215
81. Kirouac G. J. & Ciriello J. Medullary inputs to nucleus accumbens neurons *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 1997 273:2080-2088
82. Kitchener SJ, Dourish CT. An examination of the behavioural specificity of hypophagia induced by 5-HT_{1B}, 5-HT_{1C} and 5-HT₂ receptor agonists using the post-prandial satiety sequence in rats. *Psychopharmacology (Berl).* 1994 Jan;113(3-4):369-77
83. Koh MT, Clarke SN, Spray KJ, Thiele TE, Bernstein IL. Conditioned taste aversion memory and c-Fos induction are disrupted in RIIbeta-protein kinase A mutant mice. *Behav Brain Res.* 2003 Jul 14;143(1):57-63

84. Krauss G. (2003) *Biochemistry of Signal Transduction and Regulation*. 3rd Edition. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim. Germany
85. Lam HM, Chiu J, Hsieh MH, Meisel L, Oliveira IC, Shin M, Coruzzi G. Glutamate-receptor genes in plants. *Nature*. 1998 Nov 12;396(6707):125-6
86. Laviolette S. R. & van der Kooy D. The neurobiology of nicotine addiction: Bridging the gap from the molecules to behaviour *Nat Rev Neurosci*. 2004 Jan;5(1):55-65.
87. Lavreysen H, Pereira SN, Leysen JE, Langlois X, Lesage AS. Metabotropic glutamate 1 receptor distribution and occupancy in the rat brain: a quantitative autoradiographic study using [3H]R214127. *Neuropharmacology*. 2004 Apr;46(5):609-19.
88. Lechner H. A., Squire L. R., & Byrne J.H. 100 Years of Consolidation—Remembering Müller and Pilzecker *Learning & Memory* 1999 (6):77–87
89. Luján R, Nusser Z, Roberts JDB, Shigemoto R, Somogyi P. Perisynaptic location of metabotropic glutamate receptors mGluR1 and mGluR5 on dendrites and dendritic spines in the rat hippocampus. *Eur J Neurosci* 1996;8:1488-500
90. Lyeth BG, Gong QZ, Shields S, Muizelaar JP, Berman RF. Group I Metabotropic Glutamate Antagonist Reduces Acute Neuronal Degeneration and Behavioral Deficits after Traumatic Brain Injury in Rats. *Exp Neurol*. 2001 May;169(1):191-9.
91. Maciejak P, Taracha E, Lehner M, Szyndler J, Bidziński A, Skórzewska A, Wisłowska A, Zienowicz M, Plaźnik A. Hippocampal mGluR1 and consolidation of contextual fear conditioning. *Brain Res Bull*. 2003 Nov 15;62(1):39-45
92. Mao L. & Wang JQ. Interactions between ionotropic and metabotropic glutamate receptors regulate cAMP response element-binding protein phosphorylation in cultured striatal neurons. *Neuroscience*. 2002;115(2):395-402
93. McCaughey SA. & Scott TR. The taste of sodium. *Neurosci Biobehav Rev*. 1998 Sep;22(5):663-76
94. McDonald A. J. Cortical Pathways to the Mammalian Amygdala. *Progress in Neurobiology* 55 (1999): 257– 332
95. Mehendale S, Xie JT, Aung HH, Guan XF, Yuan CS. Nucleus accumbens receives gastric vagal inputs. *Acta Pharmacol Sin*. 2004 Mar;25(3):271-5
96. Michael P. Saddoris, Barry Setlow, Michela Gallagher, Peter C. Holland, and Geoffrey Schoenbaum Different Roles for Orbitofrontal Cortex and Basolateral Amygdala in a Reinforcer Devaluation Task *The Journal of Neuroscience*, December 3, 2003 23(35):11078 –11084
97. Milner B., Squire L. R. & Kandel E. R. *Cognitive Neuroscience and the Study of Memory* *Neuron* 1998 (20):445-468
98. Miranda MI, Bermúdez-Rattoni F. Reversible inactivation of the nucleus basalis magnocellularis induces disruption of cortical acetylcholine release and acquisition, but not retrieval, of aversive memories. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999 May 25;96(11):6478-82
99. Miranda MI, Ferreira G, Ramirez-Lugo L, Bermudez-Rattoni F. Glutamatergic activity in the amygdala signals visceral input during taste memory formation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002 Aug 20;99(17):11417-22. Epub 2002 Aug 7.
100. Miranda MI, LaLumiere RT, Buen TV, Bermudez-Rattoni F, McGaugh JL. Blockade of noradrenergic receptors in the basolateral amygdala impairs taste memory. *Eur J Neurosci*. 2003 Nov;18(9):2605-10
101. Miranda MI, McGaugh JL. Enhancement of inhibitory avoidance and conditioned taste aversion memory with insular cortex infusions of 8-Br-cAMP: involvement of the basolateral amygdala. *Learn Mem*. 2004 May-Jun;11(3):312-7
102. Miranda MI, Ramirez-Lugo L, Bermúdez-Rattoni F. Cortical cholinergic activity is related to the novelty of the stimulus. *Brain Res*. 2000 Nov 3;882(1-2):230-5
103. Miranda MI, Rodríguez-García G, Reyes-López JV, Ferry B, Ferreira G. Differential effects of beta-adrenergic receptor blockade in basolateral amygdala or insular cortex on incidental and associative taste learning. *Neurobiol Learn Mem*. 2008 Jul;90(1):54-61
104. Miura M., Watanabe M., Offermanns S., Simon M. I., & Kano M. Group I Metabotropic Glutamate Receptor Signaling via G_q/G₁₁ Secures the Induction of Long-Term

- Potentiation in the Hippocampal Area CA1 *Journal of Neuroscience*, October 1, 2002, 22(19):8379–8390
105. Mogenson GJ, Swanson LW, Wu M. Neural projections from nucleus accumbens to *globus pallidus*, *substantia innominata*, and lateral preoptic-lateral hypothalamic area: an anatomical and electrophysiological investigation in the rat. *J Neurosci* 1983;3(1):189-202
 106. Moghaddam B. Targeting metabotropic glutamate receptors for treatment of the cognitive symptoms of schizophrenia. *Psychopharmacology* (2004) 174:39–44
 107. Morris S.H., Knevet S., Lerner E. G. & Bindman L. J. Group I mGluR Agonist DHPG Facilitates the Induction of LTP in Rat Prelimbic Cortex In Vitro *J Neurophysiol.* 1999 82(4):1927-33
 108. Muly EC, Maddox M, Smith Y. Distribution of mGluR1alpha and mGluR5 immunolabeling in primate prefrontal cortex. *J Comp Neurol.* 2003 Dec 22;467(4):521-35.
 109. Nachman M. & Jones D. R. Learned taste aversions over long delays in rats: the role of learned safety. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 1974, 86(5):949-956
 110. Northcutt RG. Taste buds: development and evolution. *Brain Behav Evol.* 2004;64(3):198-206
 111. Núñez-Jaramillo L, Delint-Ramirez I. & Bermúdez-Rattoni F. PKC blockade differentially affects aversive but not appetitive gustatory memories. *Brain Res.* 2007 May 7;1148:177-82
 112. Pałucha A. & Pilc A. On the Role of Metabotropic Glutamate Receptor in the mechanism of Action of Antidepressants. *Polish Journal of Pharmacology* 2002, 54:581-586
 113. Paxinos G. & Watson C. (1995) *The Rat Nervous System*; Ralph Norgren Chapter 29 Gustatory System. 2nd Ed. San Diego: Academic Press Pp 751-767
 114. Paxinos G. & Watson C. (1998) *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. 2nd Ed. San Diego: Academic Press
 115. Phillips A. G. , Ahn S. & Howland J. G. Amygdalar control of the mesocorticolimbic dopamine system: parallel pathways to motivated behavior *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 27(6) 2003: 493-579
 116. Picciotto Marina R., Caldarone Barbara J., King Sarah L. and Zachariou Venetia. Nicotinic Receptors in the Brain: Links between Molecular Biology and Behavior *Neuropsychopharmacology* 2000 22(5):451-465
 117. Pickens CL, Saddoris MP, Setlow B, Gallagher M, Holland PC, Schoenbaum G. Different roles for orbitofrontal cortex and basolateral amygdala in a reinforcer devaluation task. *J Neurosci.* 2003 Dec 3;23(35):11078-84
 118. Porter A. C., Bymaster F. P., DeLapp N. W., Yamada M., Wess J., Hamilton S. E., Nathanson N. M., Felder C. C. M 1 muscarinic receptor signaling in mouse hippocampus and cortex. *Brain Res.* 2002 Jul 19;944(1-2):82-9.
 119. Ramírez-Lugo L, Miranda MI, Escobar ML, Espinosa E, Bermúdez-Rattoni F. The role of cortical cholinergic pre- and post-synaptic receptors in taste memory formation. *Neurobiol Learn Mem.* 2003 Mar;79(2):184-93
 120. Ramírez-Lugo L, Zavala-Vega S, & Bermúdez-Rattoni F. NMDA and muscarinic receptors of the nucleus accumbens have differential effects on taste memory formation. *Learn Mem.* 2006 Jan-Feb;13(1):45-51
 121. Ranganath C, Rainer G. Neural Mechanisms for detecting and remembering novel events. *Nat. Rev. Neurosci.* 2003 Mar;4(3):193-202.
 122. Ray JP, Price JL. The organization of the thalamocortical connections of the mediodorsal thalamic nucleus in the rat, related to the ventral forebrain-prefrontal cortex topography. *J Comp Neurol.* 1992 Sep 8;323(2):167-97
 123. Reilly S. The parabrachial nucleus and conditioned taste aversion. *Brain Res Bull.* 1999 Feb;48(3):239-54
 124. Riedel G, Wetzel W & Reymann K G Metabotropic glutamate receptors in spatial and nonspatial learning in rats studied by means of agonist and antagonist application. *Learn. Mem.* 1995 2: 243-265

125. Riedel G., Platt B, Micheau J. Glutamate receptor function in learning and memory. *Behav Brain Res.* 2003 Mar 18;140(1-2):1-47
126. Rodrigues S. M., Bauer E. P., Farb C. R., Schafe G. E., & LeDoux J. E. The Group I Metabotropic Glutamate Receptor mGluR5 Is Required for Fear Memory Formation and Long-Term Potentiation in the Lateral Amygdala *Journal of Neuroscience*, 2002, 22(12):5219–5229
127. Rodriguez-Ortiz C. J., De la Cruz V., Gutiérrez R. & Bermudez-Rattoni F. Protein synthesis underlies post-retrieval memory consolidation to a restricted degree only when updated information is obtained *Learn Mem.* 2005 Sep-Oct;12(5):533-7
128. Rolls E.T. The functions of the orbitofrontal cortex. *Brain and Cognition* 2004 (55): 11 – 29
129. Rolls E.T. The orbitofrontal cortex and reward, *Cereb. Cortex* 10 (2000) 284–294
130. Rong PJ, Zhang JL, Zhang HQ. Interactions between tactile and noxious visceral inputs in rat nucleus gracilis. *Neurosci Lett.* 2004 May 20;362(2):162-5
131. Rosenblum K, Berman DE, Hazvi S, Lamprecht R, Dudai Y. NMDA receptor and the tyrosine phosphorylation of its 2B subunit in taste learning in the rat insular cortex. *J Neurosci.* 1997 Jul 1;17(13):5129-35
132. Rosenblum K, Meiri N, Dudai Y. Taste memory: the role of protein synthesis in gustatory cortex. *Behav Neural Biol.* 1993 Jan;59(1):49-56
133. Rosenblum K, Schul R, Meiri N, Hadari YR, Zick Y, Dudai Y. Modulation of protein tyrosine phosphorylation in rat insular cortex after conditioned taste aversion training. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1995 Feb 14;92(4):1157-61
134. Sakai N. & Yamamoto T. Possible routes of visceral information in the rat brain in formation of conditioned taste aversion. *Neurosci Res.* 1999 Oct;35(1):53-61
135. Saper C. B. The Central Autonomic Nervous System: Conscious Visceral Perception and Autonomic Pattern Generation. *Ann. Rev. Neurosci.* 2002 25:433-469
136. Schachtman TR, Bills C, Ghinescu R, Murch K, Serfozo P, Simonyi A. MPEP, a selective metabotropic glutamate receptor 5 antagonist, attenuates conditioned taste aversion in rats. *Behav Brain Res.* 2003 May 15;141(2):177-82
137. Schacter DL. & Buckner RL. Priming and the brain. *Neuron.* 1998 Feb;20(2):185-95
138. Schoepp Darryle D. Unveiling the Functions of Presynaptic Metabotropic Glutamate Receptors in the Central Nervous System *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 299:12–20, 2001
139. Schulz B, Fendt M, Gasparini F, Lingenhohl K, Kuhn R & Koch M. The metabotropic glutamate receptor antagonist 2-methyl-6-(phenylethynyl)-pyridine (MPEP) blocks fear conditioning in rats. *Neuropharmacology* 41, 1–7 (2001)
140. Selkirk JV, Price GW, Nahorski SR, Challiss RA. Cell type-specific differences in the coupling of recombinant mGlu1alpha receptors to endogenous G protein subpopulations. *Neuropharmacology.* 2001 Apr;40(5):645-56
141. Senkowska A., Ossowska K. Role of metabotropic glutamate receptors in animal models of Parkinson's disease. *Polish Journal of Pharmacology* 2003, 55, 935–950
142. Sewards TV. & Sewards MA. Representations of motivational drives in mesial cortex, medial thalamus, hypothalamus and midbrain. *Brain Research Bulletin.* 2003 30;61(1):25-49.
143. Sewards TV. Dual separate pathways for sensory and hedonic aspects of taste *Brain Res Bull.* 2004 Jan 15;62(4):271-83
144. Siegel J. George Basic Neurochemistry: molecular, cellular and mediocal aspects 5th ed. 1994 Raven Press New York.
145. Simon SA, de Araujo IE, Gutierrez R, Nicolelis MA. The neural mechanisms of gustation: a distributed processing code. *Nat Rev Neurosci.* 2006 Nov;7(11):890-901
146. Simon SA. & Roper SD. Mechanisms of taste transduction CRC 1993 press Florida USA
147. Smith H. M. 1960 Evolution of Chordate Structure Ed Holt, Rinehart & Winston INC, USA
148. Spray KJ, Bernstein IL. Afferent and efferent connections of the parvicellular subdivision of iNTS: defining a circuit involved in taste aversion learning. *Behav Brain Res.* 2004 Sep 23;154(1):85-97

149. Squire L. R. & Zola S. M. Amnesia, memory and brain systems *Phil.Trans. R. Soc. Lond. B* (1997) 352, 1663-1673
150. Squire L. R. & Zola S. M. Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93 (1996): 13515-13522
151. Squire LR. Memory systems of the brain: a brief history and current perspective. *Neurobiol Learn Mem.* 2004 Nov;82(3):171-7.
152. Staubli Ursula, Rogers Gary, AND Lynch Gary Facilitation of glutamate receptors enhances memory *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91 (1994): 777-781
153. Stefan Bleich, Römer Konstanze, Wiltfang Jens and Kornhuber Johannes Glutamate and the glutamate receptor system: a target for drug actino *International Journal of Geriatric Psychiatry* 18 (2003): S33-S40.
154. Swank MW, Sweatt JD. Increased histone acetyltransferase and lysine acetyltransferase activity and biphasic activation of the ERK/RSK cascade in insular cortex during novel taste learning. *J Neurosci.* 2001 May 15;21(10):3383-91
155. Swanson CJ, Bures M, Johnson MP, Linden AM, Monn JA, Schoepp DD. Metabotropic glutamate receptors as novel targets for anxiety and stress disorders. *Nat Rev Drug Discov.* 2005 Feb;4(2):131-44
156. Tan Y., Hori N., & Carpenter D. O. The Mechanism of Presynaptic Long-Term Depression Mediated by Group I Metabotropic Glutamate Receptors *Cellular and Molecular Neurobiology.*,. 2003 2 (2):187-203
157. Teff KL & Mattes RD. Vagal circuitry mediating cephalic-phase responses to food. *El apeto* 2000 (34): 184-188
158. Trifilieff P, Herry C, Vanhoutte P, Caboche J, Desmedt A, Riedel G, Mons N, Micheau J. Foreground contextual fear memory consolidation requires two independent phases of hippocampal ERK/CREB activation. *Learn Mem.* 2006 May-Jun;13(3):349-58
159. Tu JC, Xiao B, Yuan JP, Lanahan AA, Leoffert K, Li M, et al. Homer binds a novel proline-rich motif and links group 1 metabotropic glutamate receptors with IP3 receptors. *Neuron* 1998;21:717-26
160. Valenti O, Conn PJ, Marino MJ. Distinct physiological roles of the Gq-coupled metabotropic glutamate receptors Co-expressed in the same neuronal populations. *J Cell Physiol.* 2002 May;191(2):125-37
161. van Berckel BN, Kegeles LS, Waterhouse R, Guo N, Hwang DR, Huang Y, Narendran R, Van Heertum R, Laruelle M. Modulation of amphetamine-induced dopamine release by group II metabotropic glutamate receptor agonist LY354740 in non-human primates studied with positron emission tomography. *Neuropsychopharmacology.* 2006 May;31(5):967-77
162. VanderWeele DA, Dess NK, Castonguay TW. Ingestional responses to metabolic challenges in rats selectively bred for high and low saccharin intake *Physiology & Behavior* 75 (2002) 97- 104
163. Vassilatis DK, Hohmann JG, Zeng H, Li F, Ranchalis JE, Mortrud MT, Brown A, Rodriguez SS, Weller JR, Wright AC, Bergmann JE, Gaitanaris GA. The G protein-coupled receptor repertoires of human and mouse. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003 Apr 15;100(8):4903-8.
164. Vermeij G. J. The Evolutionary Interaction Among Species: Selection, Escalation, and Coevolution *Annual Review of Ecol. Syst.* 1994 25:219-236
165. Vianna Monica R.M., Alonso Mariana, Viola Haydee, Quevedo Joao, Paris Fernanda de, Furman Melina, Levi de Stein Miguelina, Medina Jorge H. and Izquierdo Ivan Role of Hippocampal Signaling Pathways in Long-Term Memory Formation of a Nonassociative Learning Task in the Rat *Learning & Memory* 2000 7: 333-340
166. Wang C, Mullet MA, Glass MJ, Billington CJ, Levine AS, Kotz CM. Feeding inhibition by urocortin in the rat hypothalamic paraventricular nucleus. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2001 Feb;280(2):R473-80
167. Wegener G, Volke V, Bandpey Z, Rosenberg R. Nitric oxide modulates lithium-induced conditioned taste aversion. *Behav Brain Res.* 2001 Jan 29;118(2):195-200.
168. Welzl H., D'Adamo P. & Lipp H-P. Conditioned taste aversion as a learning and memory paradigm. *Behav. Brain Res.* 2001, 125: 205-213

169. Wiggs CL, Martin A. Properties and mechanisms of perceptual priming. *Curr Opin Neurobiol.* 1998 Apr;8(2):227-33
170. Wright CI, Beijer AV, Groenewegen HJ. Basal amygdaloid complex afferents to the rat nucleus accumbens are compartmentally organized. *J Neurosci.* 1996 Mar 1;16(5):1877-93
171. Yamamoto T, Matsuo R, Kiyomitsu Y, Kitamura R. Sensory inputs from the oral region to the cerebral cortex in behaving rats: an analysis of unit responses in cortical somatosensory and taste areas during ingestive behavior. *J Neurophysiol.* 1988 Oct;60(4):1303-21
172. Yamamoto T, Matsuo R, Kiyomitsu Y, Kitamura R. Taste responses of cortical neurons in freely ingesting rats. *J Neurophysiol.* 1989 Jun;61(6):1244-58.
173. Yamamoto T, Nagai T, Shimura T, Yasoshima Y. Roles of chemical mediators in the taste system. *Jpn J Pharmacol.* 1998 Apr;76(4):325-48
174. Yamamoto T, Yuyama N. On a neural mechanism for cortical processing of taste quality in the rat. *Brain Res.* 1987 Jan 6;400(2):312-20
175. Yamamoto T. Cortical organization in gustatory perception. *Ann N Y Acad Sci.* 1987;510:49-54
176. Yasoshima Y, Morimoto T & Yamamoto T. Different disruptive effects on the acquisition and expression of conditioned taste aversion by blockades of amygdalar ionotropic and metabotropic glutamatergic receptor subtypes in rats. *Brain Res.* 2000 Jun 30;869(1-2):15-24
177. Yasoshima Y, Yamamoto T, Kobayashi K. Amygdala-dependent mechanisms underlying memory retrieval of conditioned taste aversion. *Chem Senses.* 2005 Jan;30 Suppl 1:i158-9
178. Yasoshima Y., Sako N., Senba E. & Yamamoto T. Acute suppression, but not chronic genetic deficiency, of c-fos gene expression impairs long-term memory in aversive taste learning. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006 May 2;103(18):7106-11
179. Zach P, Krivanek J, Vales K. Serotonin and dopamine in the parabrachial nucleus of rats during conditioned taste aversion learning. *Behav Brain Res.* 2006 Jun 30;170(2):271-6
180. Zhao W, Bianchi R, Wang M, Wong RK. Extracellular signal-regulated kinase 1/2 is required for the induction of group I metabotropic glutamate receptor-mediated epileptiform discharges. *J Neurosci.* 2004 Jan 7;24(1):76-84
181. Zito KA, Bechara A, Greenwood C, van der Kooy D. The dopamine innervation of the visceral cortex mediates the aversive effects of opiates. *Pharmacol Biochem Behav.* 1988 Jul;30(3):693-9

VI. Resumen

Se sabe que el glutamato es el neurotransmisor excitador más abundante en el sistema nervioso central (SNC) de los cordados y que está involucrado en una serie de procesos neuronales como transmisión sináptica, modulación de la excitabilidad neuronal y metabolismo celular, involucrados en gran cantidad de funciones y afecciones del SNC tales como coordinación motora, vigilia, dolor, adicción, aprendizaje y memoria. Los receptores glutamatérgicos se dividen en los que abren canales iónicos (ionotrópicos) y los que activan proteínas G (metabotrópicos); con respecto a los ionotrópicos de glutamato, hay muchas investigaciones que muestran una amplia participación de estos en procesos mnemónicos, sin embargo, hay escasa información sobre lo que acontece con los receptores metabotrópicos de glutamato, a pesar de tener gran relevancia en mecanismos de neuromodulación, neuroprotección, participación en procesos de plasticidad sináptica, formación de la memoria, entre otros.

En este trabajo se estudia como en la corteza insular (CI) denominada también gustativa por estar involucrada en dichos procesos, participan los receptores metabotrópicos de glutamato tipo I (mGluR I) durante la formación y consolidación de la memoria gustativa que es de crucial importancia en los animales para discriminar entre un posible alimento apetecible de uno tóxico y reconocer si dicho alimento es nuevo o ha sido consumido con anterioridad. Se encontró que la micro inyección bilateral de glutamato en CI inmediatamente después de haber consumido el sabor novedoso o media hora después del mismo, aminora la formación de la memoria apetecible, mientras que al impedir la función normal de los receptores mGluR I con el antagonista *(RS)-1- aminoindano-1,5-ácido dicarboxílico* (AIDA), mejora de manera significativa la formación de dicha memoria, mas no de la aversiva. De igual forma, cuando se microinyectan juntos el glutamato y AIDA en los tiempos previamente mencionados, se suprimen los efectos observados previamente. Estos resultados muestran que los mGluR I tienen dos ventanas de acción,

durante la adquisición y consolidación de la memoria gustativa apetecible cuando se suministra en CI y no en amígdala que es una estructura cerebral muy importante en la formación de la memoria gustativa aversiva.

durante la adquisición y consolidación de la memoria gustativa apetecible cuando se suministra en CI y no en amígdala que es una estructura cerebral muy importante en la formación de la memoria gustativa aversiva.

1. INTRODUCCIÓN

El estudio de la neurobiología es un tema fascinante de las ciencias biológicas, solo reconociendo como procesamos la información, podemos saber más a cerca de la evolución de los animales, cómo percibimos el mundo y porqué tenemos conductas tan parecidas con otros animales como “el comer, copular, evitar depredadores y alimentos tóxicos”. Algunas otras tan complejas como la necesidad de crear sociedades, lenguajes, transmitir el conocimiento, racionalizar sobre la inverosimilitud de las cosas, crear guerras, destruirlo todo y volver a comenzar.

Todas nuestras conductas son el resultado de la función cerebral, por ello varias personas se han dado a la tarea de estudiar al cerebro y sus funciones por ejemplo, como aprendemos, como recordamos y por que a veces olvidamos. Los primeros estudios científicos de la memoria fueron realizados por Hermann Ebbinghaus (1885) quien hizo una clasificación de la memoria a partir de la temporalidad para recordar algo. Ramón y Cajal, quien anteriormente había descubierto a las neuronas y la conectividad que éstas tienen a través de las sinapsis, en 1894 propuso que el aprendizaje no produce proliferación de neuronas, pero si causa un crecimiento en las ramificaciones de las neuronas, un incremento en la conectividad y eficiencia de la comunicación entre estas células. En esa misma época otro trabajo muy importante para las neurociencias lo desarrollaba Karl Wernicke. Él encontró que diferentes conductas son controladas por diferentes regiones cerebrales interconectadas por vías neuronales {Kandel E. R. *et al.* 1991}. Años más tarde Ivan Pavlov y Edgar Thorndike desarrollan los primeros experimentos de memoria con animales {Milner B., 1998}. Posteriormente, William James acuña el término de memoria a corto plazo a toda aquella que es mantenida

por varios minutos a horas, y memoria a largo plazo cuando puede ser evocada meses o años después de haber sido adquirida. Por otro lado, Georg Elias Müller y Alfons Pilzecker (1900) demuestran que el aprendizaje no induce una memoria permanente instantáneamente, sino, que requiere de un determinado tiempo para fijarse o ser consolidada. En 1949, en pleno desarrollo de la fisiología, Donald Hebb postula que en la memoria a corto plazo hay una actividad reverberante dentro de la red neuronal, que induce cambios estructurales en las sinapsis y con ello el mantenimiento de la memoria por más tiempo. De igual forma tanto D. Hebb como Karl Lashley llegan a la conclusión ese mismo año que la memoria no reside en un lugar específico, sino que se encuentra distribuido en la red neuronal. Estos datos fueron confirmados a nivel molecular con experimentos de Flexner y colaboradores en 1963; Agranoff & Klinger un año después y Barondes & Cohen en 1966. Quienes demuestran que la memoria a corto plazo no requiere de síntesis de proteínas pero sí la de largo plazo {Lechner H. *et al.* 1999}.

Actualmente se conoce una gran parte de las estructuras cerebrales que participan en un aprendizaje determinado y se están identificando las proteínas y cascadas de señales moleculares involucradas en cambios estructurales o funcionales de las neuronas durante estos procesos.

Para abordar este conocimiento ha sido crucial tanto la observación de los cambios conductuales en personas con alguna alteración neurológica, como el desarrollo de modelos experimentales en animales que no es sino imitar un evento determinado en la vida del animal, bajo condiciones controladas, modificando algunas variables para ver la respuesta diferencial ante un estímulo específicamente. Por ejemplo, para estudiar la memoria espacio-temporal, se ocupa el laberinto de agua de Morris {Bures J, Fenton AA, Kaminsky Y, Zinyuk L. 1997}; para memoria emocional o afectiva, usualmente se utiliza el procedimiento de condicionamiento al miedo {Bermúdez-Rattoni F & Prado A. R. 2001}. En el caso del estudio de la memoria de reconocimiento al sabor se encuentran el condicionamiento aversivo a los sabores, inhibición latente y la atenuación de la neofobia {Bures, J., Bermúdez-Rattoni F. & Yamamoto T. 1998}. Este último tipo de memoria es

indispensable para la sobrevivencia de los animales, puesto que les permite discriminar entre un agente comestible de uno que no lo es o incluso de uno tóxico a partir de previas experiencias ante ese sabor y del recuerdo de sus consecuencias postingestionales.

Para conocer más acerca de la memoria gustativa y los mecanismos moleculares que lo conforman, en esta investigación se estudia la función que tiene un tipo de neurorreceptor en dos estructuras cerebrales que son muy importantes para la codificación de la memoria gustativa. Que serán descritas posteriormente.

Con el objeto de apreciar con mayor detalle la importancia de este tipo de memoria es conveniente hacer mención sobre los conceptos y definiciones de la memoria, así como hacer un recuento de la evolución del sistema gustativo – visceral, y conocer los avances que ha habido en la neurobiología del sistema gustativo y visceral.

1.1. Antecedentes.

1.1.1. Aprendizaje y Memoria.

La memoria y aprendizaje son procesos biológicos muy complejos que por medio de la adquisición de una experiencia, provoca un desencadenamiento de eventos que modifica la actividad a nivel molecular de la neurona, produciendo eventuales cambios en su citoarquitectura, en su comunicación e interacción entre estructuras cerebrales que finaliza con cambios en la conducta del animal.

Para entender el proceso de los sistemas de la memoria y el aprendizaje, es necesario definirlos y reconocer las clasificaciones de la memoria.

El aprendizaje se define como el proceso adaptativo que permite adquirir nuevos conocimientos del entorno, lo cual implica una modificación de la forma de representar a nivel cerebral uno o varios estímulos. La memoria es el proceso de codificación del conocimiento adquirido previamente, integración al sistema neuronal, almacenaje y recuerdo.

La memoria puede clasificarse dependiendo de sus características en:

- En memoria a corto plazo y a largo plazo.
 - Memoria a corto plazo, es una memoria lábil que dura de segundos a horas {Kandel E. R., Schwartz J. H. & Jessell T. M. 1991}.
 - Memoria a largo plazo, es más estable que la de corto plazo, dura horas, meses o años y requiere de síntesis de proteínas para su consolidación {Rosenblum K, Meiri N. & Dudai Y. 1993}, {Bermúdez-Rattoni F & Prado A. R. 2001}, {Kandel E. R., Schwartz J. H. & Jessell T. M. 1991}.
- La memoria de acuerdo a la información que representa, procesos cognoscitivos y las estructuras cerebrales implicadas, se clasifica en:
 - Memoria declarativa, es toda aquella que implica procesos cognoscitivos como evaluación, comparación e inferencia de hechos y eventos en estado de vigilia del animal y es posible verbalizarlo (en personas). Es proposicional y es afectada por amnesia {Squire L. R. & Zola S. M. 1997}. Las estructuras cerebrales cruciales para este tipo de memoria se encuentran en el lóbulo temporal medial y región de la línea media del diencefalo. En particular, el hipocampo es indispensable para este tipo de memoria.
 - Memoria no declarativa. No es proposicional y rige los cambios en conductas de habilidad y la capacidad para responder apropiadamente a un estímulo a través de la práctica. Este tipo de memoria incluye a la memoria de hábitos, habilidades, habituación, sensibilización, condicionamiento clásico y *priming* o habilidad para detectar o identificar objetos como resultado de recientes encuentros {Squire L. R. 2004}. La memoria no declarativa incluye todo tipo de memorias que no requieren de un proceso cognoscitivo que implique discurrir. Estos tipos de memorias son ampliamente conservadas en todos los animales y no son alteradas por amnesia {Milner B. *et al.* 1998}.

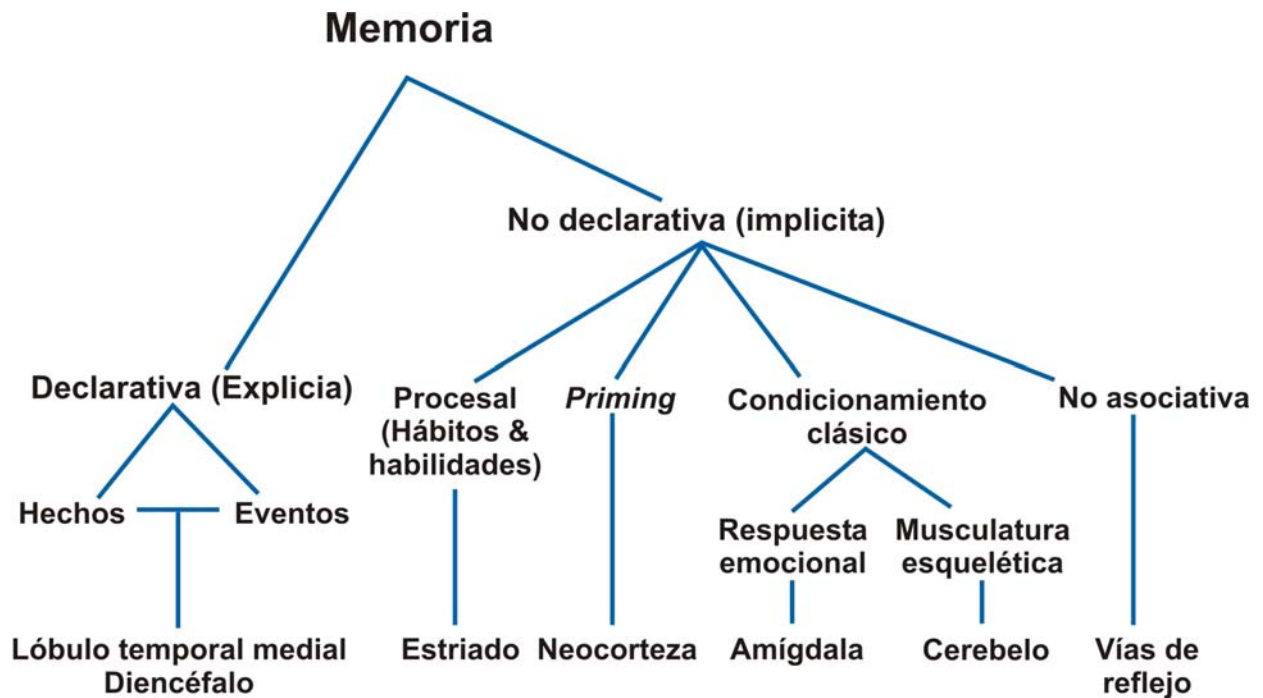


Figura 1. Clasificación de la memoria en mamíferos. División de la memoria y principales estructuras involucradas. Imagen modificada de referencia de "Milner B., Squire L. R. & Kandel E. R. (1998)".

1.1.2. Tipos de memoria.

Memoria no declarativa.

Memoria de habituación, consiste en la disminución de una respuesta ante un estímulo irrelevante presentado en repetidas ocasiones. Conforme el estímulo se hace familiar hay un detrimento de la respuesta.

Sensibilización, por el contrario a la memoria anterior, esta aumenta la respuesta ante un estímulo igual o similar al previamente adquirido. Por lo general ello ocurre por situaciones tensas o nocivas.

Memoria de procedimientos (hábito y habilidades) a partir de la repetición prolongada de una tarea como dibujar o cantar, se adquiere y gradualmente se perfecciona hasta llegar a hacerlo automáticamente. En este tipo de memoria el sistema cortico-estriado tiene un papel muy importante {Squire L. R. & Zola S. M. 1996}.

Condicionamiento clásico o Pavloviano. Se refiere al aprendizaje de asociación de por lo menos dos estímulos, uno incondicionado o natural que es inherente a la conducta del animal y un estímulo condicionado o artificial.

Al ser presentado un estímulo condicionado precedido inmediatamente por el incondicionado se genera la asociación entre estos estímulos, de manera que en subsecuentes presentaciones bastará con la presencia del estímulo condicionado para obtener una respuesta condicionada.

En el caso del condicionamiento aversivo a los sabores, el estímulo condicionado es el alimento y es asociado con el incondicionado, el malestar gástrico, como producto de la ingestión del alimento. Por ende en las subsiguientes exposiciones, la única presentación del alimento producirá una respuesta aversiva (vómito o no ingestión) de dicha comida.

Condicionamiento operante o instrumental. A partir de una conducta espontánea o casual se obtiene un estímulo reforzador, si esta dinámica se mantiene, conducta determinada–obtención de estímulo, el animal asocia estos factores y manipula la respuesta a su propio beneficio. Por ejemplo cuando una rata cada vez que golpea una palanca obtiene alimento, termina por aprender que al mover de una forma determinada la palanca, siempre obtendrá su comida.

Priming o memoria perceptual, según Tulving y Schacter es un cambio en la capacidad para identificar o producir un artículo como resultado de exposiciones previas al mismo {Schacter D. L. & Buckner R. L. 1998}. Se divide en *priming* perceptual y conceptual:

Priming perceptual: es una modalidad específica en la cual la información adquirida (palabras, objetos o patrones) no depende de codificación semántica o episódica de un artículo y las personas con amnesia¹ pueden retenerla.

Priming conceptual: procesamiento de la información que es beneficiada con la codificación semántica. Por ejemplo, categorizar ciertas palabras como plátano, manzana y piña, a partir de una palabra genérica como “Frutas” o como reconocer un mismo objeto con imágenes tomadas de distintos ángulos o asociar nuevas caras con nombres. Estos tipos de memoria pueden ser afectados o no por lesiones cerebrales en estructuras que son cruciales para la memoria declarativa, es decir en la región temporo-medial y diencefalo. Las

¹Amnesia, pérdida de la memoria.

estructuras cerebrales importantes para los *priming* se localizan primordialmente en el lóbulo temporal medial ventral como corteza temporal inferior (área TE, perirhinal y entorhinal), así como de la corteza prefrontal, insular y región occipitotemporal ventral {Wiggs C. L. & Martin A. 1998}, {Schacter D. L. & Buckner R. L. 1998}.

La memoria declarativa puede ser dividida en dos subgrupos, memoria episódica y semántica. Memoria episódica, es la memoria que mantiene información específica de la historia de vida del organismo, es decir, eventos o episodios que ha experimentado en su devenir. Es un proceso complejo que hace la representación de un evento a partir de contextualizar toda la información sensorial obtenida en ese momento. En tanto que la memoria semántica se refiere al conocimiento de las cosas, incluyendo el significado del vocabulario, conceptos y hechos. Por lo tanto es esencial para la formación del lenguaje, comprensión, lectura y escritura, así como reconocimiento de objetos y de caras {Hodges J. R. & Graham K. S. 2001}.

A nivel neurobiológico, se sabe que existen regiones neuronales con ciertos atributos, los cuales se encuentran interconectados con otros circuitos neuronales que en su conjunto permiten el desarrollo de una respuesta ante un estímulo determinado.

Por ejemplo, el neocórtex y el caudado son importantes para algunos tipos de memorias cuyo aprendizaje es gradual, como la memoria de hábitos y habilidades, la amígdala para cuestiones de afecto y recompensa, el cerebelo es esencial para el aprendizaje del condicionamiento al guiño del ojo, la neocórtex en *priming* y el lóbulo temporal medial en la memoria declarativa {Squire L. R. 2004}, {Kesner R. P. & Rogers J. 2004}.

1.1.3. Fases de la memoria

La memoria por su temporalidad se divide en:

- Memoria a Corto Plazo. Desempeño de una respuesta inmediata ante circunstancias parecidas a las ya experimentadas.

- Memoria a largo plazo. Propiedad de recordar y evocar información familiar basada en la flexibilidad, acción y patrones de complementación. Para su formación y consolidación requiere de síntesis de proteínas, proceso que tarda experimentalmente alrededor de ocho horas.

Las fases de la memoria son las siguientes:

- Adquisición. Proceso de atención selectiva ante un estímulo, obtención de nueva información.
- Consolidación. Desarrollo de la perpetuación de un aprendizaje por días, meses o años a partir del paso de una memoria a corto plazo a una de largo mediante síntesis proteica.
- Evocación. Proceso de traer el recuerdo.
- Reconsolidación. Proceso dinámico de asimilar experiencias previas al mismo tiempo que son evocadas {Squire L. R. 2004}, {Kesner R. P. & Rogers J. 2004}, también requiere de síntesis proteica.

1.1.4. Memoria gustativa.

Los animales tienen la capacidad para discriminar entre una posible fuente energética de una que no lo sea o incluso de un agente tóxico. Este carácter es ampliamente conservado y se presenta tanto en invertebrados como vertebrados; por lo que se considera que surgió hace 500 millones de años {Bures, J., Bermúdez-Rattoni F. & Yamamoto T., 1998}, en el periodo Ediacarínico (Precámbrico, Proterozoico tardío); prácticamente en la primera radiación de los Metazoarios {Brusca R. C. & Brusca G. J., 2005}.

Este tipo de conducta es conocida como neofobia o mejor dicho hiponeofagia (bajo consumo de sabores nuevos). Dicha capacidad innata consiste en el reconocimiento de las características físicas y químicas de los nuevos posibles nutrimentos a partir de un consumo moderado en las primeras ocasiones y si esto no tiene repercusión alguna y tiene buen sabor

(entre otras características físicas), será recordado como un alimento apetecible y su consumo será incrementado en subsecuentes presentaciones.

Por el contrario, si el alimento provoca molestias gástricas o algún síntoma de intoxicación, desarrollará en el sistema neuronal una aversión a ese sabor, como se puede observar en la figura 2.

1.1.4.1. *Memoria gustativa aversiva.*

La memoria gustativa aversiva fue descrita por John García y colaboradores en 1955 {resumido por Bures, J., Bermúdez-Rattoni F. & Yamamoto T., 1998}. Consiste en el cambio del valor hedónico² (emocional) positivo de un sabor apetecible (estímulo condicionado) a uno negativo (repugnante o aversivo) a partir del malestar gástrico o sistémico (estímulo incondicionado) que este produzca una vez deglutido {de la Torre-Vacas L & Agüero-Zapata A., 2006}. De tal forma que hay una asociación entre el estímulo condicionado con el incondicionado. A esto se le conoce también como condicionamiento aversivo a los sabores (CAS) {Bures, J., Bermúdez-Rattoni F. & Yamamoto T., 1998}. El grado de aversión es mayor cuando el malestar se manifiesta unos minutos u horas (1 a menos de 24h) después de la ingestión y conforme va aumentando el lapso de tiempo entre ambos factores, el grado de asociación disminuye y por ende el reconocimiento de las características tóxicas del alimento {Nachman M. & Jones D. R., 1974}, {Gutiérrez R, *et al.* 2003a}. Lo cual sugiere que la información gustativa permanece un tiempo relativamente largo en la memoria a corto plazo, hasta que se reintegra con la información visceral proveniente del nervio vago y vía hemática, que permitirá registrar al estímulo gustativo nuevo como uno familiar benéfico, perjudicial o neutro {Bures, J., Bermúdez-Rattoni F. & Yamamoto T., 1998}.

² Valor hedónico. Cambio de las características inherentes del estímulo gustativo, agradable o desagradable que determinará la respuesta conductual del animal.

1.1.4.2. Memoria gustativa apetecible.

Paradigma conductual descrito por Siegel 1974 y Domjan, 1977. Observaron que los animales al presentárseles un alimento que nunca antes habían probado que en principio puede o no ser apetecible y dependiendo de los beneficios que aporte, tales como características nutrientes, organolépticas apetecibles, sensaciones agradables y/o ausencia de malestar provocado por su ingestión. El animal le otorga un valor hedónico positivo, reconociéndolo como apetecible (agradable o seguro). De forma experimental esto se observa como un incremento en su ingesta en subsecuentes exposiciones. A este fenómeno se le denomina atenuación de la neofobia (AN) {Bures, J., Bermúdez-Rattoni F. & Yamamoto T., 1998}, {Gutiérrez R, *et al.* 2003a}. En condiciones controladas en laboratorio, se ha observado que para el reconocimiento de un sabor nuevo como apetecible, a diferencia del largo lapso de tiempo de la memoria aversiva a los sabores, en esta se registra en menos de 6 horas de haberlo probado por vez primera {Nachman M. & Jones D. R., 1974}, {Gutiérrez R, *et al.* 2003a}.

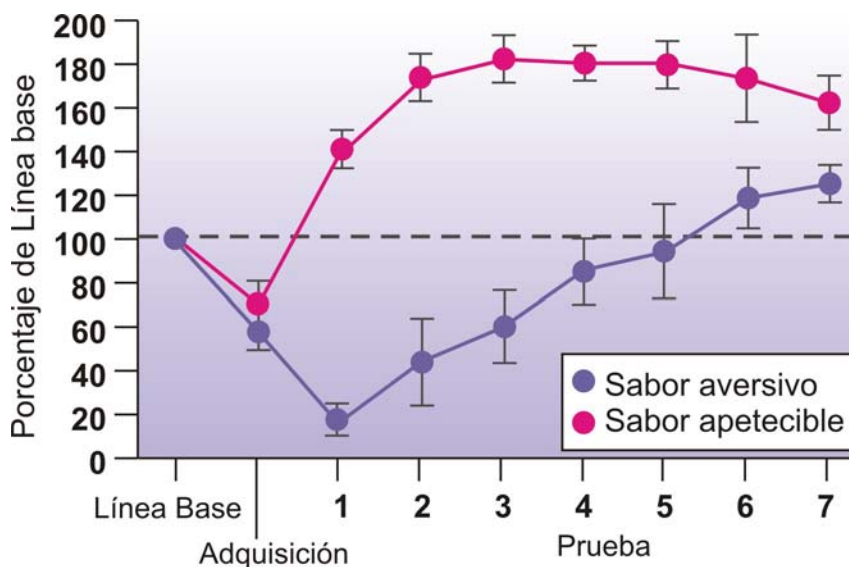


Figura 2. . Condicionamiento aversivo a los sabores (CAS) vs Atenuación de la Neofobia (AN). Se presenta el porcentaje de consumo de un sabor novedoso con respecto al consumo normal de agua. La grafica muestra un decremento de la ingesta durante la primera exposición del sabor nuevo y posteriormente, si el sabor tiene repercusiones gástricas hay una disminución del consumo, pero si no produce ningún malestar, en el día de la prueba incrementa la ingesta y conforme se va volviendo familiar tiende a extinguirse la conducta hasta obtener valores parecidos al consumo de agua. Imagen perteneciente a la referencia "Bermúdez-Rattoni F. 2004a"

Ambas tareas conductuales han sido de gran utilidad para conocer algunos de los mecanismos de la memoria debido a que se conocen las vías de ascenso y descenso de la información gustativa y visceral.

1.1.5. Sistema Gustativo (Sistema Nervioso Periférico).

1.1.5.1. Botones Gustativos en mamíferos.

Los botones gustativos, como se muestra en la figura 3, son conjuntos de células con receptores quimiosensoriales protegidas por células de soporte embebidas en un epitelio multilaminar o estratificado. Estas registran la cualidad y concentración del alimento. Se originan en el ectodermo o endodermo del epitelio local de la cavidad orofaríngea {Northcutt R. G. 2004}, y están constituidas por las siguientes células:

Están constituidas por cuatro tipos diferentes de células.

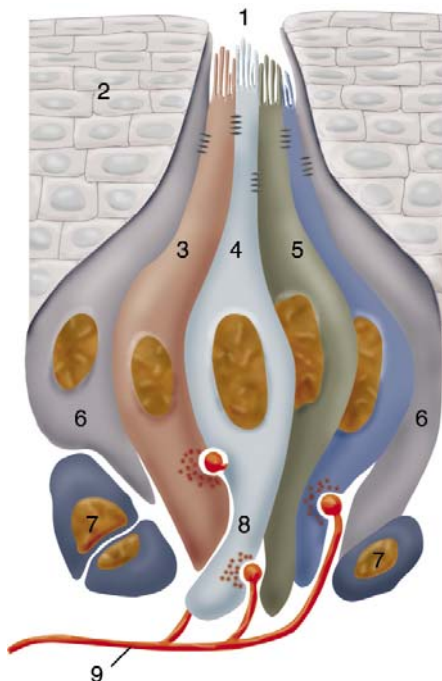


Figura 3. Botón gustativo.

- 1) Poro gustativo
- 2) Epitelio de la lengua
- 3) Célula gustativa intermedia (tipo III)
- 4) Célula gustativa clara (tipo II)
- 5) Célula oscura (tipo I)
- 6) Célula sustentacular
- 7) Célula basal (tipo IV)
- 8) Sinapsis de la fibra gustativa
- 9) Aferencia de la fibra gustativa

Tomada de la referencia "Csillag A. (2005)"

- Las células tipo I o células oscuras por su gran afinidad a tinciones basofílicas, son alargadas, angostas y extendidas desde la base del botón hasta el ápice del poro gustativo. Tienen una función secretora de una sustancia amorfa encontrada en los poros gustativos. También puede funcionar como célula de aislamiento y nutrición y como fagocito {Simon S. A. & Roper S. D. 1993}. En algunos casos pueden tener contactos sinápticos y por tanto funcionar como células sensoriales secundarias.

- Las células tipo II o células claras por su poca o nula afinidad a tinciones basofílicas y tipo III o intermedias. Ambos grupos celulares son alargados y se extienden por la base del botón al poro gustativo, tienen contactos sinápticos con fibras nerviosas, presentan microvellosidades en la región apical del poro, en estas microvellosidades se encuentran los receptores quimiosensoriales.

- Las células tipo IV o basales, son ovaladas o planas, se localizan en la base del botón en la lámina basal que separa el epitelio de la lámina subyacente. Se consideran como las células precursoras de los otros tipos celulares. En algunos vertebrados estas tienen protuberancias que se extienden hasta el plexo de aferencias nerviosas y es posible que tengan una participación como interneuronas.

Los botones están protegidos por células marginales, células epiteliales periféricas y se encuentran en la cavidad oral, distribuidas libremente en el epitelio, con excepción de la lengua, donde están mantenidas en papilas {Csillag A., 2005}.

Las papilas por su morfología se dividen en papilas filiformes (únicas que no presentan botones gustativos), fungiformes, foliadas y circunvaladas, ver figura 4.

Las papilas filiformes se hallan en la región dorsal, fungiformes las dos terceras partes antero-lateral de la lengua, las foliadas en la región postero-lateral de la lengua y las circunvaladas están situadas en la parte posterior dorsal de la lengua.

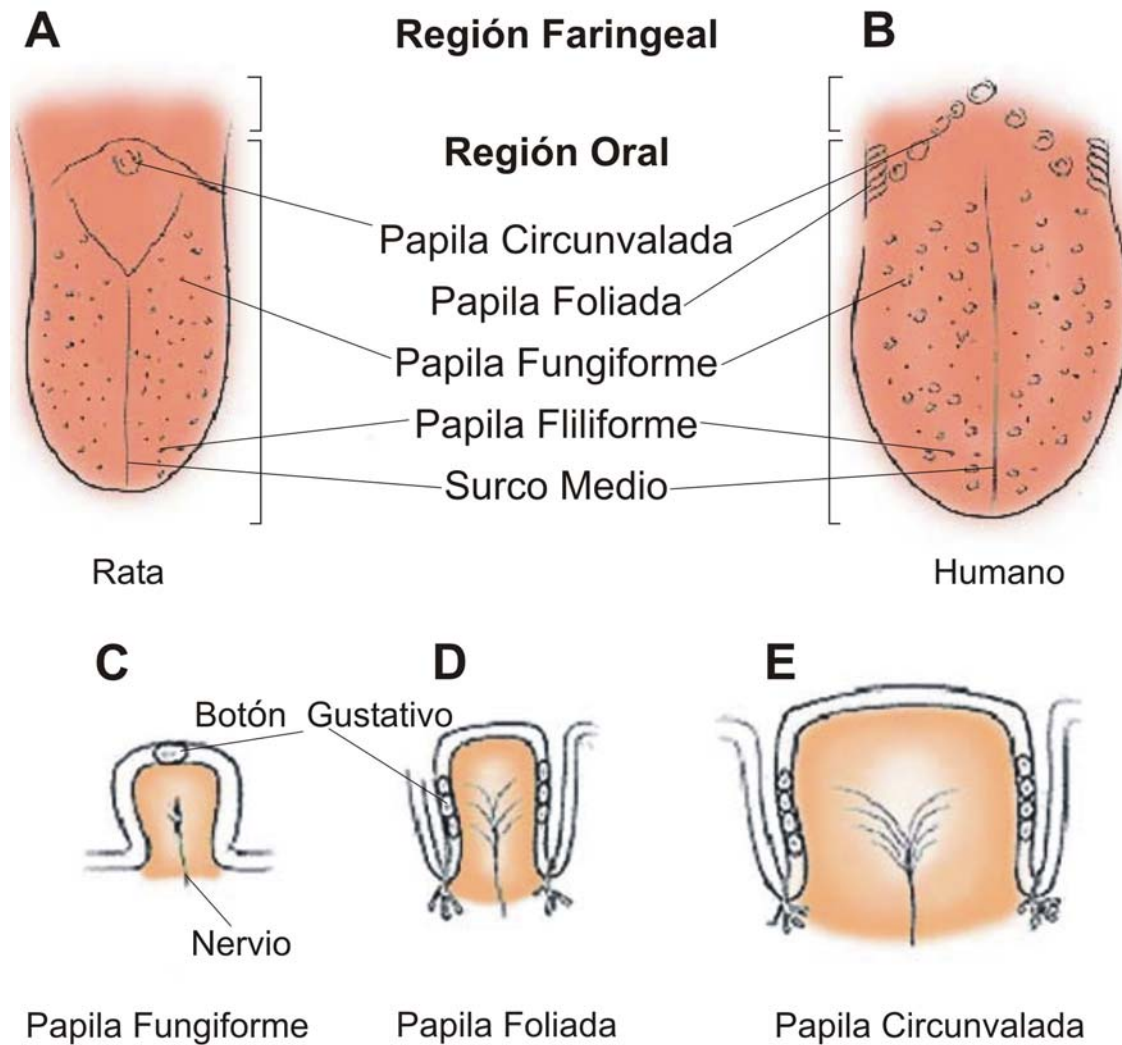


Figura 4. Papilas gustativas

El esquema muestra las papilas gustativas y su organización en la lengua de rata y humano. A) Lengua de ratón parte oral y faríngea y la eminencia intermolar de la lengua. B) Lengua de humano. C) Papila fungiforme. D) Papila foliada. E) Papila circunvalada. Imagen reproducida de la referencia "Jung HS, Akita K & Kim JY. 2004".

1.1.5.2. Receptores del sabor.

Hasta ahora, por lo menos se conocen tres tipos de receptores específicos del sabor asociados a proteínas G y tienen una localización diferencial en las papilas gustativas. También se encuentran canales iónicos que pueden enviar información de sabores salados y ácidos.

Entre los receptores asociados a proteínas G, están los receptores gustativos tipo T1Rs (por sus siglas en inglés), se encuentran principalmente en papilas fungiformes frontales de la lengua y paladar (son sensibles a calcio

y a feromonas); Los receptores T1R2, se encuentran principalmente en la región trasera y debajo de la lengua, en papilas foliadas y circunvaladas; Y los T1R3 se distribuyen en todas las papilas gustativas.

Los receptores son heterodiméricos y se expresan de la siguiente forma:

- T1R1+T1R3 Responden a L-aminoácidos, *umami* y a distintos sabores encontrados en la carne.
- T1R2+T1R3 Son necesarios para la discriminación de sabores dulces tanto naturales como artificiales.
- T1R3+T1R3 Detectan sabores dulces.

Existen otros receptores denominados T2R que tienen más de 30 variedades de receptores y cuya peculiaridad es detectar los sabores amargos.

Dependiendo de la coexistencia de dos o más formas genéticas de receptores en una misma célula gustativa provocará una apreciación distinta de las características de los alimentos {James P. 2004}.

La información de sabores salados es transmitida por canales iónicos de sodio, denominados canales de sodio epitelial (ENaC) {Stuart A. *et al.* 1998} y dependiendo del tipo de sal, pueden percibirse como salado, amargo, metálico o astringente {Simon SA, *et al.*, 2006}. De igual modo, los sabores ácidos son detectados por canales iónicos llamados receptores potenciales transitorios (TRP, por sus siglas en ingles) {Simon SA, *et al.*, 2006}.

Estas señales son transportadas de la región orofacial al cerebro a través de los siguientes pares de nervios craneales.

1.1.5.3. Pares de Nervios Craneales.

Los nervios craneales involucrados en la detección del sabor terminan en el Núcleo del Tracto Solitario.

Estos son:

- El nervio facial (VII) ramificación Cuerda del tímpano e intermediario de *Wrisberg*.
- Nervio trigémino (V) rama lingual-tonsilar y rama Petroso mayor superficial.

- Nervio glossofaríngeo (IX)
- Nervio vago (X), ramificación nervio laríngeo superior.

La información gustativa llega al nervio facial a partir de las ramificaciones de la Cuerda del tímpano a través del ganglio ótico del nervio petroso mayor superficial y del nervio lingual (perteneciente a la tercera división del nervio trigémino) inervan a las papilas fungiformes de la región rostral (2/3 partes) de la lengua {Saper C. B. 2002}.

El nervio facial por medio de la rama petroso mayor superficial a través del ganglio pterigopalatino inerva pequeñas subpoblaciones de botones gustativos de la pared bucal, órgano sublingual y algunas papilas foliadas. {Sydney A. *et al.* 1993}, {Paxinos G. & Watson C. 1995}.

El Nervio Glossofaríngeo, cuyos cuerpos neuronales se encuentran en el ganglio geniculado, inerva también a la parte posterior de la lengua y parte de la región orofaríngea teniendo contacto con la mayoría de los receptores gustativos de las papilas foliadas y a todas las circunvaladas. Este nervio termina en la parte más caudal de la región rostral y medial del Nervio del Tracto Solitario (NTS) {Paxinos G. & Watson C. 1995} extendiéndose al área postrema {Bures, J. *et al.* 1998}.

También existen poblaciones de botones gustativos en el paladar duro y suave, faringe y laringe. Los receptores localizados en la faringe y laringe son inervados por axones de la rama del nervio vago laríngeo superior; en tanto, el paladar duro, suave y la parte anterior de la lengua son inervados por la rama del nervio facial, nervio intermediario de *Wrisberg* que tiene sus cuerpos neuronales también en el ganglio geniculado {Paxinos G. & Watson C. 1995}. La rama de la laringe superior del nervio vago finaliza en la región caudal del NTS superponiéndose con los axones provenientes de la parte caudal de la lengua; en tanto, el intermediario de *Wrisberg* termina densamente en la región rostral del NTS {Paxinos G. & Watson C. 1995}, {Cliffor B. Saper, 2002}.

1.1.6. Sistema Gustativo (Sistema Nervioso Central).

La información gustativa viaja del NTS al Núcleo Parabraquial (NPB) región gustativa o *Waist*, el cual es considerado como la primera estructura cerebral donde se lleva a cabo la interacción entre el estímulo gustativo y el visceral. Este núcleo transporta la información por dos rutas, por el sistema talámico y por el límbico. Por el primero, manda la señal al núcleo talámico ventroposteromedial región *parvicellular* (tálamo gustativo) y al núcleo parasubtalámico que a su vez la transporta a la CI. Por el sistema límbico proyecta a la amígdala central (ACe) que tiene intercomunicación con la ABL y se conectan con la región disgranular de CI, quien manda proyecciones a la corteza orbitofrontal, considerada como la corteza gustativa secundaria (ver figura 5). Para mayor información, favor de revisar el apéndice I, de vías gustativas.

1.1.7. Vía del procesamiento de la información visceral.

El SNC obtiene información visceral a través de dos rutas: por medio del nervio vago y por vía hemática; la primera, tiene proyecciones al NTS; la segunda al área postrema, que a su vez proyecta para NTS y para NPB. El NTS manda la información visceral al NPB, al sistema límbico (amígdala) y al hipotálamo medial región *parvicellular* y lateral paraventricular. El NPB envía también a dichas regiones del hipotálamo y al tálamo ventro-postero lateral región *parvicellular* o tálamo visceral y a la ACe, quien tiene comunicación retroactiva con ABL y estas directa o indirectamente embocan sus axones a la región agranular de la CI {Paxinos G. & Watson C., 1995}. Para una descripción más detallada de la vía visceral, se recomienda revisar el apéndice II, de vía visceral del presente trabajo y ver la figura 5.

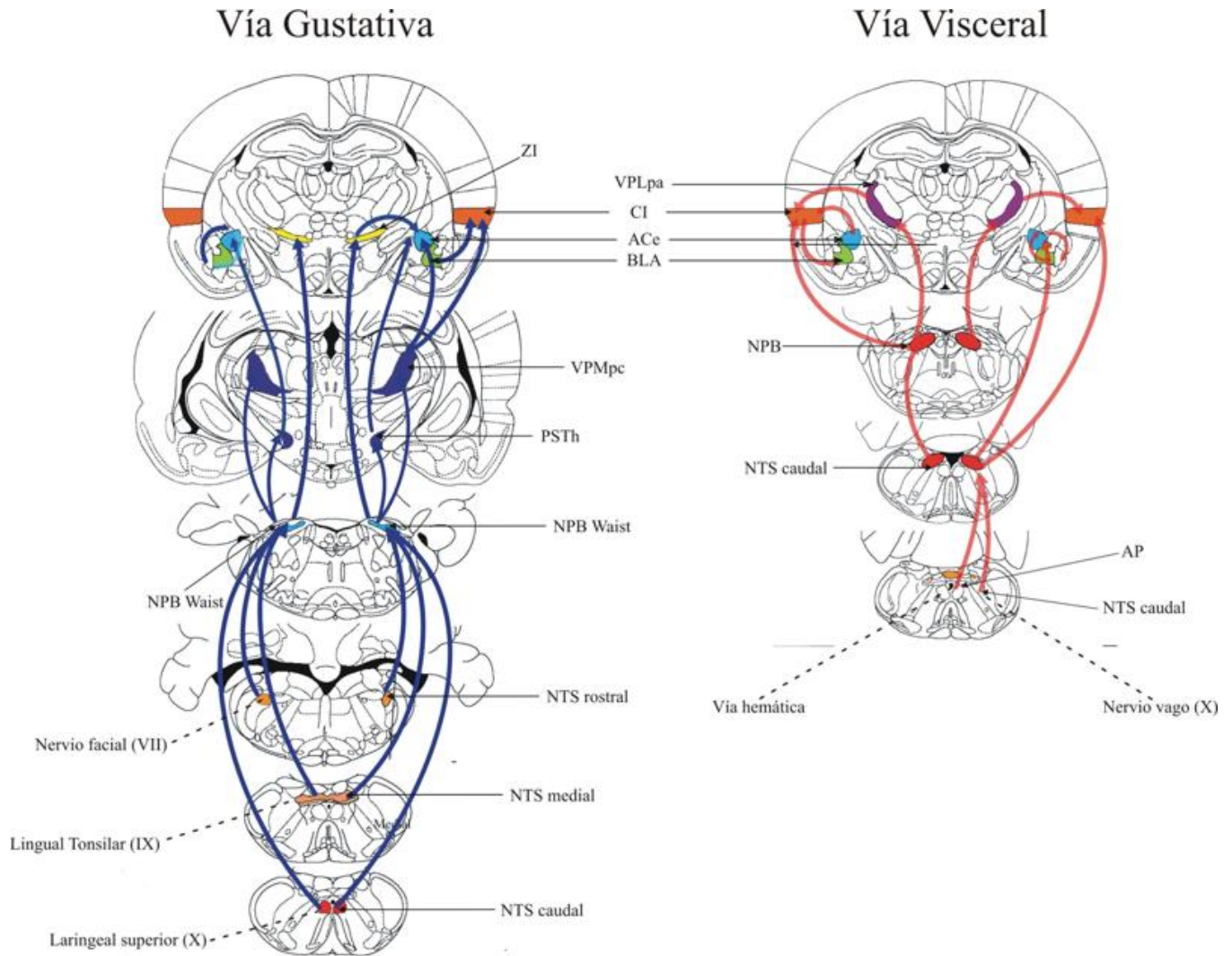


Figura 5. Vías del Procesamiento de Información Gustativa y Visceral.

NTS, núcleo del tracto solitario; NPB, núcleo paraabraquial; PSTh, núcleo parasubtalámico; VPMpc, tálamo ventroposteromedial *parvicellular*; ABL, amígdala basolateral; ACe, amígdala central; CI, corteza insular; ZI, zona inserta; VPLpa, tálamo ventroposterolateral *parvicellular*; AP, área postrema. Las líneas punteadas muestran la entrada de la información al sistema nervioso central.

1.2. Neurotransmisores y receptores involucrados en la memoria gustativa.

Investigaciones recientes muestran que algunos neurotransmisores están ampliamente involucrados en la memoria gustativa. Dos de ellos son la Acetilcolina (ACh) y el Glutamato.

1.2.1. Acetilcolina.

La acetilcolina (ACh) es un neurotransmisor ampliamente estudiado, cuya participación es crucial en la conducta animal, puesto que está involucrado en procesos fisiológicos como la locomoción, nocicepción, atención, ansiedad, sueño, adicción, aprendizaje y memoria {Kandel E. R., Schwartz J. H. & Jessell T. M., 1991}, {Siegel G. J. 1994}. En la memoria gustativa, la liberación de acetilcolina en corteza cerebral proveniente del núcleo *Basalis Magnocellularis* (NBM), tienen un papel crucial, particularmente durante la detección del estímulo novedoso y por ende en la formación de la memoria gustativa (cuando se libera en CI), mas no en la evocación de la misma {Miranda M. I. & Bermudez-Rattoni F. 1999}. Se ha observado que ante la detección de un nuevo sabor, hay liberación de ACh en CI y conforme se hace familiar dicho sabor, disminuye la liberación del neurotransmisor {Miranda M. I. *et al.* 2000}.

La ACh presenta dos tipos de receptores, los muscarínicos y los nicotínicos; en el SNC se encuentran los siguientes receptores nicotínicos: $\alpha_2 - \alpha_{10}$ y los $\beta_2 - \beta_5$ {Siegel G. J. 1994} que pueden formar diferentes combinaciones y los α_7 a α_{10} pueden formar homómeros. Dichos receptores tienen amplia distribución en el cerebro, sin embargo el que se encuentra con mayor abundancia en estructuras que son parte de la vía gustativo – visceral son los heterómeros α_4/β_2 en tallo cerebral, amígdala, vía tálamo – cortical y corteza cerebral y $\alpha_4/\beta_2/\alpha_6/\beta_3$ en área ventral tegmental (VTA) y núcleo *acumbens* {Siegel G. J. 1994}.

Estudios realizados por Laviolette & van der Kooy muestran que microinfusiones de nicotina en VTA pueden producir tanto aversión, como preferencia a un lugar según la concentración. A baja concentración produce aversión, mientras que a una concentración alta producen lo contrario. {Laviolette S. R. & van der Kooy D. 2004}. En amígdala, el bloqueo a los receptores nicotínicos con mecamilamina (un antagonista específico para estos receptores), evita el aprendizaje de tareas implicadas en la memoria de

referencia, como es el caso de la prevención pasiva, lo que sugiere que receptores nicotínicos en amígdala pueden ser moduladores de esta memoria.

Los receptores muscarínicos de acuerdo a su homología en la secuencia de aminoácidos se clasifican en $M_1 - M_5$. Los receptores M_1 , M_3 y M_5 están acoplados a proteínas $G_{q/11}$ que activan la hidrólisis de fosfoinosítidos y la movilización de calcio; los M_2 y M_4 están acopladas con proteínas $G_{i/o}$ por tanto disminuyen la actividad de la enzima adenilato ciclasa {resumido por Hornigold DC. *et al.* 2003}.

Los receptores muscarínicos tienen una localización diferencial en las neuronas, en las terminaciones presinápticas se encuentran los receptores M_2 y M_4 que funcionan como autorreceptores y controlan la liberación de ACh, en tanto, los M_1 , M_3 y M_5 se localizan en la postsinapsis {resumido por Porter A. C. *et al.* 2002}. Estudios realizados por Ramírez-Lugo y colaboradores en 2003, muestran que los receptores muscarínicos postsinápticos son importantes para la adquisición del CAS en CI. El bloqueo de estos receptores con pirenzepina (antagonista selectivo para M_1 y M_3), o escopolamina (antagonista muscarínico inespecífico) durante la adquisición del CAS, abaten el aprendizaje; por el contrario cuando se microinyectan el día de la prueba no producen efecto alguno en la evocación de esta tarea {Ramírez-Lugo L. *et al.* 2003}.

Con respecto a la acción de los receptores muscarínicos presinápticos, la microinyección en CI del antagonista específico para M_2 (AFDX-116) no altera la conducta aún cuando incrementa la liberación de ACh en dicha corteza {Ramírez-Lugo L. *et al.* 2003}. Los receptores muscarínicos están implicados en procesos de memoria gustativo-aversiva tanto a corto como a largo plazo; Ferreira y colaboradores demuestran esto en el año 2002 que al microinyectar escopolamina en CI, antes de la presentación del estímulo novedoso e inmediatamente después del mismo. Ello abate la formación del CAS en el primer caso, pero no cuando se inyecta inmediatamente después {Ferreira G. *et al.* 2002}.

Para la memoria gustativa apetecible (atenuación de la neofobia), los receptores muscarínicos son esenciales tanto para la adquisición como para la consolidación de esta tarea. Gutiérrez y colaboradores demuestran que el bloqueo sobre los receptores muscarínicos con escopolamina en CI antes o inmediatamente después de la presentación del sabor novedoso, evita la atenuación de la neofobia, pero deja intacta la detección del sabor y no altera la capacidad del organismo de ingestión {Gutiérrez R *et al.* 2003a}. Por lo tanto, cuando se le vuelve a presentar el alimento (en un intervalo de 0 a 3 días), el animal consume poco como si fuera la primera vez que lo prueba; es decir, afecta la consolidación de la memoria.

Cabe destacar que los receptores muscarínicos ante un estímulo gustativo novedoso en CI activan a la proteína cinasa C (PKC) que a su vez fosforila a la cinasa de respuesta extracelular (ERK 1/2) {Berman DE, *et al.*, 1998}. ERK 1/2 activa a la proteína de unión de respuesta del AMPc (CREB por sus siglas en inglés) posibilitando la síntesis protéica para la formación de la memoria gustativa a largo plazo {resumido por Bermúdez-Rattoni F. 2004}. En la figura 6 se observa la vía de señales intracelulares acaecida en las neuronas de CI, provocada por estimulación ante un sabor nuevo.

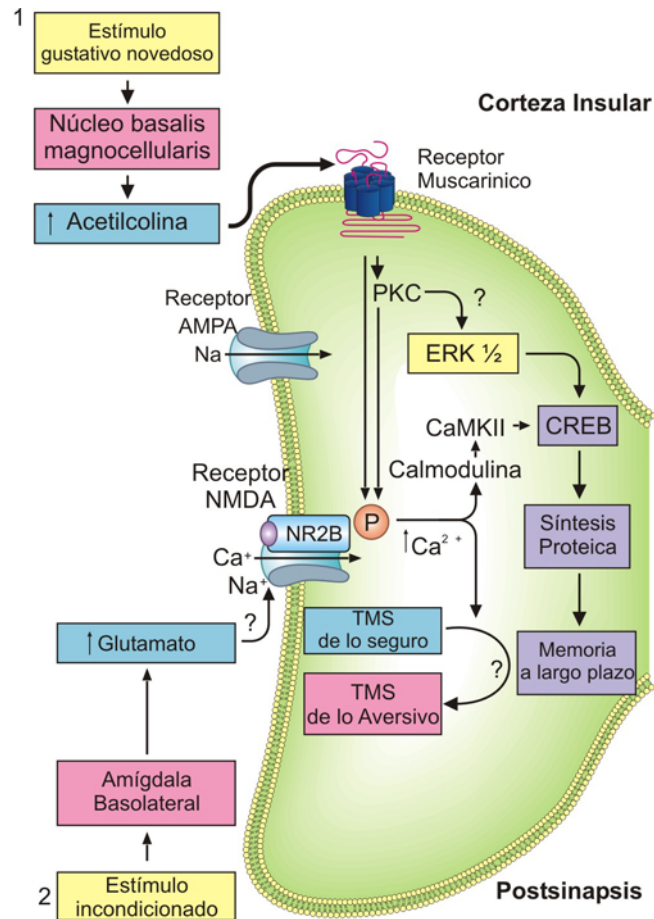


Figura 6. Integración de la memoria gustativa en corteza insular (CI).

La memoria gustativa apetecible es inducida por la liberación de acetilcolina proveniente del núcleo basal magnocellular (NBM) a CI. La activación de los receptores muscarínicos produce fosforilación de la subunidad NR2B del receptor NMDA que decae cuando el sabor se vuelve familiar. Los receptores muscarínicos producen una cascada de señales intracelulares que finaliza en la síntesis proteica y con ello la formación de la memoria gustativa apetecible a largo plazo (MLP). La información visceral arriba a la CI por medio de la liberación de glutamato en ABL y en la misma corteza proveniente de ABL, una vez presentado el estímulo incondicionado. La fosforilación de NR2B facilita la respuesta del estímulo aversivo y modifica de una memoria gustativa apetecible a una aversiva. Imagen modificada de la referencia: "Bermúdez-Rattoni F. 2004a".

1.2.2. Serotonina.

Las células serotoninérgicas se encuentran en la línea media del tallo cerebral, principalmente en el núcleo de Raphe, que tiene proyecciones prácticamente a todo el cerebro, de las cuales las fibras ascendentes dorsal y medial llevan la información a la neocorteza, a la región lateral de la corteza frontal y a la amígdala {Brailowsky S., 2002}.

Se sabe que las familias de receptores serotoninérgicos 5-HT₁ y 5-HT₂ modifican la conducta de ingesta. Los 5-HT_{1C} y los 5-HT_{1B} incrementan el estado de saciedad en ratas, mientras que los 5-HT_{2A} producen hipofagia {Kitchener SJ & Dourish CT, 1994}. El equipo de De Vry en el año 2000 publicó un estudio realizados en ratas bajo un modelo de CAS donde corrobora que la inhibición de 5-HT_{1/2} mediante varios antagonistas serotoninérgicos, de los cuales resalta la acción del fármaco *1-[2,5-dimetoxi-4-iodofenil]-2-aminopropano* (DOI), antagonista para 5-HT_{2A/AC}, inyectados intraperitro (ip) posterior al consumo del sabor nuevo, producen aversión a dicho sabor; posiblemente porque inducen malestar a partir de la activación de mecanismos eméticos. {De Vry J, *et al.*, 2000}. Mientras que el uso sistémico de agonistas serotoninérgicos 5-HT_{1A} atenúan el CAS y este último, puede ser provocado por inhibidores de la óxido nítrico sintasa, que funcionan como estímulo aversivo {Wegener G. *et al.*, 2001}. Sin embargo, en otros laboratorios encuentran que antagonistas serotoninérgicos ip, bloquean el CAS {Gorzalka B, *et al.*, 2003}. Investigaciones realizadas con microdiálisis en NPB revelan que los niveles de 5-HT extracelular en esta estructura, aumentan considerablemente después de la estimulación con un sabor novedoso, es decir este neurotransmisor está involucrado en el procesamiento del estímulo gustativo novedoso y posiblemente esté implicado en la regulación de la ansiedad puesto que también se incrementan los niveles de liberación después de inducir dolor abdominal, pero no cuando se parean los dos estímulos {Zach P, Krivanek J, Vales K., 2006}.

1.2.3. Catecolaminas

Investigaciones recientes muestran que los receptores de noradrenalina, adrenalina y dopamina están involucrados en la formación y consolidación de varios tipos de memoria. Cuando se microinyectan los agonistas de norepinefrina o de receptores β-adrenérgicos en ABL, se mejora la consolidación de varias tareas mnemónicas como inhibición latente {Ferry B. & McGaugh JL. 1999} y tareas espaciales {Hatfield T. & McGaugh JL. 1999};

en tanto, si son inhibidos los receptores β -adrenérgicos, repercute negativamente en la consolidación de dichas memorias.

Con respecto a la memoria gustativa, la noradrenalina en ABL es necesaria para el aprendizaje del CAS {resumido por Yamamoto T. *et al.*, 1998}; en particular, los receptores β -adrenérgicos son necesarios durante la asociación entre el estímulo gustativo con el visceral y en la consolidación del CAS, ello se observa al microinyectar un antagonista de los receptores β -adrenérgicos, propanolol, de forma bilateral a una concentración de $1\mu\text{g}/0.2\mu\text{l}$ {Miranda MI, *et al.*, 2003}. Mientras que en CI, Berman y colaboradores, encuentran un significativo abatimiento en la adquisición memoria gustativa cuando se microinyecta propanolol a una concentración alta ($20\mu\text{g}/1\mu\text{l}$) en CI durante el CAS y la inhibición latente (20 minutos antes de la presentación del sabor novedoso en ambos) {Berman *et al.*, 2000}; No obstante, a bajas concentraciones ($2.5\mu\text{g}/1\mu\text{l}$), cinco minutos previos a la primer exposición del estímulo gustativo novedoso, Miranda y colaboradores, no registran afectación alguna en el desempeño del CAS en esta misma estructura {Miranda MI, *et al.*, 2008}. Con respecto a la AN, el propanolol microinyectado tanto en ABL como en CI a dosis baja impide el desarrollo de la tarea {Miranda MI, *et al.*, 2008}.

1.2.4. Dopamina

El sistema dopaminérgico mesolímbico se activa ante un estímulo de recompensa como es el caso de saborear un alimento grato, sin embargo, estudios recientes muestran que los receptores dopaminérgicos están más involucrados en el estado de anticipación o expectación ante un alimento, que en la palatabilidad del mismo {Barbano MF & Cador M. 2007}. Investigaciones realizadas por el grupo de Zito y colaboradores en 1988, muestran que el CAS es abatido cuando se eliminan las células dopaminérgicas en CI mediante el uso de *6 hidroxidopamina* (6-OHDA) o cuando son inhibidas por el bloqueador *α -flupenthixol* {Zito KA, *et al.*, 1988}. De igual forma, cuando se inhiben temporalmente los receptores D1/D5 con el antagonista *R(1)-7-chloro-8-hidroxi-3-metil-1-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1H-3-benzazepina hidrohloride* (SCH) 20

minutos antes de la presentación del sabor nuevo, se bloquea el CAS así como la inhibición latente, un tipo de aprendizaje en el cual un sabor novedoso apetecible se vuelve aversivo en subsecuentes presentaciones {Berman DE, *et al.*, 2000}. En contraste, el grupo de Fenu, encuentra en la región laminar del núcleo *accumbens*, que la inhibición específica de los receptores D1 durante la asociación de un estímulo gustativo novedoso (estímulo condicionado) y malestar gástrico (estímulo incondicionado) irrumpe la formación del CAS {Fenu S, Bassareo V & Di Chiara G. 2001}. Lo que sugiere que estos receptores son importantes tanto para la adquisición y asociación de la memoria aversiva y la adquisición de la memoria incidental (inhibición latente).

1.2.5. GABA

Se sabe que los neurotransmisores inhibitorios como GABA, tienen una participación importante en el CAS. La inhibición de GABA_A por medio de un antagonista benzodiazepina (midazolam) en ABL, produce alteraciones reversibles en la evocación de la memoria {Yasoshima Y, Yamamoto T & Kobayashi K. 2005}. También afecta la extinción de dicha tarea al tratarse con muscimol, otro agonista GABAérgico_{A/C} en la amígdala {Akirav I., 2007}. En CI el mismo antagonista perturba tanto la adquisición como la evocación del CAS y la formación de la inhibición latente {Berman *et al.*, 2000}. Mientras que los receptores GABA_B se han encontrado que están involucrados en diferentes fases del CAS. Los GABA_{B (1a)} en la adquisición y los GABA_{B (1b)} durante la extinción de la memoria {Jacobson LH, *et al.*, 2006}.

1.3. Glutamato.

El glutamato es un aminoácido de vital importancia en todos los organismos, puesto que es parte esencial de las proteínas, participa en la mayoría de las vías metabólicas e incluso funge como neurotransmisor excitador en el SNC.

Dicho aminoácido se ha considerado como el principal neurotransmisor excitador en el cerebro, prioritariamente en mamíferos y tiene un papel muy importante en procesos de plasticidad neuronal y en diferentes eventos de adquisición, consolidación y evocación de la memoria.

Los receptores glutamatérgicos se clasifican en ionotrópicos (forman canales iónicos) y metabotrópicos, receptores transmembranales asociados a proteínas cuya conformación heterotrimérica se disocia por cambio de GDP a GTP (proteína G).

1.3.1. Receptores ionotrópicos de glutamato.

Los receptores ionotrópicos como su nombre lo indica, son canales iónicos. Tienen una historia evolutiva muy amplia, puesto que comparten homología con secuencias de transportadores de amino ácidos periplasmáticos bacteriales y con transportadores de péptidos en plantas que son sensibles al glutamato y que están involucrados en la respuesta fótica {Lam H. M. *et al.*, 1998}.

Estos receptores son de transmisión rápida, se dividen en tres tipos de acuerdo a sus características farmacológicas, electrofisiológicas y estructurales {Riedel G., Platt B. & Micheau J., 2003}.

- Receptores al *ácido propionico α -amino-3 hidroxil-5 metil-4isoxazol* (AMPA)
- Receptores a *Kainato* (KA)
- Receptores a *N-metil-D-aspartato* (NMDA).

1.3.1.1. Receptores AMPA.

Los receptores AMPA (GluR1, GluR2, GluR3 y GluR4) están compuestos de 889 aminoácidos y pueden ser homodímeros o heterodímeros. Se encuentran asociados con canales catiónicos permeables a Na⁺ y K⁺. Tienen una baja afinidad al glutamato, pero una respuesta rápida en la postsinapsis al interactuar con este {Riedel G., Platt B. & Micheau J., 2003}.

Se encuentran asociados con canales catiónicos de baja conductancia (menores de 20 pS) y tienen rápido detrimento de sensibilidad {Kandel E. R. 1991}, {Riedel G., Platt B. & Micheau J., 2003}. Estos receptores están involucrados en plasticidad sináptica y regulación de receptores NMDA.

En cuanto a procesos mnemónicos los receptores AMPA incrementan la magnitud de la corriente provocada por los receptores de NMDA que producen potenciación a largo plazo (LTP, por sus siglas en ingles) en hipocampo {Staubli U, Rogers G. & Lynch G. 1994}; que es un modelo de plasticidad neuronal, cuyos mecanismos están relacionado con la formación de la memoria. En el hipocampo, los receptores AMPA/KA tiene un papel importante en la consolidación de la memoria de tareas no asociativas como habituación a un ambiente nuevo {Vianna M.R. *et al.* 2000}, así como en aversivas, tal es el caso de inhibición latente y en la evocación de memorias espaciales como el laberinto de agua {Riedel G., Platt B. & Micheau J., 2003}. Con respecto a la memoria gustativa, estos receptores fungen un papel importante en CI tanto en la adquisición como en la evocación de la memoria aversiva al sabor {Berman D. E. *et al.* 2000} y en ABL durante la asociación del estímulo gustativo con el malestar gástrico y en la evocación {resumido por Yamamoto T. *et al.*, 1998}, {Yasoshima Y, Yamamoto T & Kobayashi K. 2005}.

1.3.1.2. *Receptores a Kainato.*

Los receptores a kainato (KA) denominados GluR5, GluR6 y GluR7 son homoméricos y están asociados con canales de Na⁺ y K⁺ de baja conductancia; mientras que los receptores KA1-KA2 son de alta afinidad. Los receptores al kainato son muy parecidos a los AMPA tanto en sus respuestas farmacológicas como fisiológicas, por ende casi no hay literatura que distinga uno de los otros.

1.3.1.3. *Receptores NMDA*

Los receptores de NMDA controlan canales catiónicos de alta conductancia (40-50pS) son permeables a Ca²⁺, Na⁺ y K⁺, {Kandel E. 1991}, {Riedel G., Platt B. & Micheau J., 2003} se encuentran constituidos por las

subunidades NR1, NR2A-D y NR3A-B que forman una estructura pentamérica {Cull-Candy S. *et al.* 2001}, {Riedel G., Platt B. & Micheau J., 2003}. En estado inactivo el receptor se encuentra bloqueado por un ión Mg^{+} el cual es removido por la despolarización de la membrana celular para dar paso al flujo de iones por la activación previa de los receptores AMPA/KA aunado a la activación del receptor de NMDA {Cain DP., 1997}.

Los receptores de NMDA son de gran importancia en el desarrollo, mantenimiento y plasticidad del SNC y en distintas fases de la formación de la memoria de casi cualquier tipo de proceso cognoscitivo y mnemónico. Su bloqueo en hipocampo con el antagonista *ácido 2-amino-5-fosfonovalérico* (AP-V) {Davis S., Butcher S. P. & Morris R. G. M., 1992} y en CI con antagonistas competitivos como (*-3(-2 carboxipiperazina-4-il) propil-1-ácido fosfonoico*) (CPP) y *dizolcilpina malato* (MK-801) {Escobar M. L., Alcocer I. & Chao V. 1998}, abaten el LTP *in vivo* y se evita tanto la adquisición y consolidación del aprendizaje espacial en el laberinto de agua {Davis S., Butcher S. P. & Morris R. G. M., 1992}, {Gutiérrez H, et al., 1999} como del CAS {Gutiérrez H. *et al.*, 1999}, {Escobar M. L., Alcocer I. & Chao V. 1998}. Así como también cuando se micro inyecta AP-V en CI {Ferreira G. *et al.* 2002}.

Durante la estimulación ante un sabor novedoso, se ha visto que en CI se fosforila la subunidad NR2B {Rosenblum K. *et al.*, 1997} que permite al canal, el influjo de más Ca^{2+} al interior de la célula, lo cual actúa sinérgicamente con la activación de los receptores muscarínicos que actúan en ERK para provocar una cascada de señales durante la formación de la memoria gustativa para la consolidación a largo plazo de la misma {Berman DE, *et al.*, 1998} (ver figura 6).

Los receptores tipo NMDA son de crucial importancia para el procesamiento del estímulo aversivo, puesto que se ha observado una significativa liberación de glutamato tanto en amígdala como en CI durante la exposición al estímulo visceral {Miranda MI. *et al.*, 2002} cuyo mecanismo es sugerentemente mediada por los receptores NMDA {Bermúdez-Rattoni F. *et al.* 2004}.

Estudios realizados muestran que alteraciones en la liberación de glutamato pueden causar o estar involucradas en patologías tales como corea de Huntington, Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica, demencia por HIV y Alzheimer, entre otras. Sin embargo cuando se impide el funcionamiento de los receptores NMDA con antagonistas no competitivos, se pueden atenuar esas afecciones {Stefan B. *et al.* 2003}.

1.3.2. Receptores metabotrópicos de glutamato.

Los receptores metabotrópicos (*metaballein*, cambiar + *trope* giro), a diferencia de los ionotrópicos, no activan directamente a los canales iónicos, sino a proteínas G que son proteínas intramembranales {Demetrios K. *et al.* 2003} que a su vez activan o inactivan la formación de segundos mensajeros que originan cascadas de señales necesarias para la regulación de la expresión genética y orquestación de la plasticidad de las redes neuronales. Su forma de acción es más lenta con respecto a la ionotrópica, pero es más específica o moduladora.

Los receptores metabotrópicos de glutamato, a pesar de tener gran relevancia en mecanismos de neuromodulación, neuroprotección, participación en procesos de plasticidad sináptica y formación de la memoria, han sido poco estudiados.

Dichos receptores se dividen en tres grupos dependiendo de sus características farmacológicas, en cuanto a homología de secuencias y activación de vías de señales: Receptores metabotrópicos de glutamato tipo I, II y III {Block F. & Kosinski CM., 2001}, como se observa en la figura 7.

Receptores Glutamatérgicos

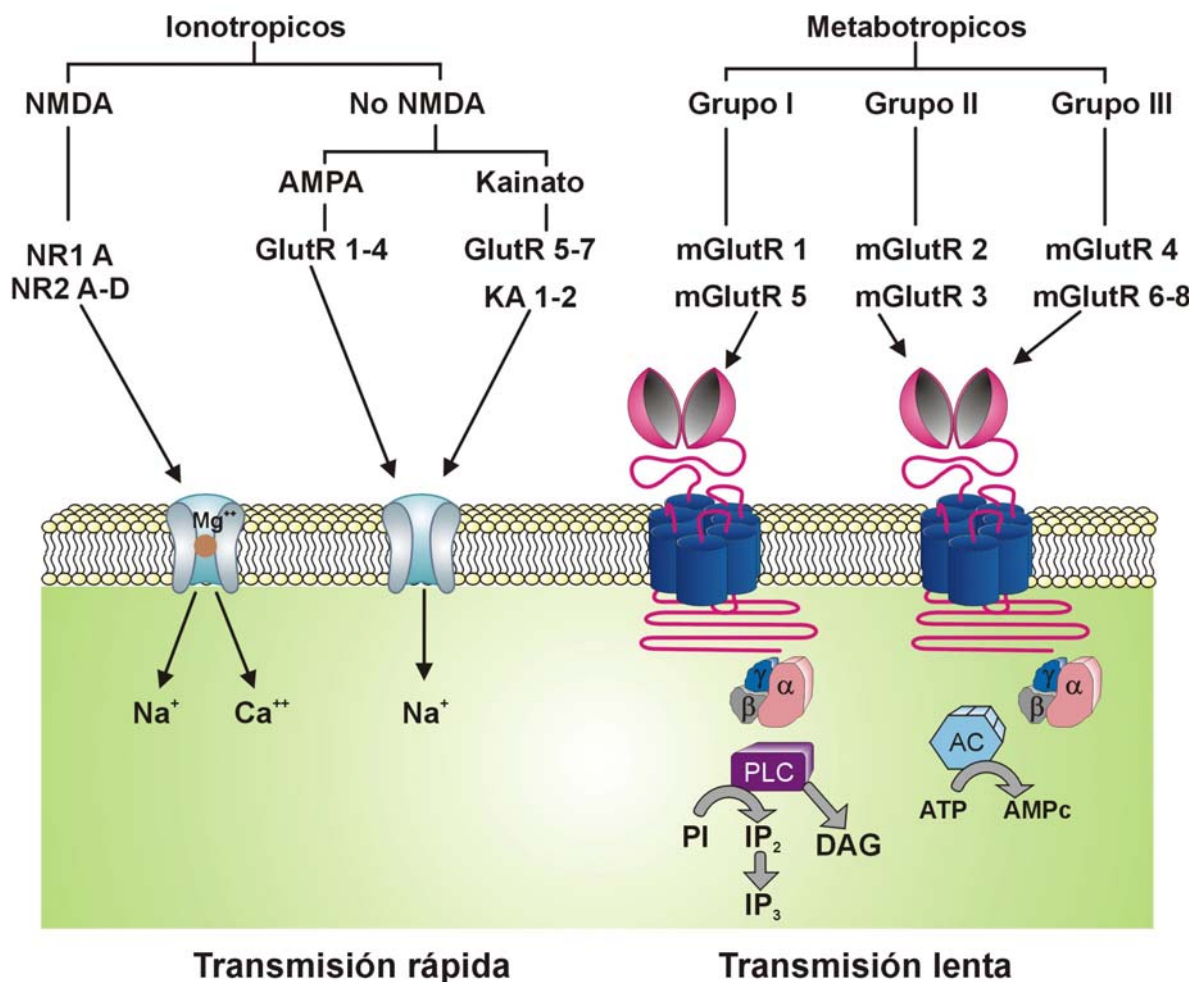


Figura 7. Clasificación de los receptores glutamatérgicos

Los ionotrópicos son de respuesta rápida ante la presencia del glutamato. AMPA y Kainato se encuentran asociados con canales de Na^+ y K^+ . Mientras que los receptores NMDA son permeables a Ca^{2+} , Na^+ y K^+ . Este canal está bloqueado por un ion Mg^+ cuando está inactivo, mas al despolarizarse la membrana o por unión de aspartato o glutamato, este es removido permitiendo el flujo de iones. Por otro lado los receptores de glutamato adosados a proteínas G son de transmisión lenta en comparación con los ionotrópicos y desencadenan una serie de cascadas moleculares. Los mGluR I activan la proteína fosfolipasa C (PLC) que incrementa la concentración de diacilglicerol (DAG) y esta a su vez a la proteína cinasa C (PKC) e incrementa la concentración de Ca^{2+} en la célula, a través de la formación de inositol trifosfato (IP_3). Mientras que la activación de mGluR II y III inhiben la adenosina ciclasa (AC) y disminuye la concentración de adenosina monofosfato cíclico (AMPc). Imagen modificada de "Block F. & Kosinski CM. 2001".

Los receptores metabotrópicos de glutamato tienen una distribución diferencial en la terminal sináptica, así como en la localización en el SNC, como lo muestra tabla 1.

Tabla 1. Cuadro comparativo de los receptores metabotrópicos de glutamato.

Receptor	Proteína G	Modulación intracelular	Localización
Grupo I			
mGluR 1	Excitadora G _{q/11}	PLC↑ IP ₃ + DAG→PKC ↑ →Ca ²⁺ ↑	Mayoritariamente en postsinapsis <i>glutamatérgica</i> . Amplia distribución con mayor abundancia en cerebelo.
mGluR 5	Excitadora G _{q/11}	PLC↑ IP ₃ + DAG→PKC ↑ →Ca ²⁺ ↑	Mayoritariamente en postsinapsis <i>glutamatérgica</i> y en glía. Muy expresado en cerebro anterior
Grupo II			
mGluR 2	Inhibidora G _{o/i}	AC↓→AMPc↓	En presinapsis en neuronas <i>glutamatérgica</i> y en otras. Tiene alta expresión en cerebro anterior, cerebelo y corteza.
mGluR 3	Inhibidora G _{o/i}	AC↓→AMPc↓	Ampliamente expresado en células gliales, en presinapsis y postsinapsis <i>glutamatérgicas</i> y de otras. Se distribuye en cerebro anterior
Grupo III			
mGluR 4	Inhibidora G _{o/i}	AC↓→AMPc↓	Tanto en presinapsis como postsinapsis se encuentran en neuronas <i>glutamatérgicas</i> y de otros neurotransmisores. Predominan en cerebelo.
mGluR 6	Inhibidora G _{o/i}	AC↓→AMPc↓	Sólo se expresan en células bipolares de la retina.
mGluR 7	Inhibidora G _{o/i}	AC↓→AMPc↓	Localización tanto en presinapsis como postsinapsis <i>glutamatérgica</i> y en otras neuronas, tiene una amplia distribución en SNC.
mGluR 8	Inhibidora G _{o/i}	AC↓→AMPc↓	Presinapsis <i>glutamatérgicas</i> y en otras. Alta distribución en cerebro anterior.

Los mGluR I producen activación de PLC que desencadena un incremento en IP₃ y DAG provocando la fosforilación de PKC y el aumento de Ca²⁺ intracelular. Los mGluR II y III regulan negativamente a la adenilato ciclasa que disminuye la concentración de AMPc.

1.3.2.1. Receptores metabotrópicos de glutamato tipo I (mGluR I).

Este es el grupo que ha sido más estudiado debido a que se encuentra presente en regiones del sistema nervioso central muy importantes tales como la corteza cerebral, hipocampo, tálamo y cerebelo, además por estar involucrado mecanismos de detección del dolor, en varias enfermedades

neurodegenerativas como Alzheimer, Corea de Huntington, Parkinson y desórdenes neuronales como la epilepsia e isquemia {Bordi F. & Ugolini A. 1999}.

El grupo I, comprende dos receptores, los mGluR 1 con cuatro variantes (a/ α , b/ β , c, d) y los mGluR 5 con dos variantes (a, b) {Muly E. C. *et al.* 2003}. Los mGluR I se unen a una proteína $G_q/11$ que activa a fosfolipasa C $\beta 1$ (PLC) $\beta 1$ la cual, está involucrada en la plasticidad sináptica {Hannan AJ, ABLkmore C. & Katsnelson A. 2001}. Esta hidroliza a la fostatidil inositol trifosfato para dar lugar a dos segundos mensajeros, inositol (1, 4, 5) trifosfato (IP_3) y diacilglicerol (DAG) {Bordi F. & Ugolini A., 1999}; {Conn PJ & Pin JP., 1997}, {Krauss G., 2003}. El IP_3 al unirse a receptores de canales de Ca^{2+} en la membrana del retículo endoplasmático (RE) produce una movilización de dichos iones acumulados en RE y desencadena un rápido incremento de Ca^{2+} en citosol, incrementando la excitabilidad de la membrana {Riedel G., Platt B. & Micheau J., 2003}, ver figura 9.

El DAG con Ca^{2+} como cofactor o en ausencia de este, activa a la proteína cinasa C (PKC), la cual está involucrada en múltiples procesos celulares. La PKC fosforila a proteínas cinasas que son importantes para la regulación de conductancias iónicas. La PKC activa a Raf, que fosforila a la proteína cinasa activadora de mitógeno 1 y 2 (MEK 1/2), esta a la proteína cinasa reguladora de señales extracelulares 1 y 2 (ERK1/2) {Zhao W., *et al.*, 2004} y ERK 1/2 a la proteína de unión de elemento de respuesta de adenosina monofosfato cíclico (CREB) {Mao L & Wang JQ., 2002} y ELK1 que son factores de transcripción. CREB también puede ser fosforilado por medio de la proteína cinasa dependiente de Ca^{2+} /calmodulina previamente activada por el incremento de Ca^{2+} intracelular {Krauss G., 2003}.

Los mGluR I también pueden promover la síntesis de proteínas mediante la activación de la cinasa activada por mitógeno (MAPK) a partir de tres vías: Por cascadas de señales provenientes de la estimulación de proteínas G adosadas a los receptores mGluR I, por fosforilación de Src o por proteínas de andamiaje tales como *Homer* 1b/c, importantes en la inserción y localización de los mGluR en membrana {Tu JC. *et al.*, 1998}. Mas si se activa

Homer 1a, inhibe la función de MAPK {Tu JC. *et al.*, 1998}, de modo que no se fosforila ni activa a ERK impidiendo la síntesis de nuevas proteínas. Recientemente se han encontrado factores de traducción que son activados por ERK o mediante otra vía alterna propiciada por los mGluR I que implica la fosforilación de la proteína cinasa 3-fosfoinositido (PI3K), Atk y proteína blanco de rapamicina de mamífero (mTor). Dichas vías activan al factor de iniciación de la traducción (eIF4E). A partir de la fosforilación de la cinasa N-terminal c-Jun (JNK), aumenta la transcripción controlada por el activador proteína-1, y a través de la activación de p38 que regula el factor nuclear κ B (NF- κ B), permite la traducción es regulada de forma negativa por la proteína de retraso mental frágil X (FMRP) {Gerber U, Gee CE & Benquet P. 2007} Por tanto, los mGluR I están involucrados en la plasticidad sináptica, formación de nuevas espinas dendríticas y filopodias que favorecen la comunicación interneuronal y por ende, la memoria y aprendizaje.

Por otro lado, estudios recientes muestran que los mGluR I pueden activar otras vías de señales simultáneamente con la vía PLC/IP₃/Ca²⁺. Tal es el caso de la vía adenosina monofosfato cíclico (AMPC) que posiblemente es causado por la activación de adenilato ciclasa (AC) a través de la estimulación de una proteína G_s {Hermans E. & Challiss RA., 2001}, {Conn PJ & Pin JP., 1997}.

Cabe hacer mención que la variante de los mGluR I, los mGluR 1a también pueden activar proteínas G_{o/i}. {Selkirk JV, *et al.* 2001}{Hermans E. *et al.* 2000}. Por tanto, los mGluR I activan una serie de cascadas de señales, sin embargo hasta el momento no se sabe cual de ellas está involucrada en los procesos de memoria gustativa. Empero, es sabido que para la memoria gustativa, en CI es necesario la activación de ERK {Swank MW & Sweatt JD. 2001}, {Berman DE. *et al.* 1998}, {Berman DE. *et al.* 2000} y en memoria gustativa aversiva la activación de AMPC {Miranda MI & McGaugh JL. 2004}, {Desmedt A, Hazvi S. & Dudai Y. 2003}, tirosina cinasa {Rosenblum K. *et al.* 1997} y PKC {Núñez-Jaramillo L, Delint-Ramirez I. & Bermúdez-Rattoni F. 2007}, mismas que regulan también la función de los receptores ionotrópicos tipo NMDA.

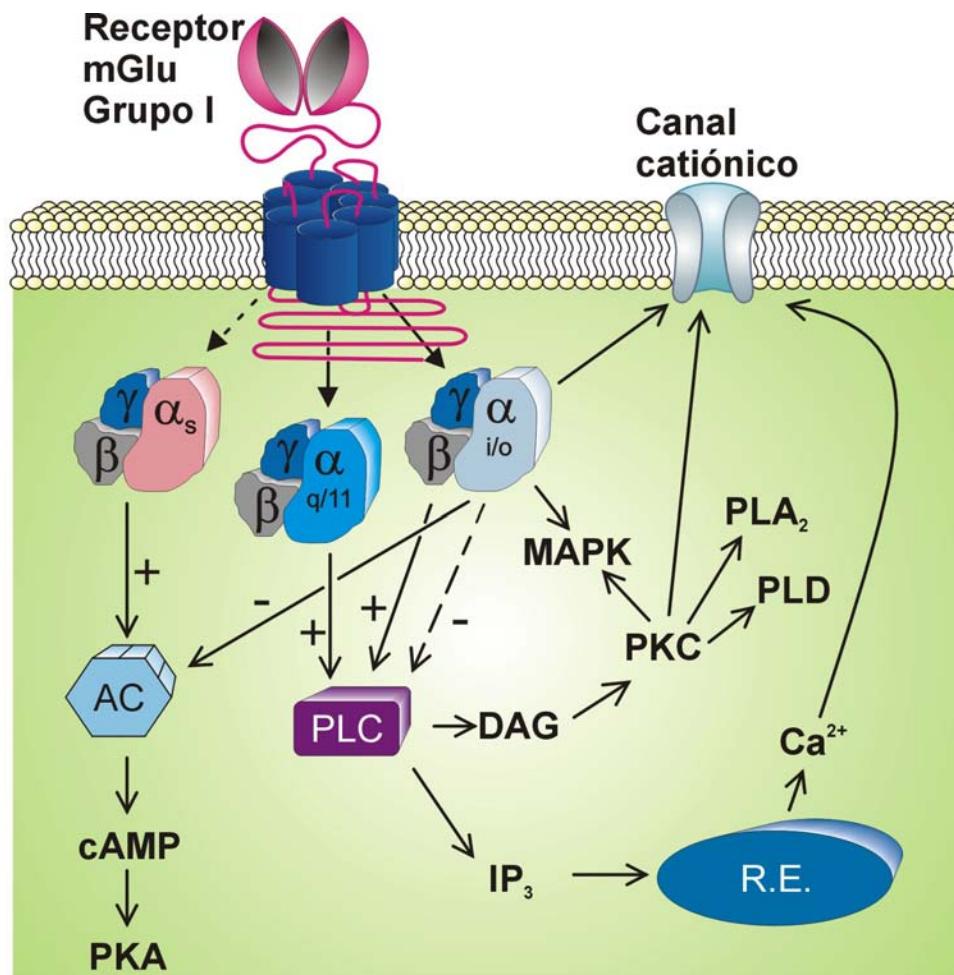


Figura 8. Cascadas de señales de los receptores mGluR I

Los mGluR I activan múltiples vías de señales a través de un acoplamiento diferencial de proteínas G. Los mGluR I se unen preferentemente a las proteínas G_{q/11} llevando a la activación de PLC el cual incrementa la movilización de Ca²⁺ intracelular a partir de la producción de IP₃ y actuación de PKC vía DAG. PKC está involucrado en la activación PLD, PLA₂ y MAPK, así como en la modulación de una variedad de canales iónicos. Los mGluR I se han visto acoplados a proteínas G_{i/o} de manera que inhibe a la AC, y modula la actividad de los canales iónicos a partir de MAPK, y posiblemente la regulación negativa de PLC. También los mGluR I controlan la activación de AC a partir del acoplamiento con la proteína G_s y por ende a AMPc y PKA. PLCβ, fosfolipasa Cβ; DAG, diacil glicerol; PKC, proteína cinasa C; IP₃, inositol trifosfato; R.E., retículo endoplasmático; Ca²⁺, calcio; PLD, fosfolipasa D; PLA₂, fosfolipasa A₂; MAPK, proteína activadora de mitógeno cinasa; AC, adenilato ciclasa; AMPc, adenosina monofosfato cíclico; PKA, proteína cinasa A. Figura tomada de "Hermans E. & Challiss J. 2001".

Localización.

Los receptores mGluR I se localizan en la región periférica del botón sináptico tanto en terminales presinápticas como postsinápticas con mayor predominancia en la postsinapsis {Baude A *et al.* 1993} {Luján R *et al.* 1996}, {Conn P. J. & Pin J.P. 1997}. Como se observa en la figura 8.

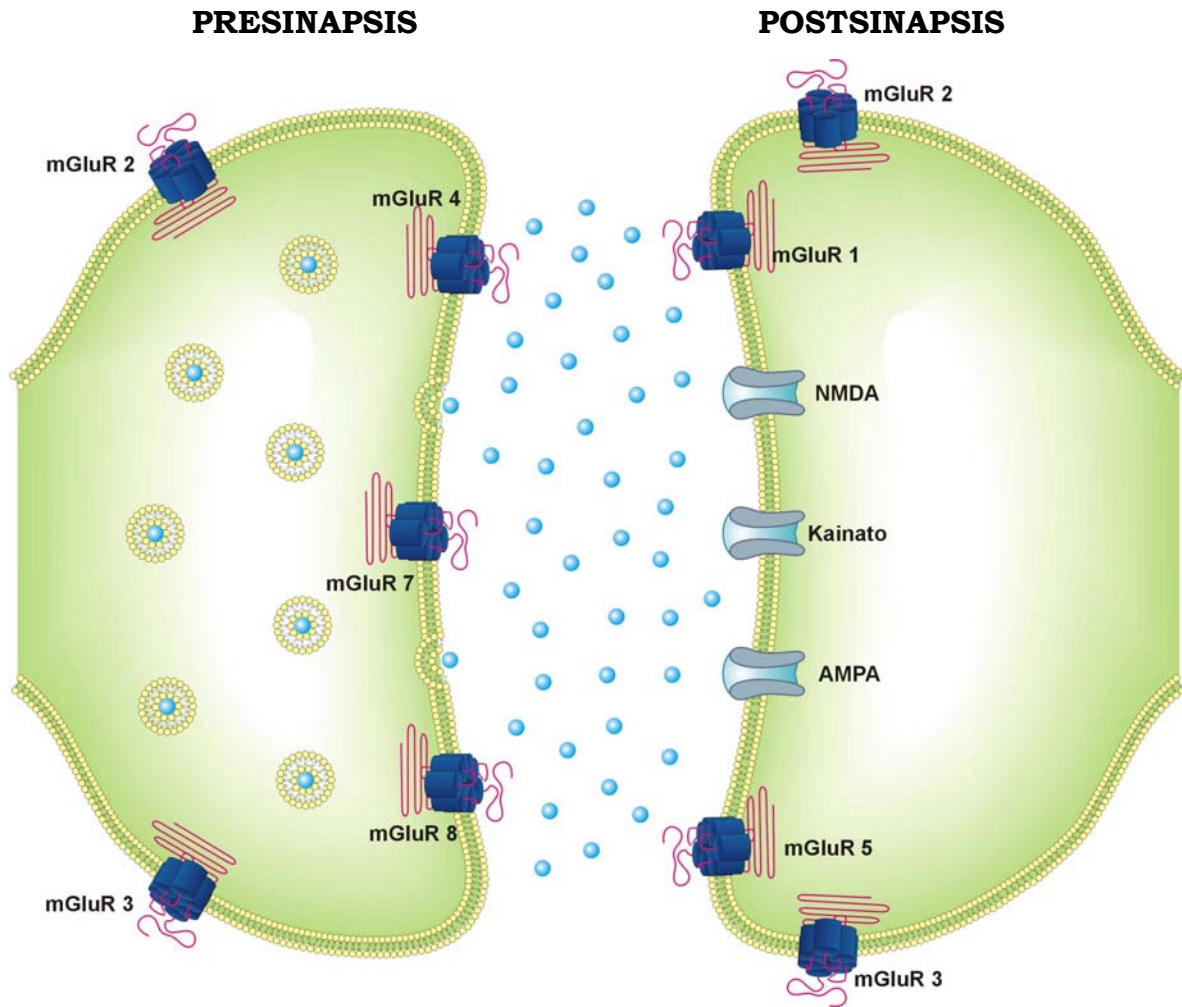


Figura 9. Localización de los receptores mGluR I en la sinapsis. Los receptores metabotrópicos tipo II (2, 3) y III (4, 6, 7, 8), se encuentran en presinapsis, aunque el tipo II se ha encontrado escasamente en postsinapsis. Los receptores mGluR I (1,5), se localizan en postsinapsis y escasamente en presinapsis. Imagen modificada de la referencia "Cartmell J. & Schoepp DD. 2000".

Los encontrados en la presinapsis controlan los efectos inhibitorios de la liberación de los neurotransmisores, por lo que actúan como auto o heterorreceptores que disminuyen la transmisión GABAérgica y glutamatérgica. Mientras que los mGluR I postsinápticos, pueden influir en la liberación del neurotransmisor en presinapsis por medio de mensajes retrógrados {Muly E. C. *et al.* 2003}.

Los mGluR I se encuentran ampliamente distribuidos en la corteza cerebral de ratas, con predominancia de mGluR1 α , seguido por mGluR 1 β y escasa presencia de mGluR 1c. En la corteza prefrontal se hallan tanto mGluR 5 {Homayoun H. & Moghaddam B. 2006} como mGluR 1 α en dendritas y

espinas de las células piramidales, así como en dendritas de las interneuronas {Muly E. C. *et al.* 2003}. Los receptores de mGluR I están presentes en el núcleo septal dorsolateral, en hipocampo y complejo amigdalino, núcleos mamilares, tálamo, núcleos ventrales posteromediales, núcleo geniculado, hipotálamo, cerebelo, núcleo *accumbens*, caudado putamen, *globus pallidus*, en sustancia nigra parte reticulata, núcleo interpeduncular y núcleo de Raphe. Tiene poca presencia en el estriado, incluyendo los tubérculos olfativos del estriado, núcleo talámico reticular y habénula (figura 10) {Lavreysen H. *et al.* 2004}.

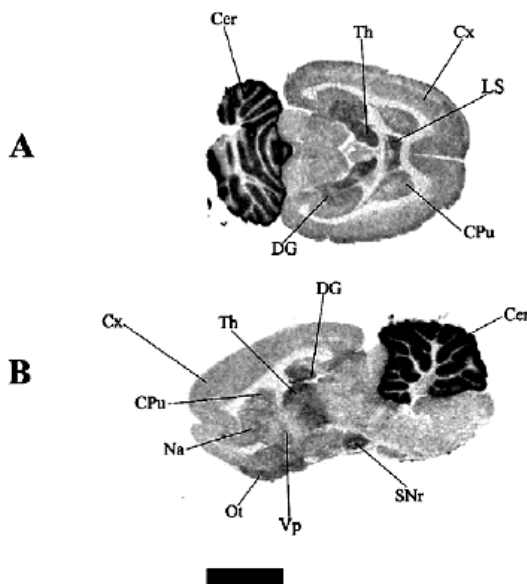


Figura 10. Localización de los receptores mGluR I en el cerebro de rata.

A) Corte coronal y B) corte sagital. Los sitios más oscuros presentan mayor densidad del receptor. Cx, corteza; Cer, cerebelo; Th, tálamo; LS, septum lateral; CPu, caudado putamen; DG, giro dentado del hipocampo; Na, núcleo *accumbens*; Ot, tubérculo olfativo; Vp, pallidum ventral; SNr, sustancia nigra parte *reticulata*.

Imagen tomada de "Lavreysen H. *et al.*, 2004".

Modulación.

Los receptores mGluR I tienen una función de neuromodulador del glutamato tanto en la presinapsis como en la postsinapsis. En la presinapsis, la activación de PLC acoplada al mGluR puede potenciar la liberación de glutamato, pero si PLC es desensibilizado, cambia a un efecto inhibitorio. En la postsinapsis, la activación rápida de los mGluR, activa la vía PLC-IP₃-Ca²⁺ abre canales de K⁺ produciendo hiperpolarización produciendo una inhibición lenta de la célula. Por el contrario, una estimulación lenta del mismo receptor, induce la activación de la proteína G que promueve el cierre de los canales de K⁺ dando como resultado una excitación lenta de la célula (despolarización) {Fiorillo CD. & Williams JT. 1998}. También se ha observado que la activación

de mGluR I incrementa la respuesta de muchas neuronas glutamatérgicas por corrientes de potenciación a través de los receptores ionotrópicos de glutamato {resumido por Valenti O, Conn PJ. & Marino MJ., 2002}.

Todos los receptores metabotrópicos de glutamato, además de acoplarse con las proteínas G, tienen interacción intracelular a partir de su carboxilo terminal con otras proteínas, lo que hace más compleja su función al activar otras cascadas de señales {Fagni L. *et al.*, 2004}.

La regulación de los mGluR I está dada por los receptores cinasa acoplados a proteína G (GRK), particularmente GRK2 y GRK4, cuya fosforilación induce la unión de β -arrestinas quienes secuestran e internan al receptor metabotrópico. También pueden ser controlados por reguladores de proteínas G (RSG), las cuales interactúan con las proteínas G e incrementan la actividad de GTPasa que evitan el desencadenamiento de transmisión de señales precedidas por las proteínas G. Tanto RGS2 como RGS4 actúan en las G_q y evitan la subsiguiente activación de PLC que conlleva a la inhibición de los receptores mGluR I. La proteína RGS2 bloquea a la G_q por inhibición de corrientes de calcio voltaje independiente, regulando la actividad de la subunidad $G\beta\gamma$, mientras que la inhibición voltaje dependiente media a la $G\alpha$ {resumido por Valenti O, Conn PJ. & Marino MJ., 2002}.

Los receptores mGluR I pueden asociarse con proteínas *Homer* que actúan como un puente entre los receptores y otras proteínas que contienen un dominio rico en prolina, tal es el caso de los receptores de rianodina o proteínas de densidad postsináptica llamadas Shank, las cuales a su vez se unen con las proteínas GKAP y PSD95. Estas últimas son proteínas de andamiaje que están unidas con la subunidad NR2B de los receptores tipo NMDA {Tu JC. *et al.*, 1998}. La señal de los receptores tipo NMDA es potenciada por la cinasa Src; recientemente se ha reportado que la interacción de los mGluR con β -arrestina activa a esta cinasa, pero también puede ser estimulada por segundos mensajeros producidos por los mGluR a partir de la vía PLC β , DAG, PKC, CAK β Pyk2 (cinasa de adhesión celular rica en β -prolina tirosina cinasa) como se indica en la figura 11. El sistema tiene un mecanismo de regulación negativa, la formación de IP_3 aumenta la liberación intracelular

de Ca^{2+} que activa a la proteína tirosina fosfatasa reduciendo la respuesta de los receptores NMDA {Gerber U, Gee CE, Benquet P. 2007}.

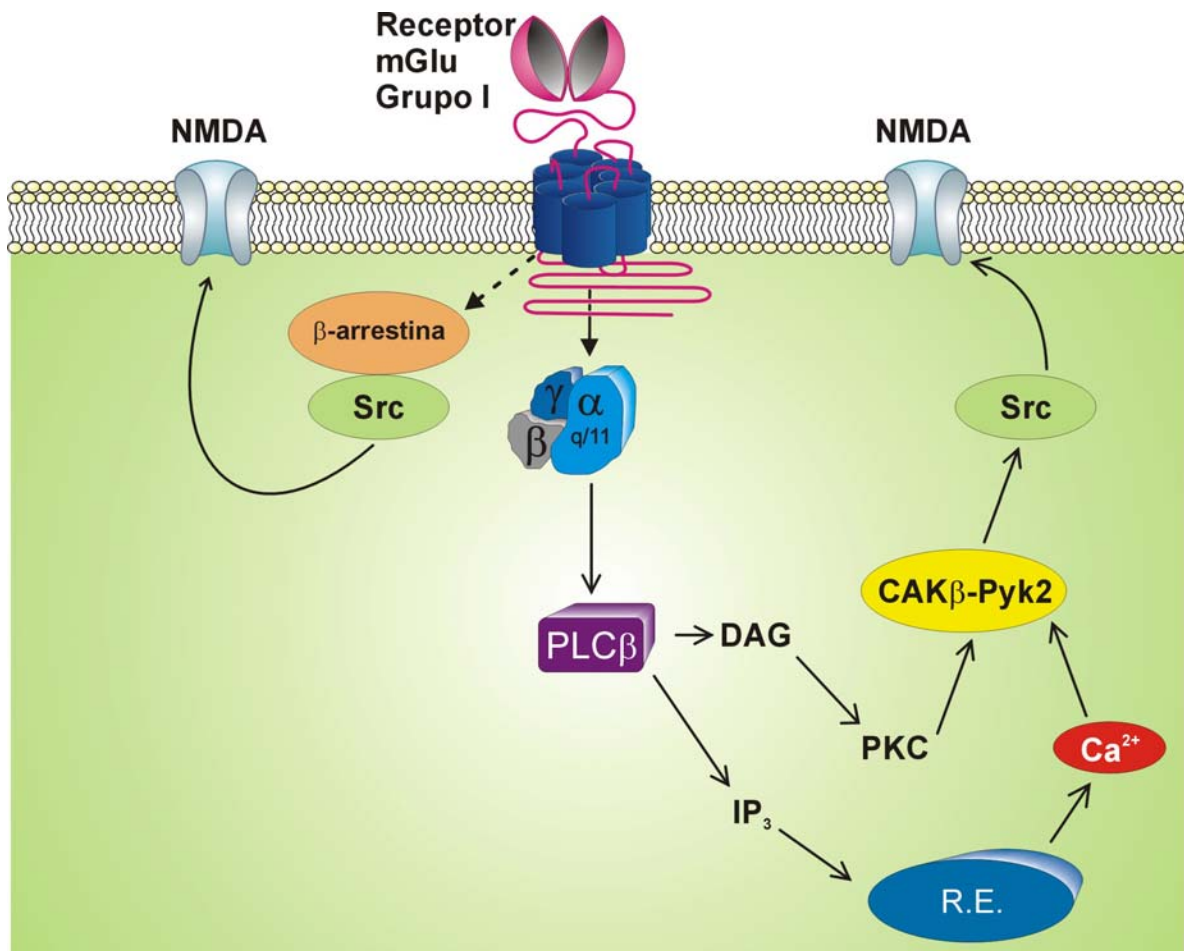


Figura 11. Regulación de la activación de receptores tipo NMDA, a partir de los receptores mGluR I. A través de la activación de proteínas G, se desencadena una reacción de señales de segundos mensajeros que culminan con la fosforilación de CAKβ-Pyk2 que activa a Src y este incrementa la activación de los canales tipo NMDA. No obstante, la formación de IP_3 con la subsecuente liberación de Ca^{2+} intracelular dependiente de la activación de tirosina fosfatasa, atenúa la respuesta de NMDA. Mediante otra vía alterna exenta de activación de proteínas G, puede activarse la proteína adaptadora β-arrestina que se acopla a Src y a su vez potencian a NMDA. PLCβ, Fosfolipasa C β; DAG, diacil glicerol; PKC, proteína cinasa C; IP_3 , inositol trifosfato; R.E., retículo endoplasmático; Ca^{2+} , calcio; CaCAKβ-Pyk2, proteína cinasa de adhesión celular. Esquema tomado y modificado de "Gerber U, Gee CE. & Benquet P. 2007".

Implicación de los mGluR I en patologías y desórdenes neurodegenerativos y dolor.

El estudio de los receptores metabotrópicos ha permitido conocer de mejor manera algunas de las patologías del sistema nervioso central; lo que

permite dilucidar nuevas formas de tratamiento y prevención. Entre las cuales se encuentran:

- Enfermedades vasculares

Hipoxia, isquemia e infarto. Los receptores mGluR tienen un papel importante en estas lesiones en corteza e hipocampo, en el caso del grupo I, cuando se sobre activa con un agonista como *(S)*-3,5-dihidroxifenil-glicina (DHPG), se agrava la lesión. En tanto, si es inhibido por un antagonista como AIDA, disminuye significativamente la neurodegeneración, muerte neuronal y déficit de memoria {Lyeth B. G. *et al.* 2001} actuando como neuroprotectores. Aunque también se ha observado que los mGluR 1a al ser activados contribuyen a la neurotoxicidad del glutamato generando muerte celular postisquémica y muerte celular por necrosis. En contraste la activación e inhibición de los mGluR 5 con CHPG y *2-metil-6-(feniletinil) piradina* (MPEP) atenúa la muerte celular y facilita la mejoría ante la isquemia respectivamente {Bao W.L. *et al.* 2001}.

- Enfermedades desmielinizantes

Esclerosis múltiple, patología en la que se forman placas gliales desmielinizadas diseminadas por toda la sustancia blanca, tiene expresión aberrante tanto en neuronas como en glía {Geurts J. J. G. *et al.* 2003}.

- Enfermedades degenerativas

En epilepsia (displasia cortical focal) se encuentran sobre expresados los receptores mGluR I y II, en neuronas bizarras en forma de balón y en glía {Aronica E. *et al.* 2003}.

En la enfermedad de Parkinson, se han identificado mGluR en estructuras afectadas por el Parkinson, como es el caso del estriado, núcleos subtalámicos como sustancia nigra parte reticulata y *globus pallidus* parte interna. Tales receptores fungen como neuromoduladores de la transmisión *glutamatérgica* tanto en células glutamatérgicas como colinérgicas y dopaminérgicas. Conforme avanza la degeneración causada por la enfermedad, decrece la población de receptores mGluR II y III que provoca un incremento de glutamato en el estriado, manifestandose como una sintomatología parkinsoniana. {Senkowska A. & Ossowska K. 2003}.

La enfermedad de Alzheimer, puede implicar la participación de los mGluR I debido a que estos facilitan la liberación de glutamato y la formación de tramas fibrilares que son características del Alzheimer {Tsai V. W. *et al.* 2005}.

En la esquizofrenia, existe una reducción de la actividad de los receptores de NMDA en neuronas corticales. Estudios recientes muestran que al activar a mGluR 5 se potencia la actividad de NMDA y la inhibición de mGluR 5 bloquea la despolarización de la membrana inducida por NMDA en estriado y en corteza {Moghaddam B. 2004}.

- Adicción a drogas

Los receptores mGluR I además de regular la transmisión *glutamatérgica* en la corteza prefrontal y región límbica (núcleo *accumbens* y VTA), participan tanto en la adicción a las drogas como en cambios conductuales por abuso de las mismas. Resultados experimentales tanto en ratas como en ratones, muestran que los mGluR I están involucrados en la modulación del reforzamiento por consumo de drogas, puesto que al bloquear a los mGluR 5 con un antagonista MPEP, decrece la auto administración de cocaína, nicotina y alcohol {Kenny P. J. & Athina M. 2004}.

- Tumores

En células tumorales de la línea del glioma (glioma C6) se han localizado receptores mGluR 1, todavía no se sabe su participación en dichas células, pero por su vinculación a la sobre estimulación de glutamato, puede que esté involucrado en el glioma también como agente neurotóxico {Albasanz J.L., Ros M. & Martín M. 1997}.

- Dolor.

Mientras la activación exógena de mGluR I en tejido periférico de ratones produce hiperalgia³ térmica, el bloqueo de mGluR 1 decrementa el dolor y es totalmente abolido por la inhibición de mGluR 5, lo que sugiere un efecto diferencial entre estos receptores ante el dolor. Otro caso es la activación específica de mGluR 5 está implicado en alodinia⁴ y dolor neuropático, en

³ Hiperalgia. Sensibilidad excesiva al dolor.

⁴ Alodinia. Trastorno en el cual un estímulo, por lo general no doloroso, se percibe como doloroso.

tanto activación conjunta de los receptores mGluR 1 y 5 produce la hiperalgia térmica. {Neugebauer V. 2002}.

- Traumatismo cerebral.

La inhibición de la actividad de los mGluR I con el antagonista AIDA reduce considerablemente la degeneración neuronal y produce también una reducción de la conducta de déficit asociada con la lesión. Lo que sugiere que la activación de los mGluR I que contribuye a la patofisiología de la lesión traumática cerebral. De modo que el tratamiento con AIDA funciona como neuroprotector ante lesiones traumáticas {Lyeth B.G. *et al.* 2001}.

- Ansiedad, estrés y depresión.

Experimentos realizados en varios laboratorios muestran que los mGluR I están involucrados tanto fisiológica como conductualmente con estados de estrés y ansiedad, por ejemplo, en ratas cuando se microinyecta 3-*hidroxifenilglicina* (S-4C3HPG) en hipocampo, un antagonista de los mGluR 1 o se administra el antagonista de mGluR 5, MPEP ip, se produce un efecto {resumido por Swanson C.J. *et al.* 2005}.

El bloqueo de los receptores mGluR 1 con el antagonista AIDA o con el antagonista para los mGluR 5, MPEP, en el cuerno de Amón 1 (CA1) del hipocampo, tiene un efecto antidepressivo que a diferencia de los antidepressivos convencionales (monoaminérgicos), este no produce un efecto sedante {Palucha A. & Pilc A. 2002}.

Participación de los mGluR I en procesos de plasticidad y memoria.

El LTP y la disminución de la potenciación (depresión) a largo plazo (LTD, por sus siglas en inglés), son dos modelos de plasticidad sináptica y memoria dependientes de la actividad eléctrica. Se conocen dos formas de inducir LTP y LTD, una es por activación sináptica de los receptores tipo NMDA y la otra es al activar los mGluR. Gubellini y colaboradores en 2003, demuestran que el bloqueo de los receptores mGluR I y no del grupo II o III, abate por completo el LTP en la vía cortico-estriatal {Gubellini P. *et al.* 2003}. En CA1, los mGluR 5, mas no los mGluR 1 son necesarios para la inducción de LTP {Francesconi W., Cammalleri M. & Sanna P. P. 2004}, {Miura M., *et al.*

2002} y LTD {Harney S. C., Rowan M. & Anwyl R. 2006}, {Tan Y., Hori N. & Carpenter D. O. 2003}; así como en corteza perirhinal {resumido por Bashir Z. I. 2003}. Mientras que en corteza prelímbica se observa una facilitación de la inducción de LTP al suministrar DHPG {Morris S.H. *et al.* 1999}; en amígdala basolateral se requieren de los mGluR 1 y no de los mGluR 5 para la inducción de LTD {Azad S. C., *et al.* 2004} y en amígdala lateral se requieren los mGluR 5 para la formación del LTP {Rodrigues S. M., *et al.* 2002}.

Varios estudios realizados principalmente con ratas muestran que los mGluR I participan en la formación de la memoria; Riedel y colaboradores en 1994 encuentran que los mGluR I están involucrados en el aprendizaje espacial (laberinto en Y), al bloquearlos con el antagonista *(R,S)- α -metil-4-carboxifenilglicina* (MCPG) se evita la formación y retención de la memoria y se acrecienta con infusión del agonista *trans -azetidina-2,4- ácido dicarboxílico* (tADA) icv. {Riedel G., Wetzel W. & Reymann K. G. 1995}.

Para que se forme a largo plazo la memoria de discriminación de objetos, se requiere de la activación tanto de los mGluR 5 como de los mGluR II en corteza perirhinal {Barker G. R. I. *et al.* 2006}.

Schulz y colaboradores en 2001, observaron que la anulación de la actividad de los receptores mGluR 5 a partir de la administración oral de un antagonista específico para este, *2-metil-6-(feniletinil)piridina* (MPEP), produce pérdida de la adquisición y evocación del condicionamiento al miedo cuando se suministra antes del primer ensayo y antes de la prueba respectivamente {Schulz B. *et al.* 2001}. Resultados similares son obtenidos por el grupo de Rodríguez, los cuales sugieren que los mGluR 5 en amígdala lateral están involucrados en la adquisición del condicionamiento al miedo {Rodrigues S. M., *et al.* 2002}, en tanto, investigaciones desarrolladas por Gravius y colaboradores sugieren que hay diferencias en la participación de los receptores mGluR1 y mGluR5 durante la adquisición y expresión de condicionamiento al miedo y auditivo. Tanto el antagonista de los mGluR1, EMQMCM, [(3-etil-2-metil-quinolina-6yl)-(4-metoxi-ciclohexil)-metanona metanesulfonato] como el antagonista de los mGluR5 MTEP [(2-metil-1,3-tiazol-4y) etinil] bloquean la adquisición del condicionamiento contextual, sin afectar el

condicionamiento auditivo. Por otro lado el MTEP inhibe la expresión de condicionamiento al miedo y auditivo cuando se inyectan ip {Gravius A, *et al.* 2005}. Todo ello sugiere que el grupo I de los receptores metabotrópicos de glutamato están involucrados en procesos mnemónicos espaciales, de reconocimiento y aversivos.

Estudios previos en memoria gustativa.

Investigaciones recientes muestran que es necesario de la activación de los receptores mGluR 5 en la formación del CAS y no los mGluR 1. Esto al aplicar los antagonistas de mGluR5, MPEP, y de mGluR AIDA ip quince minutos antes de la presentación del sabor novedoso y aplicando un irritante gástrico, cloruro de litio (LiCl 0.15M a 1.33% del peso corporal) quince minutos después de haber terminado de ingerir la sacarina. {Schachtman T.R. *et al.* 2003} de igual modo disminuye la inhibición latente por inyección de MPEP 25 minutos antes de la preexposición a la sacarina, lo cual produce una fuerte aversión {Bills C. *et al.* 2005}. También se ha observado que los mGluR en amígdala están involucrados en la formación del CAS, al inyectar un antagonista metabotrópico para los grupo I y II MCPG inmediatamente después de la sacarina y 20 minutos antes del cloruro de litio, se impide la adquisición del condicionamiento {Yasoshima Y., Morimoto T. & Yamamoto T. 2000}, pero ello no ocurre cuando se inyecta en CI {Escobar M.L., Alcocer I. & Bermúdez-Rattoni F. 2002}.

1.3.2.2. Receptores metabotrópicos de glutamato tipo II y III.

El grupo II, comprende a los receptores mGluR 2 y mGluR 3. En tanto el grupo III al mGluR 4, mGluR 6, mGluR 7 y mGluR 8. Ambos grupos se encuentran distribuidos en estructuras como corteza cerebral, tálamo, *locus coeruleus*, núcleo del tracto solitario, cerebelo y corteza visual.

Ambos grupos reducen los niveles de AMPc en la célula y Ca^{2+} intracelular; o bien, por activación de proteínas $G_{o/i}$. Los mGluR II se encuentran primordialmente en presinapsis y los mGluR III en la región pre-terminal del axón y se localizan primordialmente en estructuras como corteza

cerebral, tálamo, *locus coeruleus*, núcleo del tracto solitario, cerebelo y corteza visual.

A continuación se describe la localización que tienen en el SNC según el artículo de Schoepp D. D. 2001.

1. Receptores mGluR 2 están representados en la región pre-terminal de las neuronas glutamatérgicas, cuya función es actuar como regulador retroactivo para evitar subsecuentes liberaciones de glutamato, de manera que previene la hiperexcitabilidad anormal que pudiera afectar las funciones del cerebro.
2. Los mGluR 3 se encuentran en hipocampo y corteza entorhinal, mayoritariamente en neuronas postsinápticas y en glía.
3. Los receptores mGluR 4 predominan en cerebelo y en menor proporción en hipocampo donde se han encontrado en el cuerpo y dendritas de neuronas piramidales, células granulares e interneuronas. Cabe hacer mención que los receptores mGluR 4, actualmente, son considerados como candidatos para la percepción del sabor del glutamato monosódico (*umami*), puesto que se han encontrado en papilas gustativas.
4. Los mGluR 6 tienen una distribución escasa en el SNC, aunque su concentración es elevada en retina
5. Receptores mGluR 7, su distribución es amplia en cerebelo anterior, tallo y médula espinal.
6. Los mGluR 8 se distribuyen en el bulbo olfativo, tracto lateral olfativo, hipocampo y médula espinal. Se localizan en la presinápsis y en periferia de la terminal axónica.

Los receptores mGluR II y III tienen una función neuromoduladora de la excitabilidad de la neurona, al disminuir los niveles de Ca^{2+} intracelular se evita la despolarización y por ende la liberación de glutamato o GABA, aunque también puede modular otros neurotransmisores como dopamina {van Berckel *et al* 2006}. De igual forma tienen un efecto neuroprotector al evitar la excitación glutamatérgica a nivel cerebral en estados patológicos, así como al atenuar la excitotoxicidad provocada por la activación desmedida de los

receptores ionotrópicos. Por otro lado también se encuentran involucrados en procesos de memoria y aprendizaje {Best A. R. *et al.* 2005}, {Barker G. R. I. *et al.* 2006}.

receptores ionotrópicos. Por otro lado también se encuentran involucrados en procesos de memoria y aprendizaje {Best A. R. *et al.* 2005}, {Barker G. R. I. *et al.* 2006}.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

El neurotransmisor, glutamato, es de crucial importancia para la formación y consolidación de la memoria, este es reconocido por los receptores ionotrópicos y metabotrópicos de glutamato. Mucho se sabe sobre la participación de los receptores ionotrópicos (NMDA, AMPA y Kainato) en procesos de memoria y aprendizaje, sin embargo poco han sido estudiados los receptores metabotrópicos, a pesar de estar ampliamente distribuidos en el cerebro y de tener una función tanto transmisora de señales neuronales, neuromoduladora de receptores glutamatérgicos, colinérgicos y GABAérgicos; así como de activar factores de transcripción y genes de expresión temprana indispensables para la formación de la memoria.

En la memoria gustativa, los receptores ionotrópicos de glutamato en corteza gustativa o insular, además de tener un papel importante en la consolidación de la memoria, también son importantes durante la asociación entre un sabor nuevo con un estímulo aversivo {Bures, J., Bermúdez-Rattoni F. & Yamamoto T., 1998}, pero si son inhibidos los receptores ionotrópicos tipo NMDA, con AP V, no evitan la formación de esta memoria gustativa apetecible {Gutiérrez R. *et al.*, 2003a}.

No se conoce a cabalidad a la función de los receptores mGluR durante la formación o consolidación de la memoria gustativa. Estudios previos muestran que los mGluR I en amígdala (una estructura cerebral muy importante para la formación de memorias aversivas), participan en la formación del CAS, mas no en CI. Sin embargo cuando se suministran antagonistas de mGluR I de forma sistémica, se observa que los mGluR 5 tienen un papel importante en el CAS, pero no los mGluR 1. Por otro lado, no hay registro sobre la actuación de los mGluR en la memoria gustativa apetecible.

Para conocer más acerca de los mecanismos involucrados en los procesos mnemónicos, se optó por estudiar a los mGluR I en CI durante la formación de una memoria gustativa apetecible (atenuación de la neofobia).

Para conocer más acerca de los mecanismos involucrados en los procesos mnemónicos, se optó por estudiar a los mGluR I en CI durante la formación de una memoria gustativa apetecible (atenuación de la neofobia).

3.HIPÓTESIS.

Los receptores metabotrópicos de glutamato (mGluR) se encuentran ampliamente distribuidos en regiones cerebrales cruciales para el proceso de la memoria y aprendizaje, como es el caso de CI (corteza gustativa), además desempeñan un papel muy importante en la regulación de la liberación de neurotransmisores glutamatergicos, colinérgicos y GABAérgicos, así como en la modulación de sus respectivos receptores y son importantes para el desarrollo y mantenimiento de redes neuronales; por ende podrían ser importantes para la adquisición de un aprendizaje y retención de la memoria gustativa apetecible.

4.OBJETIVO GENERAL:

Identificar la participación de los receptores mGluR I en la corteza gustativa durante la formación de la memoria gustativa apetecible.

4.1. Objetivos Específicos:

1.- Identificar la participación de estos receptores en la memoria gustativa tanto apetecible como aversiva, usando como modelos el CAS y AN.

2.-Identificar en que fase de la memoria gustativa (adquisición o consolidación) están involucrados los receptores metabotrópicos del glutamato, a partir de una tarea de condicionamiento aversivo a los sabores y de atenuación de la neofobia.

5. MÉTODO

5.1. Modelo Biológico.

Se ocuparon ratas macho de la especie *Rattus norvegicus* cepa Wistar. El peso ponderal se situó entre 280 y 325g al inicio de la crianza. Se mantuvieron en cajas independientes con comida *ad libitum* y bajo condiciones controladas de temperatura ($\sim 22 \pm 2^\circ\text{C}$) y con ciclos luz-oscuridad de 12 horas. Todas las manipulaciones se hicieron durante la fase de luz.

Todos los experimentos fueron conforme a los lineamientos en materia de salud (Secretaría de Salud de México) y aprobado por el comité local de cuidados de los animales.

5.2. Cirugía.

Para la implantación de cánulas, los animales fueron anestesiados con pentobarbital (40mg/Kg.) ip. Se implantaron cánulas (9mm) bilaterales por medio de la técnica de estereotaxia (2.5mm) sobre la CI, siguiendo las siguientes coordenadas respecto a Bregma, anteroposterior 1.2mm, lateral $\pm 5.5\text{mm}$, y ventral -3mm {Paxinos & Watson, 1998}.

Se realizó una incisión sobre el plano sagital del cráneo y se colocaron separadores autoestáticos. Una vez identificado el punto de inserción de la cánula, se trepanó el cráneo de la rata para iniciar el microdescenso de la cánula hasta 2.5mm antes del área de estudio para evitar la lesión de la CI. Mediante un soporte de dos tornillos y cemento dental se fijaron las cánulas al cráneo. Se insertó un mandril en la cánula para evitar la obstrucción de la misma. Una vez terminada la operación quirúrgica, se dejó a las ratas recuperarse por cuatro días.

5.3. Procedimiento de microinyección.

Para la administración intracortical de fármacos se utilizaron jeringas de tipo Hamilton de 10µl acopladas a una bomba de microinyección (Carnegie Medicin Estocolmo, Suecia). El circuito de polietileno se ajusto a la cánula colocada previamente en el cerebro de la rata mediante una aguja de acero inoxidable (inyector) con un calibre de 30 y 2.5mm más larga que la guía cánula. Los diferentes fármacos se administraron en un volumen de 0.5µl por hemisferio con una tasa de 0.5µl/minuto. Se mantuvo el inyector en su posición durante otro minuto para favorecer la correcta difusión del fármaco administrado.

5.3.1. Fármacos.

Como vehículo se utilizó una solución artificial de líquido cefalorraquídeo (ACSF, por sus siglas en ingles), compuesto de 118 mM NaCl, 19 mM NaHCO₃, 4.7 mM KCl, 1.2 mM KH₂PO₄, 1.2 mM MgSO₄, y 2.5 mM CaCl₂ a pH 7.4 (T.J. Baker, Xalostoc, México); 3.3 mM glucosa, (Sigma, St. Louis MO) como vehículo. Para inducir activación de los receptores de glutamato se administraron 0.5µl de una solución 11.82 mM de ácido L-glutámico (Miranda *et al.*, 2002; Sigma-Aldrich, St. Louis MO). Se utilizo *(RS)-1-aminoindano-1,5-ácido dicarboxílico* (AIDA, Tocris), para inducir la inhibición selectiva de los receptores mGluR I a concentraciones de 3.5 mM, 7.04 mM y 10.5 mM. Todos los agentes farmacológicos fueron disueltos en el vehículo a pH neutro (7.4). Para disolver AIDA se utilizo una solución 1.1N de NaOH.

5.3.2. Modelos conductuales.

5.3.2.1. Neofobia y atenuación de la neofobia.

Después de cuatro días de recuperación de la cirugía, las ratas fueron privadas de agua durante 24 horas. En los siguientes cuatro días se les ofreció durante 15 minutos, 40ml de agua en probetas graduadas, en un horario de

11:00 am \pm 1 hora, para obtener la tasa de consumo promedio de líquido diario (línea base) de cada rata. Los animales fueron manipulados para habituarlos al contacto con el investigador y evitar estresarlos el día de la microinyección, así como también para valorar su estado de salud y excluir a los enfermos.

En el cuarto día, los animales son divididos en varios grupos de acuerdo a su línea base en: grupos experimentales, controles vehículo y controles intactos, quienes no se les implementaron cánulas.

Durante el quinto día se les proporcionó 40ml de una solución de sacarina al 0.5% (Sigma, St. Louis, MO) durante 15 minutos, además de la microinyección de fármacos respectivos al experimento y al grupo de organismos experimentales o controles vehículos. En la tarde se les dio agua durante 15 minutos para hidratarlas, puesto que su primer consumo es menor en comparación de los días anteriores.

En los días 6-8 se les permitió beber nuevamente una solución de sacarina al 0.5% (solución cuya concentración elevada de sacarina le otorga un sabor fuerte, neofóbico *per se*) durante 15 minutos, seguido de agua para estudiar los efectos de las drogas en la atenuación a la neofobia. En la figura 12 se muestran los tiempos del experimento junto con los de las microinyecciones de los fármacos.

La neofobia y la atenuación de la neofobia son expresados en porcentaje de consumo con respecto a la línea base ($100 \times \text{Consumo de sacarina} / \text{promedio de la línea base de consumo de agua}$).

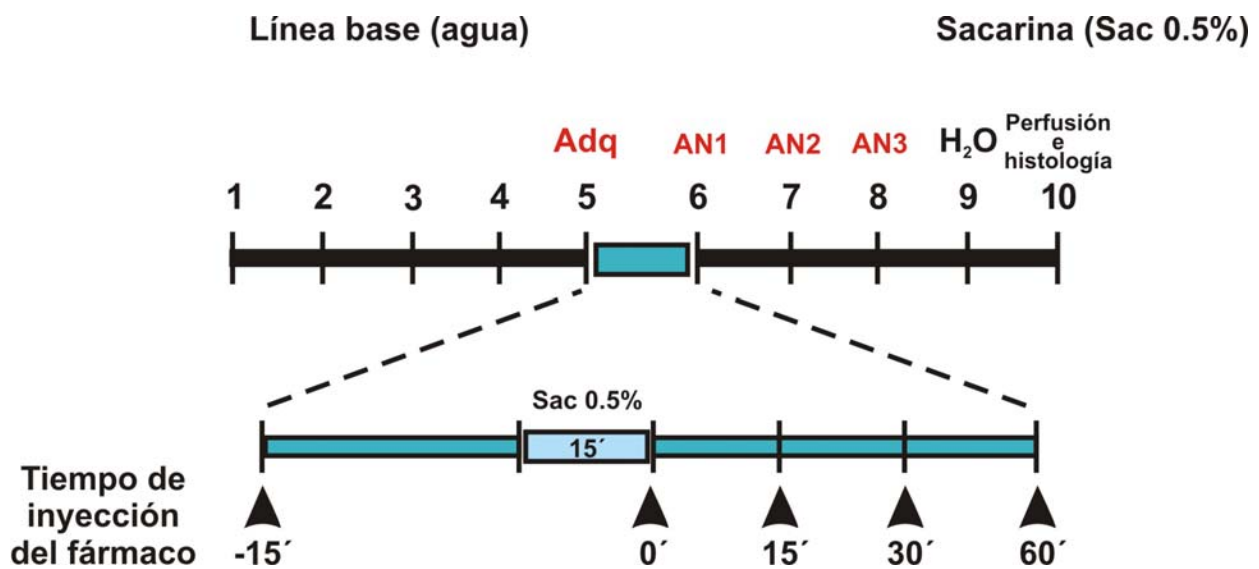


Figura 1. Metodología de atenuación de la neofobia e intervalos de inyección de los fármacos: 15 minutos antes del estímulo gustativo (-15'), inmediatamente después (0'), 15, 30 y 60 minutos después (15', 30' y 60' respectivamente).

5.3.2.2. Condicionamiento Aversivo a los Sabores CAS.

Los animales tratados con este protocolo, al igual que los anteriores, se dejan tranquilos cuatro días para reestablecerse de la cirugía y son privados de agua durante las siguientes 24 horas.

Se toma el registro del consumo promedio de agua en los subsecuentes cuatro días (15 minutos diarios) y en el quinto se le administra sacarina al 0.1% (40ml) en lugar de agua y una vez pasando 15 minutos de haberle quitado el bebedero, se les inyecta cloruro de litio ip 0.2M, 7.5ml/Kg. Ver figura 13.

Cabe destacar que las drogas (ácido glutámico, AIDA o ACSF) fueron microinyectadas intracorticalmente e inmediatamente después de haber consumido la sacarina (tiempo 0 minutos).

En las siguientes 72 horas se les presenta agua durante 15 minutos al día. Después, durante la prueba fueron estimuladas con la solución de sacarina al 0.1% y se cuantificó el consumo de esta con respecto a la línea base de agua para corroborar la aversión gustativa. Las ratas son hidratadas 15 minutos más tarde con 10ml de agua, durante 15 minutos. En los

próximos dos días se les ofrece nuevamente sacarina al 0.1% durante 15 minutos seguida de la hidratación.

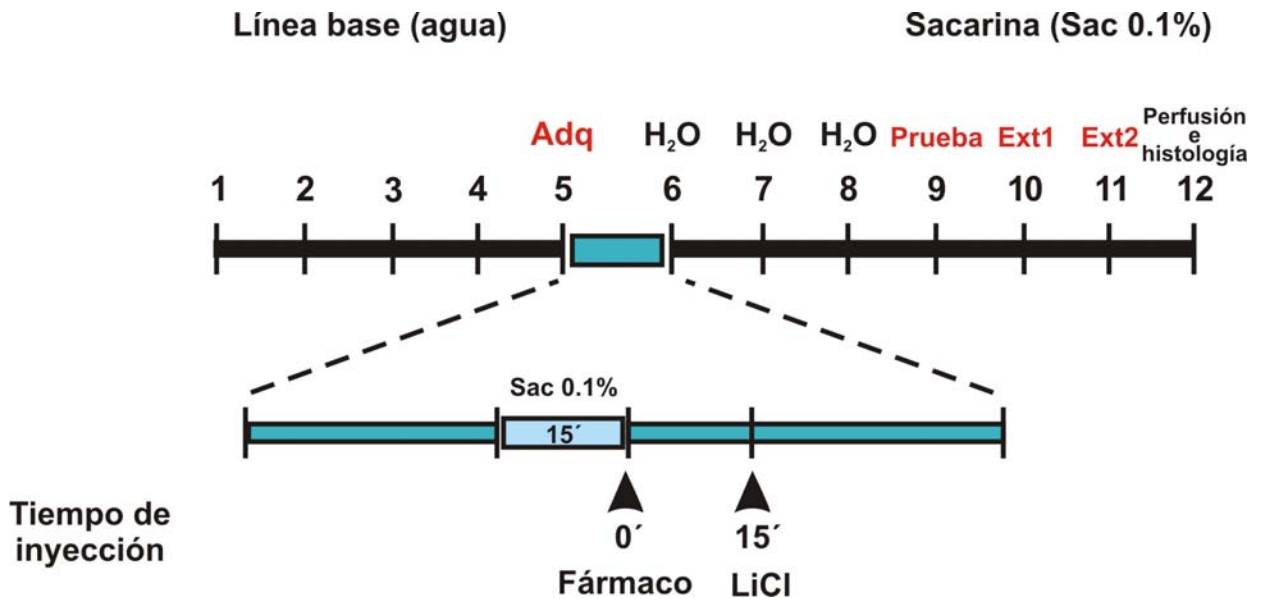


Figura 2. Metodología del Condicionamiento Aversivo a los Sabores (CAS) y tiempo de la microinyección de los fármacos.

En los días de adquisición (Adq), prueba y extinción uno y dos (Ext1 y Ext2 respectivamente) se les proporciona a las ratas sacarina al 0.1% en lugar de agua. El fármaco es microinyectado inmediatamente después de haber consumido por vez primera el sabor novedoso y 15 minutos después se aplica ip el irritante gástrico.

5.3.3. Histología

Para validar los datos conductuales, se hace un estudio histológico corroborando así que el área lesionada sea la estudiada, en este caso la CI. Los cerebros mal canulados son descartados del experimento.

Terminado el experimento las ratas son sacrificadas con una sobre dosis de pentobarbital y son profundidas por vía intracardiaca con una solución salina isotónica (0.9%), para evitar que el tejido se deteriore por cambios osmóticos y una vez terminada la eliminación de sangre, se cambia la solución por un fijador (paraformaldehído al 0.4%).

Los cerebros son removidos y preservados durante 3 días con tal fijador y posteriormente son cambiados a una solución de sacarosa al 30% por cinco

días aproximadamente. Los cerebros son cortados en criostato a $40\mu\text{m}$ y son teñidos con violeta de cresilo. Ver figura 14.

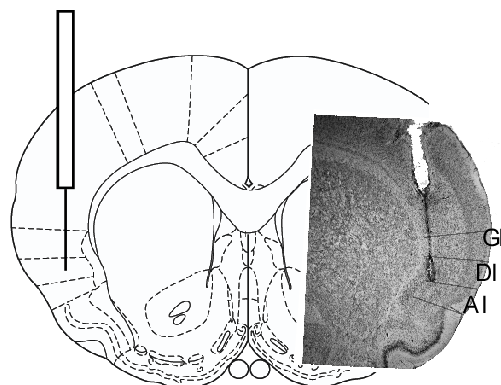


Figura 3. Sitio de microinyección de fármacos en CI.

La imagen muestra la trayectoria de la guía cánula y del inyector dispuesto entre la región disgranular (DI) y agranular (AI). GI= región granular. El esquema del cerebro fue tomado del atlas estereotáxico del cerebro de ratona de "Paxinos G. & Watson C, 1998".

5.3.4. Diseño Experimental

5.3.4.1. Experimento 1 "Implicaciones del glutamato en CI durante la Atenuación de la Neofobia"

Para identificar si hay activación de los receptores glutamatérgicos en CI en diferentes etapas del aprendizaje y memoria de un sabor apetecible, se administró glutamato a la CI de forma bilateral. Se dividió a los animales para estudiar el efecto temporal de la administración del glutamato y la asociación con estímulos gustativos (glutamato 15 minutos antes del estímulo con sacarina [Glut-15', n=8], inmediatamente posterior al consumo de sacarina [Glut 0', n=12], 15 minutos después de la sacarina [Glut 15', n=14], 30 minutos [Glut 30', n=10] y 1 hora después [Glut 60', n=13]). Para fines de comparación, el consumo de agua con sacarina fue contrastado con el consumo del grupo que recibió ACSF (ACSF -15', n=11; ACSF 0', n=14; ACSF 15', n= 14; ACSF 30', n= 12; ACSF 60', n= 14) y el grupo control intacto (Intacto, n= 30).

Se utilizó una prueba de ANOVA de una vía para establecer la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre los grupos experimentales con sus respectivos grupos controles y en los casos donde se encontró

diferencias estadísticas se hizo un análisis *post hoc* de Fischer con una significancia de ($P=0.05$).

Resultados.

Los grupos experimentales inyectados con glutamato antes del consumo de sacarina no presentan cambios en la ingesta del nuevo sabor con respecto al grupo control, por tanto no tiene repercusión en la percepción del sabor ($F_{2,24} = 1.269$, $P= 0.2924$).

Durante la atenuación de la neofobia (día de la prueba o segunda estimulación con la solución de sacarina), los grupos intacto, control, glutamato antes y glutamato 15 minutos después del consumo de dicha solución, no tuvieron diferencias significativas: Por el contrario los grupos tratados con glutamato inmediatamente y a la media hora después de la presentación de la sacarina, muestran un consumo bajo de esta en el día de la prueba (atenuación de la neofobia), en comparación con el grupo control. En la tabla 2 se muestran los grupos de animales tratados en este experimento.

Tabla 1. Efectos en la formación de la memoria gustativa al sobre activar los receptores glutamatérgicos en CI a diferentes tiempos, durante la atenuación de la neofobia.

Grupo	No. individuos	Nombre	Droga	Tiempo (min) de inyección	Efectos en la memoria
Experimental	8	Glut-15´	Glutamato	15´ antes	Ninguno
Experimental	12	Glut 0´	Glutamato	0´	Bloquea
Experimental	14	Glut 15´	Glutamato	15´ después	Ninguno
Experimental	10	Glut 30´	Glutamato	30´ después	Bloquea
Experimental	13	Glut 60´	Glutamato	60´ después	Ninguno
Control	11	ACSF 15´	Vehículo	15´ antes	Ninguno
Control	14	ACSF 0´	Vehículo	0´	Ninguno
Control	14	ACSF 15´	Vehículo	15´ después	Ninguno
Control	12	ACSF 30´	Vehículo	30´ después	Ninguno
Control	14	Glut 60´	Vehículo	60´ después	Ninguno
Control Intacto	30	Intacto	Ninguna		Ninguno

Únicamente Glu 0´, tuvo significancia ($F_{2,34} = 8.207$, $P= 0.0012$) así como el Glu 30´ ($F_{2,22} = 10.001$ y $P= 0.0008$). En la figura 15 se muestra el comportamiento de los animales durante la neofobia y durante la atenuación de la misma.

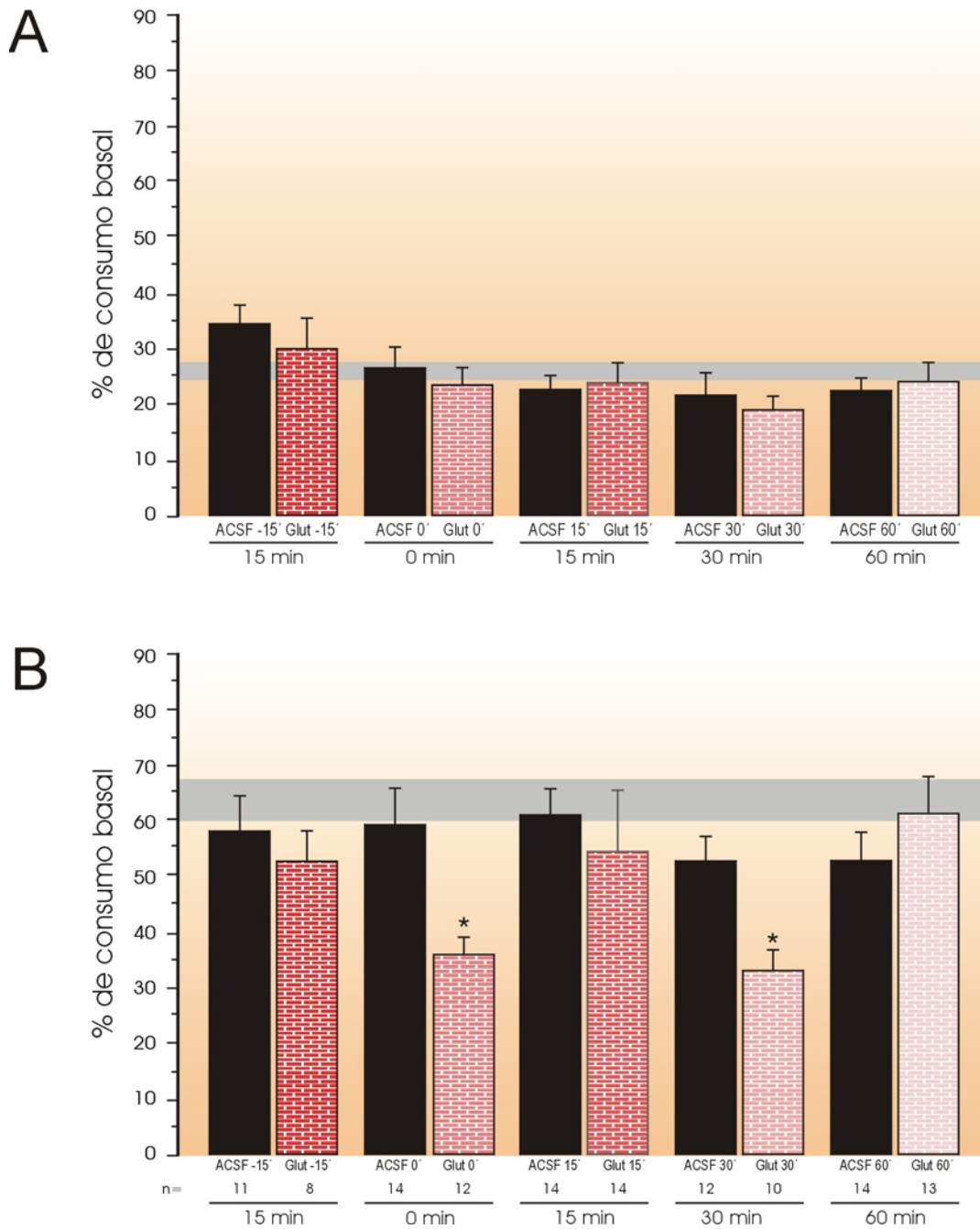


Figura 4. Efecto de la infusión de ácido glutámico (Glu) a diferentes tiempos en CI en la AN. Muestra cambios en la memoria gustativa apetecible por inyección bilateral de glutamato en CI en diferentes tiempos durante la formación de la memoria gustativa apetecible. A) Muestra el porcentaje de consumo de sacarina 0.5% en el primer día (neofobia). B) Porcentaje de ingesta de sacarina en el día de la prueba (atenuación de la neofobia). La línea sombreada representa el porcentaje promedio (con su error estándar) del consumo basal del grupo control intacto.

Los resultados obtenidos en el experimento 1 muestran que los receptores glutamatérgicos están involucrados de alguna forma en la formación de la memoria gustativa apetecible. Tomando en consideración los trabajos previos en este laboratorio, los cuales indican que los receptores

ionotrópicos de glutamato como el NMDA, no participa durante la atenuación de la neofobia {Gutiérrez Ranier *et al.* 2003a}, {Gutiérrez R., Téllez L. A. & Bermúdez-Rattoni F. 2003b}, {Ferreira G. *et al.* 2002} y por ende podría pensarse que los AMPA/Kainato tampoco, debido a que estos regulan la actividad de los NMDA. Por tanto, lo más probable es que los receptores mGluR estén participando. Por lo que se consideró investigar si los receptores mGluR I tienen alguna ingerencia en este tipo de memoria.

5.3.4.2. Curva dosis respuesta de AIDA.

Para ver como está involucrado este receptor, se hicieron experimentos farmacológicos con el antagonista específico de los receptores mGluR I, denominado AIDA.

Sin embargo, como hay pocos estudios farmacológicos *in vivo* con estas drogas, se evaluaron cuales eran las dosis más utilizadas en la literatura y a partir de ellas se hizo una curva dosis – respuesta tomando en consideración las concentraciones ocupadas en algunos trabajos tanto *in vitro* como *in vivo*, para seleccionar la más adecuada a ser inyectada inmediatamente después del estímulo gustativo.

Las concentraciones estudiadas fueron: AIDA 3.5mM, 7.04mM y 10.5mM.

Resultado.

El resultado mostrado en la siguiente gráfica muestra que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los grupos durante la primera presentación del estímulo gustativo $F_{3,24} = 0.618$, mientras tanto, en la atenuación de la neofobia sí son significativas las diferencias en el consumo de sacarina ($F_{3,24} = 2.921$; $p < 0.05$). Para AIDA, la dosis idónea fue a una concentración de 3.5mM (consultar figura 16), cabe destacar que las dosis ocupadas para este fármaco, no producen efectos colaterales como movimientos involuntarios o efecto anestésico aparente, ni tampoco amnesia crónica en las ratas.

A partir del conocimiento de esta concentración del fármaco, se procedió a plantear el siguiente experimento.

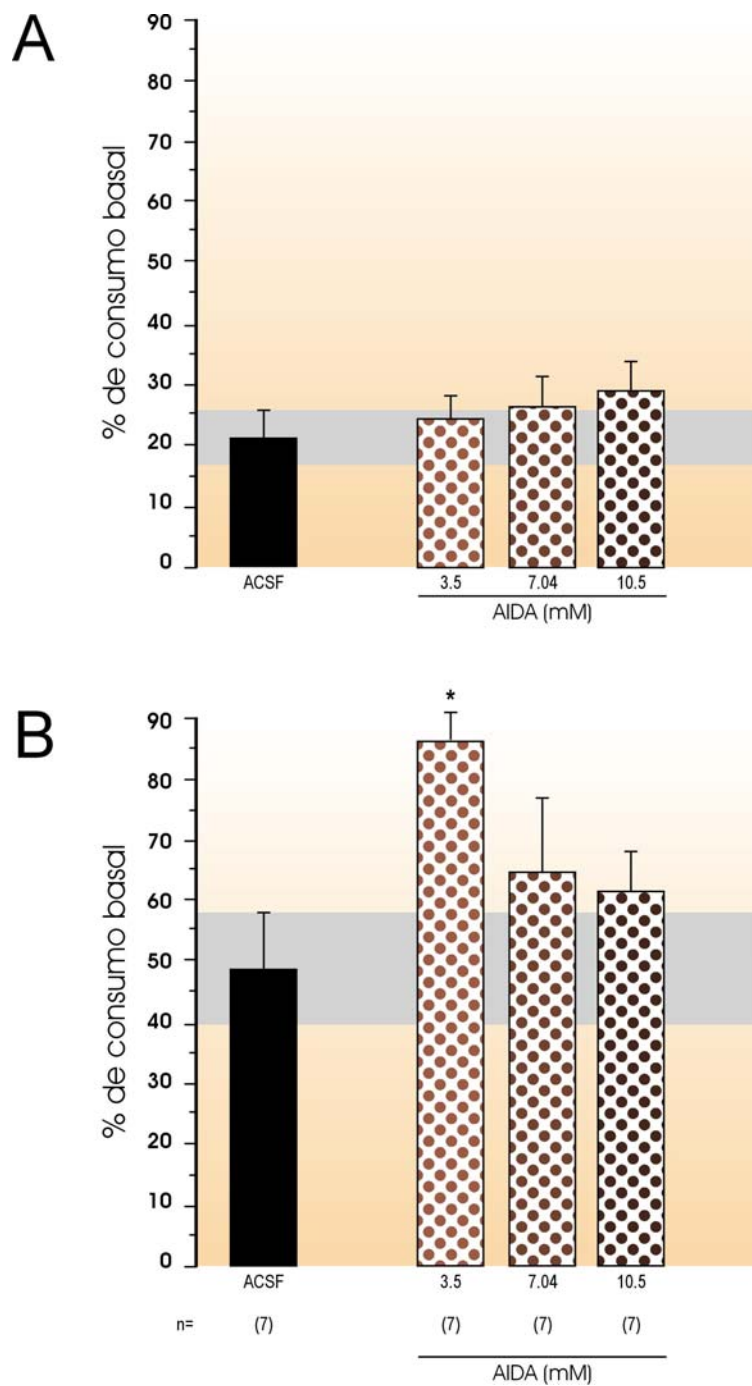


Figura 5. Curva dosis respuesta de AIDA inyectada bilateralmente en CI durante la AN, al tiempo 0min. A) Primera presentación del sabor (neofobia). B) Segunda presentación (atenuación de la neofobia). Las inyecciones fueron echas inmediatamente después de probar el sabor.

5.4. Experimento 2 “Importancia de la inhibición de los mGluR I en corteza insular durante la atenuación de la neofobia”.

Se inhibieron los receptores metabotrópicos tipo I en CI mediante la microinyección bilateral del antagonista AIDA en los tiempos de participación del glutamato durante la atenuación de la neofobia y fueron comparados contra Glut 0´ y Glut 30´, así como con los grupos control correspondientes (consultar tabla 3).

Tabla 2. Efectos en la formación de la memoria gustativa al sobre activar los receptores glutamatérgicos en CI a diferentes tiempos, durante la atenuación de la neofobia.

Grupo	No. individuos	Nombre	Droga	Tiempo (min) de inyección	Efectos en la memoria
Experimental	12	Glut 0´	Glutamato	0´	Bloquea
Experimental	12	AIDA 0´	AIDA	0´	Favorece
Control	14	ACSF 0´	Vehículo	0´	Ninguno
Experimental	10	Glut 30´	Glutamato	30´ después	Bloquea
Experimental	8	AIDA 30´	AIDA	30´ después	Favorece
Control	12	ACSF 30´	Vehículo	30´ después	Ninguno

Resultados.

Se encontró que no hay diferencias significativas entre los grupos durante la neofobia, empero, se muestran diferencias entre los grupos infundido con AIDA a los tiempos 0´ y 30´ ($F_{5,62}=9.732$, $P<0.0001$) con respecto al grupo control y al grupo de experimental de glutamato en los mismos tiempos de inyección. Mientras que los resultados de glutamato muestran una disminución de la memoria reflejada por una reducción de la atenuación de la neofobia, la inhibición de los mGluR I con AIDA produce un incremento en la atenuación de la neofobia y por ende, un incremento de la memoria gustativa apetecible, como se observa en la figura 17. Lo anterior sugiere que los mGluR I requieren estar inhibidos para que se facilite la memoria en este tipo de aprendizaje. Pero para conocer qué tan específico es este fenómeno, se sugiere el próximo experimento.

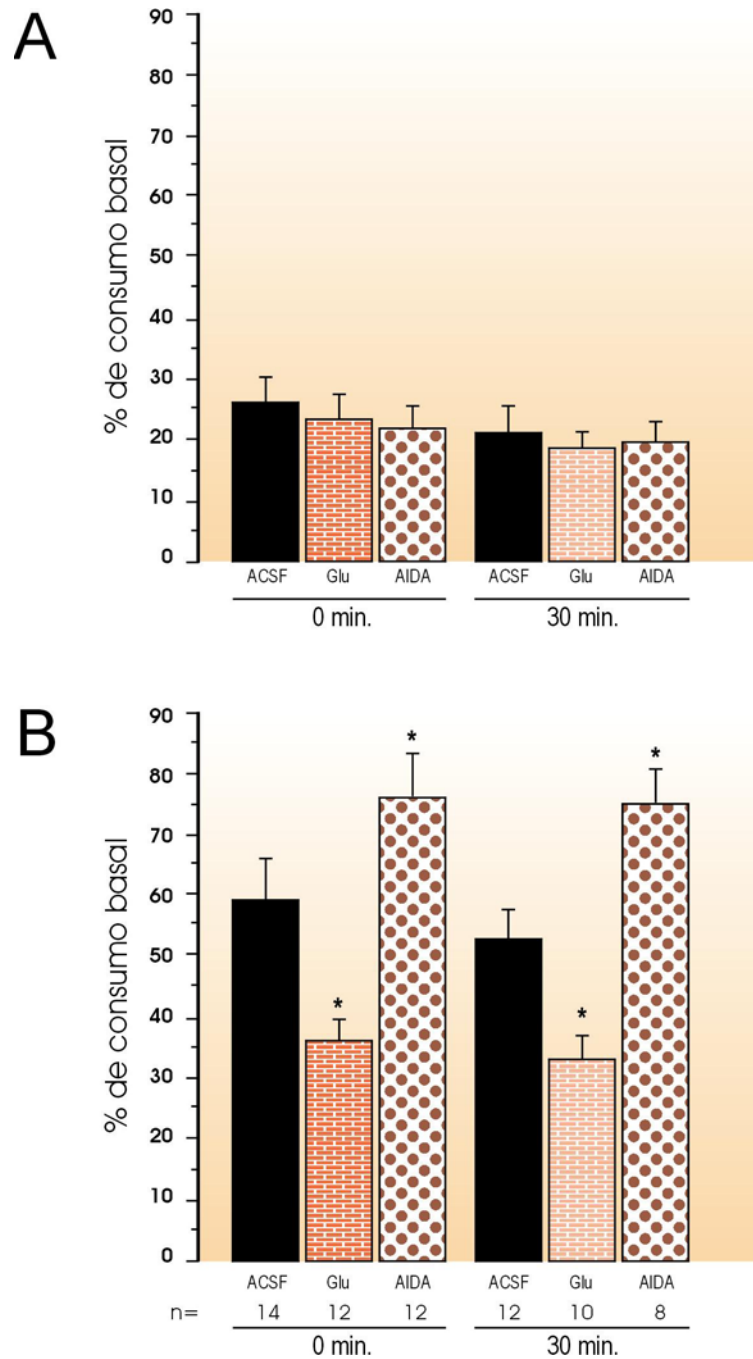


Figura 6. Efecto de la infusión en CI del agonista y antagonista (AIDA) de los receptores mGluR I en AT. A) Muestra el porcentaje de consumo de sacarina 0.5% en el primer día. B) Porcentaje del ingesta del nuevo sabor en el segundo día (atenuación de la neofobia). La línea punteada representa el promedio de consumo del grupo control.

5.4.1.1. Experimento 3 "Microinyección del agonista y antagonista de los mGluR I en IC durante AN"

Para corroborar que el efecto de modulación de la memoria es debido a la regulación de la actividad de los receptores glutamatérgicos a partir de los

receptores mGluR I, se microinyectó AIDA y glutamato en CI (0.5µl) en cada hemisferio, bajo las mismas condiciones y concentraciones que en los grupos anteriores.

Dicho experimento consistió en probar dos grupos experimentales con sus respectivos controles:

1. Al tiempo cero minutos (AIDA & Glu 0' n=9)
2. Otro a los 30 minutos (AIDA & Glu 30' n= 7).

Resultados.

Se observa en la figura 18 que no hay diferencias significativas entre los grupos experimentales con sus controles, tanto en la neofobia, como durante la atenuación de la neofobia. En esta última, los datos se analizaron por medio de *t student*, (ACSF 0' vs AIDA & Glutamato 0' $t_{22}= 11.131$, $P<0.0001$; ACSF 30' vs AIDA & Glutamato 30' $t_{17}= 9.836$, $P<0.0001$).

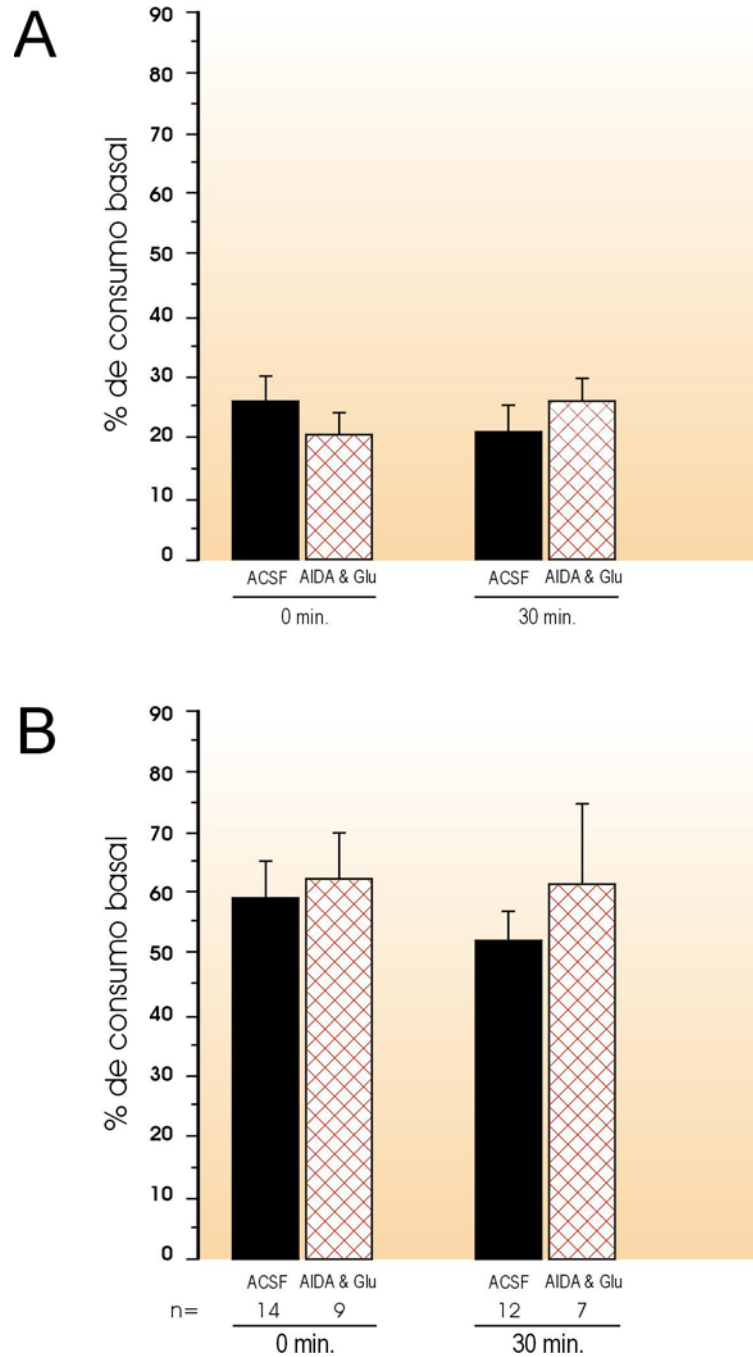


Figura 7. Microinyección del agonista junto con el antagonista de los receptores mGluR I en CI durante AN.

A) Muestra el porcentaje de consumo durante la neofobia. B) Porcentaje de la atenuación. En esta última, la combinación de AIDA con Glutamato en los dos tiempos tienen un efecto de anulación de las conductas obtenidas cuando se microinyectan en grupos separados como se observa en el experimento anterior.

5.5. Experimento 4 “Posible implicación de los mGluR I en CI durante el CAS”.

Con objeto de conocer si los receptores mGluR I están involucrados en el procesamiento de la aversión a los sabores. Se analizaron los efectos de AIDA inyectada en IC inmediatamente después de haber retirado el bebedero con sacarina, previo a la inducción del irritante gástrico (LiCl) ip (~5 min ± 2 min), dicho grupo se le denominó, AIDA 0´ + LiCl y a un grupo control (+/-) con AIDA sin irritante gástrico (AIDA 0´ + NaCl); un grupo control (-/+), cuya microinyección es con solución vehículo con LiCl (ACSF 0´ + LiCl); y otro grupo (-/-), con vehículo y sin irritante y ACSF 0´ + NaCl. La concentración del cloruro de litio fue de 0.2M (7.5ml/Kg) ip, aplicada 15 minutos después de la sacarina. En la tabla 4 se muestran los grupos

Tabla 3. Inhibición de los mGluR I en CI durante la formación de la memoria gustativa aversiva en un modelo de condicionamiento aversivo a los sabores (CAS).

Grupo	No. individuos	Nombre	Droga	Tiempo (min) de inyección	Efectos en la memoria
Experimental	6	AIDA 0´+LiCl	AIDA	0´	Ninguno
Control (+/-)	7	AIDA 0´+NaCl	AIDA	0´	Ninguno
Control (-/+)	5	ACSF 0´+LiCl	Vehículo	0´	Ninguno
Control (-/-)	7	ACSF 0´+NaCl	Vehículo	0´	Ninguno

5.5.1. Resultado

No hay diferencias significativas entre los grupos durante la adquisición del CAS, de igual manera no hay diferencias en la prueba, entre los grupos a los cuales se les aplicó CAS según los datos obtenidos con la “*t student*”, (AIDA + LiCl *vs* ACSF + LiCl, $t_{10} = 5.98$, $P = 0.0001$). Sin embargo, en el grupo experimental sin irritante gástrico (AIDA + NaCl) con respecto a su control (ACSF + NaCl), hay un incremento del consumo de sacarina el día de la prueba ($t_{13} = 7.66$, $P < 0.0001$), es decir se observa nuevamente una preferencia al sabor novedoso a una concentración menor (sacarina al 0.1%) que la tratada en el experimento dos. Como se puede visualizar en la grafica 19, lo cual sugiere que los receptores mGluR I en CI, no están involucrados en la formación de la memoria gustativa aversiva. No obstante, es probable que en

otras estructuras cerebrales que conforman el trazo gustativo, sí tengan alguna injerencia, por lo que se propuso indagar en BLA, bajo la atenuación de la neofobia. Dicha estructura tiene un papel importante en el condicionamiento aversivo a los sabores, debido a que presenta una mayor liberación de glutamato que la CI tras la inyección ip de LiCl {Miranda MI, Ferreira G, Ramirez-Lugo L, Bermudez-Rattoni F. 2002}. Sin embargo no se sabe si esa liberación de glutamato también participa durante la atenuación de la neofobia.

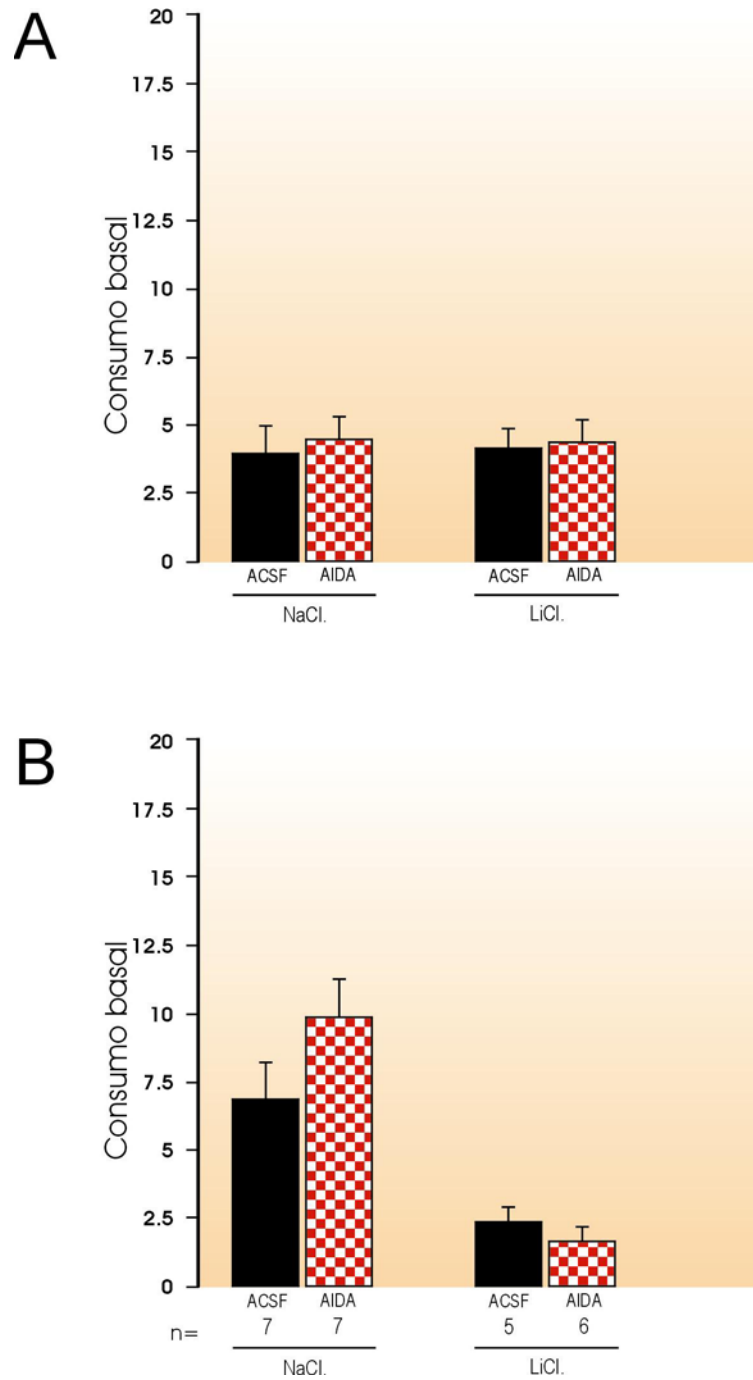


Figura 8. Inhibición de los receptores mGluR I con AIDA en CI durante la adquisición del CAS.

A) Muestra el consumo de sacarina 0.1% durante la adquisición (primer presentación del sabor novedoso). B) Segunda presentación del sabor nuevo una vez asociado al irritante gástrico (LiCl) o no, en el caso de inyección ip de NaCl. No se abate el CAS cuando se inyecta bilateralmente AIDA en CI tiempo 0´ tanto durante la adquisición como durante la prueba de la tarea.

5.6. Experimento 5 “Probable participación de los mGluR I en Amígdala durante la AN”.

Considerando la importancia de la ABL en la memoria gustativa, se hizo un estudio en esta estructura para ver si están involucrados de igual forma los receptores metabotrópicos de glutamato tipo I, como se observa en la tabla 5.

Tabla 4. Inhibición de los mGluR I en ABL & en CI durante la formación de la memoria apetitiva en AN.

Grupo	No. individuos	Nombre	Droga	Tiempo (min) de inyección	Efectos en la memoria
Experimental	10	AIDA 0´ ABL	AIDA	0´	Ninguno
Experimental	7	AIDA 0´ CI	AIDA	0´	Favorece
Control	10	ACSF 0´	Vehículo	0´	Ninguno

5.6.1. Resultados.

Como se denota en la gráfica 20 y es corroborado por la ANOVA, no hay diferencias significativas entre los grupos durante la neofobia ($F_{2,28} = 0.711$, $P = 0.4999$). En la atenuación de la neofobia, el grupo al que se le inyectó AIDA en el tiempo cero en ABL y el control en la misma estructura no presentan diferencias significativas, en contraste si las hay entre AIDA tiempo 0 minutos en CI con respecto a los otros dos grupos. $F_{2,28} = 4.9114$, $P = 0.0148$.

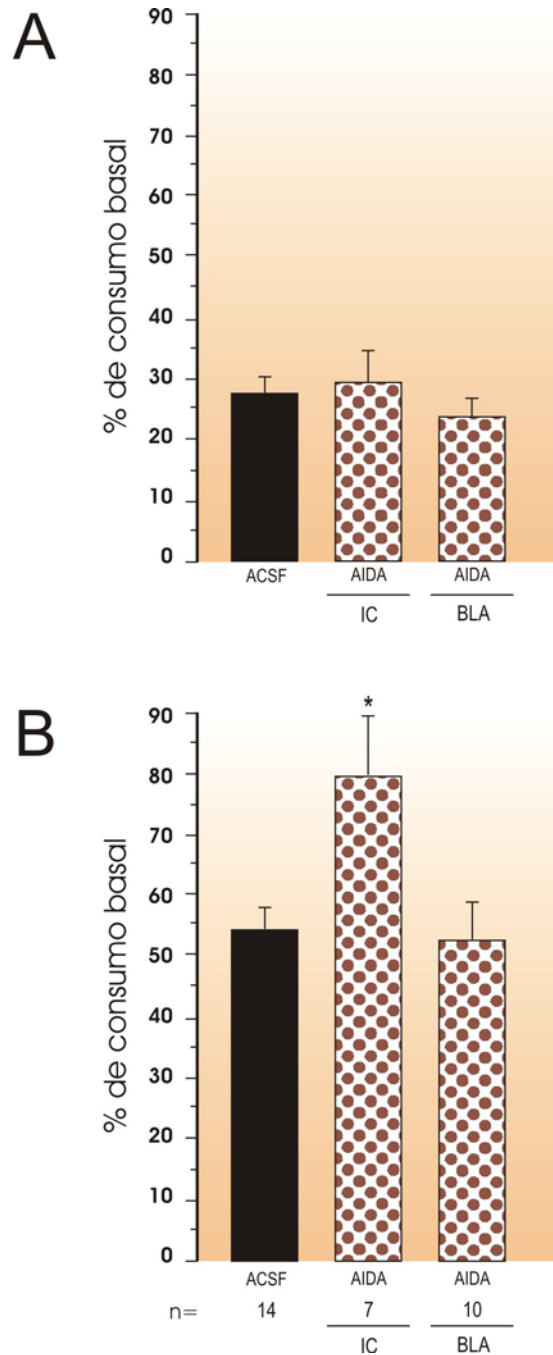


Figura 9. Inhibición de los receptores mGluRI con AIDA en ABL, durante la formación de la memoria gustativa apetecible en la AN, como ocurre en CI.
A) Muestra el porcentaje de consumo de sacarina al 0.5%, durante la neofobia. **B)** Porcentaje de consumo de sacarina durante la atenuación de la neofobia.

A continuación se presenta en la figura 21, un compendio de los resultados obtenidos en los experimentos anteriores de AN, donde se observa los efectos que tiene la sobre activación o la inhibición de los receptores mGluR I en CI, durante la formación de una memoria apetecible en ratas.

En el tiempo “0 minutos” durante la neofobia no hay diferencias significativas entre el grupo control (ACSF), glutamato, AIDA y AIDA & Glutamato ($F_{3,46} = 0.249$), mas en la atenuación de la neofobia se observan cambios significativos entre estos grupos ($F_{3,46} = 6.355$; $p < 0.01$). Mientras el grupo tratado con glutamato presenta un detrimento en la ingesta de sacarina, AIDA la incrementa con respecto al control $p < 0.05$ y el grupo tratado con AIDA & Glutamato no muestra efectos significativos al compararse con el grupo control.

De igual forma se observa una respuesta normal (sin diferencias significativas) durante la neofobia entre los grupos inyectados 30 minutos después; control (ACSF), Glutamato (Glu 30), AIDA (AIDA 30) y AIDA con Glutamato (AIDA & Glu 30) ($F_{3,41} = 1.082$). Durante la atenuación de la neofobia si hay diferencias significativas en estos grupos ($F_{3,41} = 5.016$; $p < 0.01$). El grupo al cual se le inyectó glutamato 30 minutos después de la ingesta de sacarina muestra detrimento de la memoria apetecible (presenta todavía neofobia), en tanto el grupo manipulado con AIDA tiene una facilitación de esta (atenúa más rápido la neofobia) en comparación con el grupo control ($p < 0.05$). El grupo AIDA & Glu 30 no tiene diferencias significativas con su control, ni tampoco el grupo glutamato inyectado 60 minutos después, el cual fue comparado con su respectivo grupo control mediante una prueba de “*t*” no pareada ($t_{26} = 0.319$).

En la figura 21 se muestra un resumen de los efectos provocados por la estimulación e inhibición de los receptores mGluR I en CI a diferentes tiempos durante la formación de una memoria gustativa apetecible.

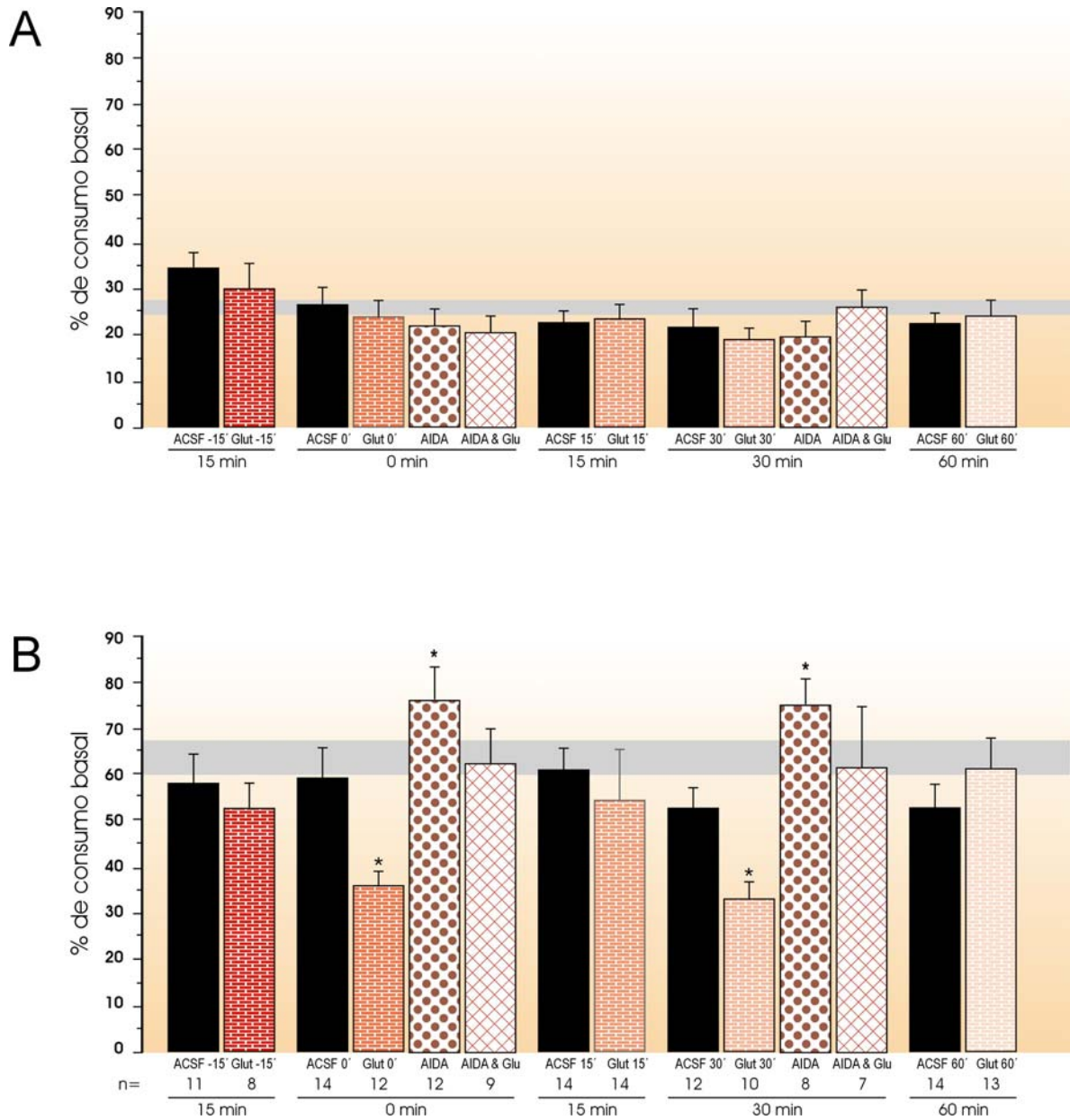


Figura 10. Diferentes efectos del glutamato, AIDA y AIDA/Glutamato inyectados en CI antes, inmediatamente después de la primera presentación del sabor, a los 15, 30 o 60 minutos después durante la AN.

La línea gris representa el promedio de los grupos controles con un $p < 0.05$. A) Muestra el porcentaje de consumo de sacarina al 0.5%, durante la neofobia. B) Porcentaje de consumo de sacarina durante la atenuación de la neofobia.

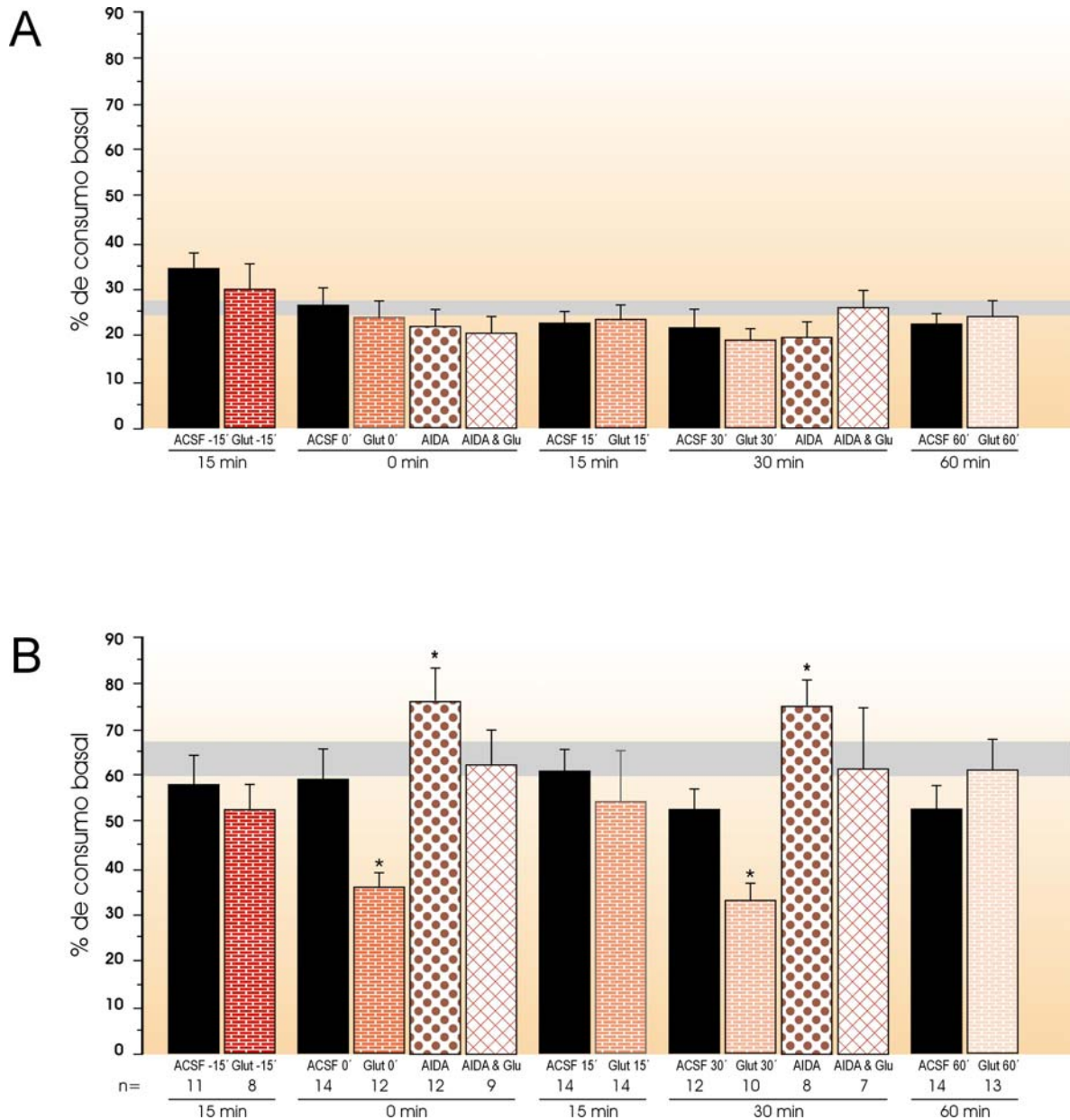


Figura 1. Diferentes efectos del glutamato, AIDA y AIDA/Glutamato inyectados en CI antes, inmediatamente después de la primera presentación del sabor, a los 15, 30 o 60 minutos después durante la AN.

La línea gris representa el promedio de los grupos controles con un $p < 0.05$. A) Muestra el porcentaje de consumo de sacarina al 0.5%, durante la neofobia. B) Porcentaje de consumo de sacarina durante la atenuación de la neofobia.

6.DISCUSIÓN.

Durante el procesamiento de la memoria hay cambios en cuanto a la comunicación neuronal que puede dar como resultado modificaciones citoarquitectónicas de las mismas, con el fin de formar una vía rápida o trazo que modifique la entrada y salida de información, ya sea, ante subsecuentes

estimulaciones o ante otros procesos mnemónicos, como la evocación. En la actualidad, se conocen las estructuras cerebrales que implicadas en el sistema gustativo, así como las estructuras involucradas en la formación de la memoria gustativa, (ver apéndice I) y se ha observado que en varias de estas, se activan genes de expresión temprana, como *c-fos*, {Yasoshima Y. *et al.* 2006} además hay síntesis {Rodríguez-Ortiz C. J. *et al.* 2005} y fosforilación de proteínas {Berman D. E. *et al.* 2000}, {Rosenblum K. *et al.* 1997} que modifican la respuesta neuronal ante subsecuentes presentaciones del sabor novedoso.

En la CI principalmente se han evidenciado estos cambios y se han reconocido los neurotransmisores con sus respectivos receptores que son indispensables en el reconocimiento de nuevos sabores, sabores familiares apetecibles y aversivos {Miranda M. I. *et al.* 2000}, {Berman D.E. *et al.* 2000}, {Bermúdez-Rattoni F. *et al.* 2004}.

En el presente estudio se observó que la infusión de glutamato, en la CI, tanto inmediatamente después de haber ingerido por primera vez un sabor o a la media hora, se produce un estado de no familiaridad (mantenimiento de la novedad) al sabor en subsecuentes presentaciones, pero no cuando se estimulan a los quince o sesenta minutos después de haberlo probado. La inhibición de dichos receptores, durante la misma ventana de activación que el glutamato, favorece la atenuación de la neofobia, mas no afecta la conducta hiponeofágica, es decir, no altera la percepción del nuevo sabor, y en cambio, favorece la adquisición del nuevo aprendizaje. Si se inyecta un combinado de glutamato y AIDA (el inhibidor de los mGluR1) se nulifican sus efectos, por tanto se obtiene una atenuación de la neofobia normal.

Dicho patrón podría significar que la formación de la memoria gustativa apetecible es lábil por lo menos en dos tiempos donde la modulación por los mGluR I es crucial para clasificar un sabor. Cuando están inactivos se vuelve apetecible (familiar) y por el contrario, si están activos se mantiene como novedoso. Dicho de otra forma, la sobre activación de los receptores glutamatergicos produce un aumento del ruido sináptico y por ende alteraciones en la memoria {Maciejak P, *et al.* 2003}.

Miranda y colaboradores {Miranda M.I. *et al.*, 2002} encontraron al hacer microdiálisis, tanto en CI como en amígdala, un aumento significativo de glutamato en presencia de un irritante gástrico y si se inyecta glutamato (2µg) intracortical, se expresa una fuerte aversión al sabor, es decir, el glutamato está involucrado en la formación de la memoria gustativa aversiva. En mi experimento, se observa que los mGluR 1 no están involucrados (o no significativamente) en la aversión a los sabores, según los datos obtenidos en el CAS. No en tanto, sí tienen un valor importante en la memoria gustativa apetecible y en particular durante la adquisición y consolidación de esta, ya que se modifica la conducta de atenuación a la neofobia cuando se inyecta glutamato o el antagonista de los mGluR 1 una vez adquirida la memoria, esto es inmediatamente después de haber consumido sacarina 0.5% por primera vez (tiempo 0 minutos o 30 minutos después de la adquisición) (posiblemente durante la consolidación de dicho aprendizaje). Cabe destacar que la estimulación con dichos fármacos no afectan la detección del sabor, puesto que al inyectarse 15 minutos antes de percibir el sabor novedoso, no modifica la neofobia. Según resultados de Schachtman y colaboradores, el CAS es abatido por la inyección ip del antagonista para los receptores mGluR 5 (MPEP) y no de los mGluR 1 (AIDA) {Schachtman T. R. *et al.* 2003}, de igual forma, cuando son inhibidos los mGluR I en CI no se bloquea el CAS {Escobar M. L. Alcocer I. & Bermúdez-Rattoni F. 2002}. Lo cual podría sugerir que los mGluR 5 actúan en el CAS mientras que, de acuerdo a mi investigación, los mGluR 1 en CI, están involucrados en los procesos mnemónicos del aprendizaje gustativo apetecible (atenuación de la neofobia) y tienen dos fases de acción, una durante la adquisición y otra en la consolidación del aprendizaje.

Con respecto a la participación del glutamato en dos tiempos distintos, fenómenos parecidos acontecen en otros trabajos como el de Ferreira y colaboradores {Ferreira G. *et al.* 2002} quienes sugieren que hay activación de los receptores de NMDA en CI, durante el consumo del estímulo gustativo novedoso y nuevamente durante la percepción del irritante gástrico o aversivo.

Estas ventanas de activación suceden en otros casos como en la fosforilación de tirosinas en CI después de la ingestión de un sabor nuevo, solo que esta permanece encendido por tiempos bajos (de minutos a horas) {Rosenblum K. *et al.* 1995}. Así como durante la consolidación de una tarea denominada condicionamiento contextual al miedo, en la cual hay fosforilación de las proteínas ERK1/2 y CREB de 0-1 hora y de 9-12 horas {Trifilieff P. *et al.* 2006}. En otras palabras, el comportamiento de la activación de proteínas en dos fases distintas, durante la formación y consolidación de la memoria es observada en varios protocolos conductuales.

Eckert y Racine sugieren que los mGluR 1 están involucrados en la formación de metaplasticidad (un proceso que induce cambios nimios en la sinapsis, no detectables electrofisiológicamente, pero permite subsecuentes cambios en el sistema) que favorece la facilitación de la memoria y de la inducción del LTP {Eckert MJ, Racine RJ. 2004}. Además Maciejak P. y colaboradores han encontrado que los mGluR 1 participan en la consolidación de la memoria de condicionamiento al miedo {Maciejak P, *et al.* 2003}. Al suministrar en el hipocampo el antagonista de los mGluR 1, AIDA, tanto el agonista como antagonista de mGluR 5 (CHPG y MPEP respectivamente) una vez adquirido el condicionamiento al miedo, hay un incremento de la conducta de congelamiento en el grupo inyectado con AIDA, es decir hay una facilitación de la memoria, en tanto, los agonistas y antagonistas de mGluR 5 no produjeron ningún efecto. También demuestran que la presencia de AIDA en hipocampo decrece significativamente la expresión de *c-fos* en el giro dentado y CA1 durante el periodo de tiempo correspondiente al incremento del condicionamiento a la conducta de congelamiento. Cabe destacar que la expresión de *c-fos* está involucrada en la detección de la novedad e implicada en aprendizaje y reconocimiento de nuevos eventos cognitivos.

Los resultados emanados en este trabajo de memoria gustativa, coinciden con los datos obtenidos por Maciejak P y colaboradores, lo que sugiere que la falta de activación de los receptores mGluR 1 está asociada a la pérdida de novedad del estímulo gustativo, formando una memoria gustativa apetecible. Por otro lado, los mGluR 5 –según Schacman– participan en la

formación de la memoria gustativa aversiva, sin embargo esto último habría que confirmarlo al inyectar bilateralmente en CI y amígdala bajo las mismas condiciones que en el presente estudio, puesto que ellos los aplican intra peritoneal, por tanto no son tan específicos pues afectan a todas las estructuras cerebrales y a órganos.

formación de la memoria gustativa aversiva, sin embargo esto último habría que confirmarlo al inyectar bilateralmente en CI y amígdala bajo las mismas condiciones que en el presente estudio, puesto que ellos los aplican intra peritoneal, por tanto no son tan específicos pues afectan a todas las estructuras cerebrales y a órganos.

7.CONCLUSIÓN.

- Los receptores mGluR I participan negativamente o requieren estar inactivos en la formación y/o consolidación de la memoria gustativa apetecible.
- Los receptores mGluR I podrían estar ejerciendo una regulación negativa sobre los receptores tipo NMDA, así como también con los AMPA/Kainato y/o tener intercomunicación cruzada (*cross talk*) con receptores de ACh, los cuales están ampliamente involucrados en procesos de memoria gustativa apetecible.
- Los receptores metabotrópicos de glutamato tipo I no afectan el procesamiento del estímulo gustativo puesto que se observa una conducta hiponeofagia a la sacarina (0.5%) en la primera presentación, pero si se aprecian modificaciones en la adquisición y la consolidación de la memoria apetecible, porque al inyectar AIDA en CI inmediatamente o a los 30 minutos después de haber consumido el sabor novedoso, se observa una mejora en la formación de la memoria apetecible.
- Con los elementos antes señalados es posible considerar futuros trabajos de investigación que nos permitan escudriñar en las funciones de los receptores metabotrópicos de glutamato, así como la observación sobre las distintas interacciones de los receptores en cuanto cascadas intracelulares para producir procesos de plasticidad sináptica y neuroprotección de las células neuronales.
- Los experimentos presentados permiten dar cabida a otras investigaciones de enfermedades neurodegenerativas como demencias,

Síndrome de Alzheimer, epilepsias, excitotoxicidad, esquizofrenia y la esclerosis múltiple.

Apendice I. Vías del procesamiento de la información gustativa.

Núcleo del Tracto Solitario (NTS) o Fascículo Solitario.

La información gustativa, al igual que la visceral, respiratoria y pulmonar viajan del NTS al núcleo parabraquial. La gustativa es transportada de forma ipsilateral rodeando al *brachium conjunctivum* hasta la región posteromedial y lateral. {Reilly S. 1999}, {Karimnamazi H. *et al.* 2002}. Sin embargo, algunos estudios electrofisiológicos y con técnicas de doble marcaje, demuestran que en la región *Waist* (región gustativa), se encuentra el 15% de la población de neuronas transportadoras de información visceral. Por otro lado, se encontró actividad orosensorial de la cavidad oral posterior, en la región rostral y lateral correspondiente a la parte visceral {Karimnamazi H. *et al.* 2002}.

Núcleo Parabraquial (NPB).

El núcleo parabraquial podría ser la primer área donde se procesa la información gustativa y visceral, según investigaciones de John-Paul Baird *et al.* (2001). Puesto que células gustativas registradas electrofisiologicamente en el NPB fueron coactivadas o moduladas por distensión gástrica. También encontraron inhibición de algunas pocas células gustativas a partir de diferentes estimulaciones gástricas con infusión intragástrica lipídica, infusión de glucosa, glucagon e insulina, que imitan los procesos de saciedad.

El NPB transporta la información por medio de dos rutas, una, se conecta bilateralmente con la región *Parvicellular* del núcleo talámico ventroposteromedial (núcleo gustativo del tálamo) {Paxinos G. & Watson C. 1995} que a su vez proyecta a CI; y al núcleo parasubtalámico en el cual confluye información gustativa y visceral del nervio glossofaríngeo y vago, provenientes del NTS. El Núcleo parasubtalámico, también manda la información a la CI. {Goto M. & Swanson L. W., 2004}.

La otra vía es por medio del sistema límbico conectándose con la ACe {Sakai N., & Yamamoto T., 1999}, núcleo de la *estria terminalis* del tálamo, hipotálamo lateral y sustancia *inominata*. Todas estas estructuras envían la información a la CI {Reilly S., 1999}.

Proyecciones del Núcleo Parabraquial al Núcleo del Tálamo Gustativo

El NPB envía axones al tálamo ventroposteromedial *parvicellular* o tálamo gustativo de forma bilateral, al igual que al núcleo parasubtalámico cuya función es modular la respuesta digestiva y metabólica, puesto que adquiere información del núcleo parasimpático preganglionico del cerebro medio, de los núcleos motores orofaciales, aferencias viscerales y gustativas del NTS y NPB e información olfativa a través de la amígdala {Goto M. & Swanson L. W., 2004}.

Las proyecciones del tálamo ventroposteromedial pasan rostrolateralmente a través de la *zona inserta* en la cual pueden formarse algunas sinapsis colaterales, y entra en la *cápsula interna*. Continúa avanzando a través del tercio ventral del *caudado-putamen* arribando a la *cápsula externa*, penetra las capas profundas de la corteza hasta llegar al *claustrum* al cual lo rodea y termina finalmente en la CI localizada en la región dorsal del *surco* rhinal por donde cruza la arteria media cerebral {Paxinos G. & Watson C. 1995}.

De igual forma el núcleo parasubtalámico manda axones ipsilaterales a la CI región agranular, a la BLA región caudolateral, ACe parte medial, parte ventral capsular y en la periferia de la lateral. También tiene algunas proyecciones a la corteza entorhinal {Goto M. & Swanson L. W., 2004} y al *globus pallidus*, el cual tiene conexiones recíprocas con la corteza prelímbica y la CI agranular región dorsal y es muy importante en la regulación de la ingesta {Brog JS, *et al.* 1993}.

Por otra parte, el tálamo mediodorsal y subcomisura ventral tegmental tiene comunicación bidireccional con el núcleo *accumbens*, con la corteza orbital lateral e insular agranular ventral. Recibe proyecciones de la corteza

piriforme y las manda de igual forma a la CI. Así mismo, interacciona con la corteza olfativa primaria y núcleos corticales de la amígdala y corteza orbital medial {Ray J. P. & Price J. L., 1992}.

Proyecciones del NPB al sistema límbico (cerebro anterior), las conexiones son bidireccionales y se ha visto que en amígdala, hipotálamo lateral y CI, se modulan las respuestas gustativas del NPB y NTS.

Muchos axones del NPB se extienden ventrolateralmente a través de la zona inserta y la cápsula interna para distribuirse ampliamente en el cerebro anterior ventral, con el cual tiene conexiones ipsilaterales, principalmente con el área gris ventrolateral a central en el paquete tegmental dorsal y algunos en ventral, también tiene conexiones con el tracto tegmental central lateral. Los fascículos ventrales los manda a la sustancia Nigra parte compacta y continúan rostralmente a través del hipotálamo posterior lateral, evitando al núcleo subtalámico y el pedúnculo cerebral. De igual manera, tiene contacto con la ACe subdivisión medial, la parte ventrolateral del núcleo basal *parvicellular*, núcleo basomedial y accesorio {McDonald A. J., 1999}.

Las porciones celulares más dorsales se comunican con el tálamo para terminar densamente en la extremidad medial del núcleo posteromedial ventral y se pierden en el parafascicular central medial, entre otros núcleos de la línea media {Paxinos G. & Watson C. 1995}.

Estría terminal del tálamo

La estría terminal del tálamo es una estructura perteneciente al cerebro medio, cuya función (junto con la amígdala) posiblemente esté involucrada en la asociación o integración entre un estímulo gustativo con uno visceral {de la Torre-Vacas L & Agüero-Zapata A., 2006}. Recibe proyecciones del NTS rostral y medial y del NPB medial y manda gran cantidad de las proyecciones al núcleo *accumbens* región caudal, algunas de estas fibras continúan en la región ventromedial del núcleo *accumbens* y rostral, para terminar en las capas profundas del tubérculo olfativo y en el extremo rostral del núcleo septal

lateral. Algunas otras fibras que llegan al núcleo *accumbens* son enviadas a la sustancia *innominata* caudal.

La ACe recibe fibras de la estria *terminalis/ansa peduncularis* tanto en región ventral y medial. Muy pocas fibras son llevadas a otras partes del núcleo amigdalino. En tanto que la basta mayoría de las fibras de la estria terminal región descienden a través del hipotálamo. Las fibras entran por el hipotálamo lateral a la sustancia *Innominata* medial y área preóptica lateral. Algunas de las eferencias continúan al núcleo hipotalámico paraventricular llegando hasta el pedúnculo cerebral. También llegan al VTA. Todas estas estructuras tienen una gran relevancia en el control de la actividad motora orofacial.

El estriado región anterolateral inerva también al *Estriatum* olfativo, parte del sistema estriatopalidal dorsal y sistema neuroendocrino cuyas funciones están ampliamente vinculadas con el control de la homeostasis, predominantemente en el sistema autónomo y en la conducta de ingestión.

Cabe destacar que dicha región del estriado, al igual que la ACe reciben gran cantidad de impulsos provenientes de la corteza gustativa, visceral y olfativa, corteza prefrontal (infralimbica y prelimbica), corteza entorhinal, hipocampo y algunas cortezas relacionadas con el sistema auditivo, visual y somatosensorial.

Núcleo *accumbens*

El núcleo *accumbens* está involucrado en funciones de locomoción, ingesta {Sangeeta M. *et al.*, 2004}, motivación y respuesta de reforzamiento {Kirouac G. J. & Ciriello J., 1997}. Es parte del estriado ventral {Kirouac G. J. & Ciriello J., 1997}, localizado en la parte rostrbasal del cerebro medio; rostralmente delimita con el núcleo endopirhiforme dorsal y con la corteza orbital región ventral y caudalmente con los núcleos estria terminal del tálamo. Anatómicamente se divide en dos subnúcleos:

Núcleo *accumbens* central que rodea a la comisura anterior y a su vez es cubierta por el otro subnúcleo del *accumbens*, el laminar o periférico (*Shell*), el

cual colinda dorsolateral con el caudado-putamen {Paxinos G. & Watson C. 1995}.

Núcleo *accumbens* recibe información del sistema límbico, así como de corteza prefrontal (prelímica, infralímica, y cingulada), hipocampo (laminar a partir del subinículum ventral y el subnúcleo central del subinículum dorsal) y BLA, Basomedial {Helm K. A., *et al* 2003}, {Kirouac G. J. & Ciriello J., 1997}, {Brog JS *et al.* 1993}, *globus pallidus* ventral, aferencias dopaminérgicas del mesencéfalo ventral, VTA y tálamo paraventricular, núcleo talámico intralaminar y medial {Kirouac G. J. & Ciriello J., 1997}.

Cabe destacar que la información proveniente del núcleo amígdalino basal accesorio es de origen sensorial multimodal primordialmente auditiva y visceral. Estos impulsos llegan a los dos subnúcleos, pero el laminar los manda al VTA lateral, mientras que el central a la sustancia Nigra {Wright CI, *et al.* 1996}.

Algunas de las inervaciones provenientes del hipotálamo llevan información visceral, por lo que, puede estar involucrado en el procesamiento de la información gástrica {Sangeeta M. *et al.*, 2004}.

Ambos subnúcleos tienen proyecciones con estructuras involucradas en procesos de motivación y emoción, como el sistema límbico (sustancia *Innominata*, núcleos de la estria terminal del tálamo y materia gris del periacueducto), corteza prefrontal, además de tener comunicación con estructuras que participan en la transmisión y codificación de la información viscerosensorial, como el caso del núcleo *paragigantocellular* lateral, el núcleo reticular lateral de la formación reticular de la médula ventrolateral y del NTS medial y caudal {Kirouac G. J. & Ciriello J., 1997}; con cortezas relacionadas con memoria gustativa, CI agranular (en *accumbens* laminar medial y lateral, así como en el subnúcleo central), corteza entorhinal lateral (en laminar lateral y central) y aígda basal {Brog JS *et al.* 1993}. Tiene comunicación con otras estructuras como área hipotalámica lateral rostrocaudal {Helm K. A., *et al* 2003}, hipocampo (*subinículum*, CA1 y la porción caudodorsal) {Brog JS *et al.* 1993}. Investigaciones Ramírez-Lugo y colaboradores en 2006, muestran que el núcleo *accumbens* tiene una importancia significativa en la formación de la

memoria gustativa. Al inhibir los receptores muscarínicos antes de la adquisición del estímulo gustativo en el subnúcleo periférico, se abaten tanto la formación de la memoria apetecible como aversivo. Por otro lado, si se inhiben los receptores tipo NMDA en ambos subnúcleos se evita la formación de la memoria aversiva y no apetecible {Ramírez-Lugo L, Zavala-Vega S & Bermúdez-Rattoni F. 2006}.

El subnúcleo central de tiene aferencias con estructuras que participan en mecanismos motores voluntarios, como son de los ganglios basales (*pallidum* ventral, núcleo subtalámico y sustancia nigra) por lo que se ha involucrado en estas funciones {Kelley A. E., 2004}, {Helm K. A. *et al.*, 2003}.

El subnúcleo laminar (*Shell*) recibe información gustativa y visceral del NTS y de forma indirecta recibe información de la corteza gustativa a partir del NPB y tálamo. También pueden provenir de la amígdala de forma directa o indirecta por dos vías. La primera es a partir de la ruta NTS –NPB – amígdala central (ACe), VTA – *accumbens*. Por la otra es por CI – amígdala basolateral (ABL) – *accumbens* {Kirouac G. J. & Ciriello J., 1997}.

El núcleo *accumbens* laminal, tiene comunicación con el hipotálamo lateral que parece ser importante para controlar la conducta de motivación, al igual de la corteza piriforme e infralímbica {Kelley A. E., 2004}, {Helm K. A. *et al.*, 2003}. Por otra parte, recibe información del estriado ventral (área de la obesidad), por lo que se sugiere que está involucrado en el control de la ingesta. Este subnúcleo envía información a la región límbica subcortical, hipotálamo lateral, VTA, *pallidum* ventral ventromedial y a los centros autónomos del tallo cerebral {Kelley A. E., 2004}, {Helm K. A. *et al.*, 2003}.

Núcleo *Magnocellularis*

Una de las vías de comunicación ajenas a las relacionadas con la transmisión de señales gustativas y viscerales es la presente estructura. El núcleo basal *magnocellularis* o de *Meynert* en primates {Mogenson GJ *et al.*, 1983}, provee de acetilcolina a todo el manto cortical, amígdala, tálamo, hipotálamo y *globus palidus*.

Estas proyecciones que también envía a la corteza, pueden participar en la regulación de la activación de esta estructura que influye de forma indirecta en la formación de una conducta ante un estímulo y en procesos de memoria y aprendizaje {Miranda M. I.& Bermudez-Rattoni F., 1999}.

Núcleo Hipotalámico Lateral

El núcleo hipotalámico paraventricular y lateral, se encuentra implicado en procesos de alimentación {Wang C. *et al.* 2001}, integra las señales fisiológicas relacionadas al control y almacenaje de energía, es capaz de controlar la necesidad de consumo de un alimento con características particulares en cuanto a proteínas, carbohidratos y ácidos grasos, dependiendo de la escasez de estos en el cuerpo. Algunas de las vías de comunicación del hipotálamo son a través de las proyecciones bidireccionales del NTS, NPB, corteza, ACe y algunos núcleos del cerebro anterior ventral como es el caso del tálamo, cuyas funciones son cruciales también para la regulación de la homeostasis, ingestión, motivación y memoria gustativa.

En varios estudios se ha observado que la activación del hipotálamo es fácilmente modificado por señales tales como distensión gástrica, hiperosmolaridad, aumento de los niveles de insulina y de glucosa en sangre, almacenaje de energía, utilización de la misma y expectación de saciedad. Dicha modificación en la actividad del hipotálamo por efecto de la saciedad produce, entre otras cosas, la regulación de la actividad de neuronas gustativas del NTS, que coincide con la suspensión de la ingesta. La lesión de esta estructura provoca hipofagia en el individuo, llevándolo hasta la anorexia. {Wang C. *et al.* 2001}. Por ello, ha sido considerado como una de las estructuras más importante en donde se lleva a cabo la representación del hambre, algunas de las estructuras con las que participa en esta tarea son el periacueducto ventrolateral de la materia gris, núcleo talámico paraventricular y corteza prefrontal medial {Sewards TV & Sewards MA., 2003}.

El hipotálamo en presencia de un estímulo gustativo neofóbico activa las vías de norepinefrina principalmente en la región paraventricular, de manera

simultánea que se activan en tallo cerebral produciendo una conducta de alerta. Por otro lado, el hipotálamo puede ser activado por medio del sistema simpático produciendo una liberación de epinefrina a partir de compuestos adrenérgicos lo cual lleva a un incremento de glucosa en la sangre, incremento del metabolismo y mantenimiento de un estado de alerta {Dennis A.*et al.* 2002}. También dicha estructura cerebral está involucrada en procesos de detección de sabores aversivos {Helm K. A. *et al.*, 2003}.

Amígdala

La amígdala es una estructura muy importante, puesto que está involucrada en el desarrollo de conductas asociadas con factores emocionales y motivacionales, así como en mecanismos de memoria y aprendizaje.

Se localiza en la parte anteromedial del lóbulo temporal, sobre el estriado y anterior a la porción ventral de la formación hipocampal y está formado por los siguiente núcleos:

Núcleo amigdalino basolateral, núcleo amigdalino intercalado, periacueducto gris y núcleo amigdalino central {McDonald A. J., 1999}.

La amígdala recibe proyecciones con información sensorial del tálamo y diversas cortezas sensoriales (auditiva, somatosensorial, visual y olfativa), incluyendo a la corteza prefrontal y perhirinal. De igual forma, tiene amplia comunicación con estructuras del cerebro medio y anterior tales como, hipocampo, hipotálamo, núcleos de la estría terminal del tálamo y tallo cerebral que son áreas importantes para el desarrollo de una respuesta conductual puesto que activan centros autónomos y endocrinos. Estudios electrofisiológicos y farmacológicos corroboran el hallazgo anatómico, siendo así, la amígdala es considerada una estructura muy importante en la formación de asociaciones entre estímulo sensorial y eventos biológicamente importantes para el organismo que implican cambios conductuales en cuanto a motivación o reacciones emocionales. Por ejemplo, está involucrada en procesos biológicos como dormir y despertar, orientación, conductas aversivas,

respuesta ante un castigo o recompensa, conducta de ingesta, reproducción y cuidado maternal {McDonald A. J., 1999}.

El núcleo amigdalino tiene muchas proyecciones al estriado, estructura que tiene un papel muy importante en el desarrollo de respuestas conductuales. Dicha trama tiene su origen en la amígdala basolateral y se aloja mayoritariamente en la región ventral y medial del estriado, incluyendo al núcleo *accumbens*.

Por otro lado, la ACe manda información autonómica, somática, sensorial y endocrina al hipotálamo y tallo cerebral a través de la estría terminal del tálamo.

La amígdala tiene una amplia comunicación con el manto cortical, preferentemente de forma ipsilateral; esta conexión cortico-amigdalina, lleva información sensorial, emocional y motivacional a todo el manto cortical.

Con respecto a las vías sensoriales, recibe información olfativa a través del bulbo olfativo {McDonald A. J., 1999} y de la corteza piriforme a la amígdala lateral y núcleo geniculado {Phillips A. G., *et al.* 2003}. Que a su vez mandada al tálamo parasubtalámico {Goto M. & Swanson L. W. 2004}.

La información gustativa llega a la ACe de forma directa del NTS e indirectamente del NPB, sin embargo la mayoría de la proyecciones que recibe la amígdala tanto de estas estructuras como de la CI anterior, llegan de la amígdala basolateral y del núcleo cortical de la amígdala, los cuales también tienen relevo en la ACe .

Corteza insular (CI).

La CI en el cerebro de ratas se encuentra en la superficie lateral del hemisferio cerebral, en la región dorsal al surco rhinal rostral a la corteza perirhinal, por donde cruza la arteria cerebral media.

La CI colinda en la región rostral con la corteza orbital, caudalmente con la corteza perirhinal, lateral con *claustrum* y cuerpo calloso (cápsula externa); en la parte ventral con el surco rhinal y la corteza periforme y dorsal con la

corteza somatosensorial I en la parte dorso rostral, en dorso caudal con la corteza somatosensorial II y más caudal con la corteza temporal.

Histológicamente se divide en tres regiones, agranular, disgranular y granular (ver figura 22). La región mas ventral (disgranular y agranular) está relacionado con el sistema gustativo {Yamamoto T. *et al.* 1987}, {Yamamoto T. *et al.* 1988}, principalmente en la parte rostral {Cechetto D.F. & Saper C. B., 1987}. En la región dorsal (en la capa granular) se encuentran neuronas con actividad termo receptiva de la lengua, así como neuronas táctiles de la lengua en la porción limitrofe con la corteza somatosensorial {Sewards T. V. 2004}. En la capa granular región caudal, se encuentran las neuronas viscerosensoriales {Paxinos G. & Watson C. 1995}.

Estudios electrofisiológicos hechos por Yamamoto y colaboradores, muestran que la CI disgranular presenta características diferenciales en cuanto a respuesta a la estimulación por medio de un sabor determinado. Las neuronas que se estimulan preferentemente con un sabor dulce se encuentran en la parte rostral y con sabores amargos, como la quinina, primordialmente en la región caudal y en la región granular. Las neuronas estimuladas tanto por sabores salados como ácidos se encuentran dispersas {Paxinos G. & Watson C. 1995}.

Otros experimentos realizados por el mismo grupo demuestran que pueden reconocerse dos tipos de neuronas. Tipo I (sensoriales) responden con un incremento de descargas ante uno o más sabores independientemente de que sean aversivos o no. Tipo II (hedónicas), neuronas encontradas principalmente en la región dorsal y caudal, algunas son excitadas ante un estímulo gustativo apetecible como el azúcar y su actividad decrece conforme este va siendo más aversivo. Otras células tipo II se activan con sabores aversivos y se inhiben con apetecibles {Yamamoto T., *et al.*,1989}.

Por lo tanto la CI es una estructura importante tanto para la detección del sabor como de los efectos viscerales posteriores y también juega un papel importante en la asociación de dichos estímulos. También recibe información olfativa, sensorial, auditiva y visual por medio de otras áreas, por lo que se le

ha considerado una estructura multimodal. Recibe información de las siguientes estructuras:

El núcleo *accumbens* inerva a la CI primordialmente a la región rostral, a partir del subnúcleo central y laminar lateral {Brog JS *et al.* 1993}. También del núcleo talámico ventroposteromedial región parvicelular, amígdala y áreas corticales adyacentes como prefrontal, entorhinal, perirhinal y corteza prelímbica.

Estudios de fMRI en humanos muestran una convergencia entre estímulos gustativo y olfativo en la región agranular anterior de la CI, en la región caudal de la corteza fronto-orbital y en la corteza cingulada anterior.

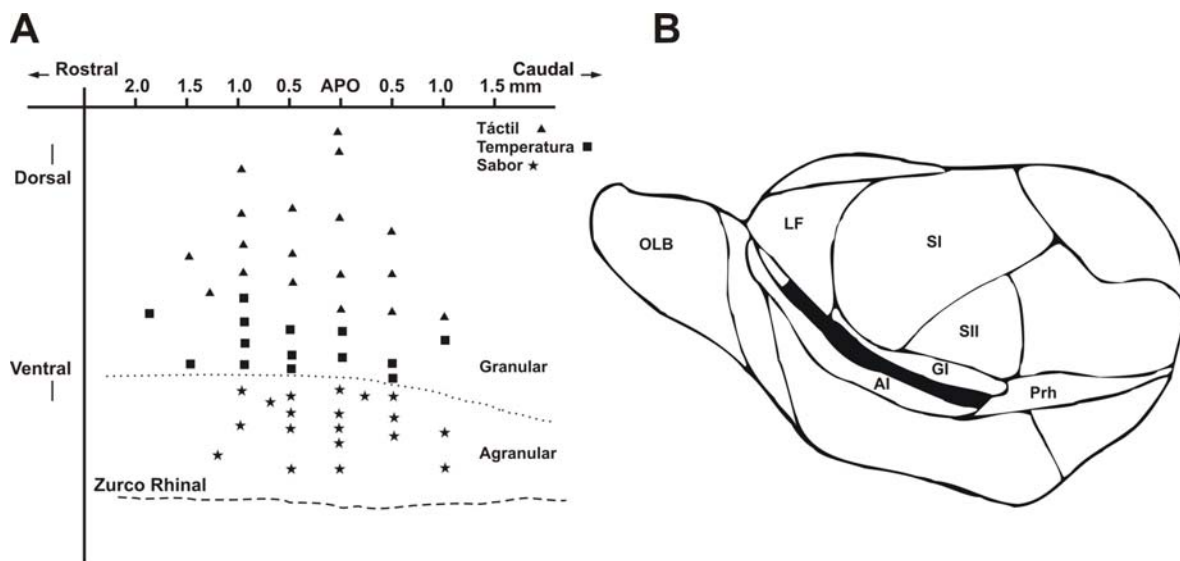


Figura 1. Regiones de la Corteza Insular (CI).

A) Representación esquemática de neuronas sensoriales térmicas y gustativas de la lengua en CI. El triángulo, simboliza la distribución táctil; el cuadrado, los receptores térmicos; y la estrella, respuesta gustativa de la lengua.

La línea intermitente muestra el límite con el surco Rhinal y la línea punteada representa el límite ventral de la capa granular. B) Esquema de la corteza cerebral, plano lateral. El área sombreada muestra la región dis-granular de la CI (corteza gustativa). AI, corteza insular agranular; GI, corteza insular granular; LF, corteza lateral frontal; OLB, bulbo olfatorio; PIR, corteza piriforme; Prh, corteza perirhinal; SI, corteza soma-tosensorial primaria; SII, corteza somatosensorial secundaria. Imagen tomada de Paxinos G. (1995)

Corteza prefrontal

La corteza prefrontal, al igual que la amígdala, juega un papel importante en los mecanismos de toma de decisiones, anticipación de una consecuencia emocional o de motivación, así como en procesos mnemónicos {Pickens C. L. *et*

al., 2003}. Lesiones de esta corteza por medio de fármacos, muestran un detrimento en el aprendizaje de aversión a los sabores. Esta corteza se encuentra entre la corteza premotora y motora en el lóbulo frontal.

La parte lateral y caudolateral de la corteza orbitofrontal es considerada como la corteza gustativa secundaria {Rolls E. T. 2000}, {Gallagher M. *et al.*, 1999}, puesto que la mayoría de las proyecciones de la corteza gustativa son enviadas a esta estructura cortical. Sin embargo, como en el caso de la CI, el estímulo gustativo no es el único representado en esta zona, converge también información somatosensorial a partir de las áreas corticales 1,2 y SII, olfativa de la corteza olfativa primaria y piriforme, visual proveniente de la corteza temporal inferior {Pickens C. L. *et al.*, 2003}.

La región mediodorsal paralaminar, proyecta al campo visual frontal en la región anterior al surco arcuato en primates {Rolls E. T. 2004}.

La región caudal de la corteza orbitofrontal recibe información de la amígdala, así como del tálamo mediodorsal y corteza olfativa; proyecta a la corteza temporal inferior, corteza entorhinal, cingulada, preóptica, VTA, hipotálamo lateral y núcleo caudado {Rolls E. T. 2004}.

Algunos experimentos realizados por Rolls y cols. demuestran que en la segunda corteza gustativa también hay una representación específica de cada uno de los sabores básicos, una representación del sabor del agua, proteínas y estímulos astringentes como el ácido tánico {Rolls E. T. 2004}.

Se ha considerado que esta estructura participa de manera importante en la asignación del valor hedónico del sabor, proceso que es modificado por factores de hambre, sed y saciedad.

A pesar de ser una estructura especial de la percepción gustativa, no está exenta de recibir otro tipo de información sensorial, por lo que es considerada, al igual que la CI, como una estructura multimodal en donde se procesa las señales sensoriales, se asocian a otros estímulos y participa de manera importante en la memorización de sus características aunadas a sus repercusiones o a estímulos de reforzamiento.

Se sabe que algunas de las células que se activan con la presencia de un sabor, también se activan con estímulos olfativos y/o con la textura del

alimento y por separado se activan poblaciones de células ante características de miscibilidad del alimento. La entrada de un estímulo olfativo es representado en la parte lateral de la corteza orbitofrontal anterior y cuando es congruente con el sabor, hay estimulación de la parte medial de la misma corteza cerebral. {de Araujo I. E., *et al.* 2003}.

Apendice II. Vías del procesamiento de la información visceral.

La información gastrointestinal viaja a través del nervio vago y en menor medida por el esplácnico.

El nervio vago inerva entre otras estructuras viscerales, al tracto gastrointestinal, desde el esfínter del esófago, hasta el colon {Teff K. L. & Mattes R. 2000}, {Andrews P. L. & Sanger G. J. 2002}. Llevando la información a dos regiones del tallo cerebral, al núcleo *Ambiguus* cuya transmisión es predominantemente de mecanorreceptores y al núcleo motor dorsal del vago localizado en la parte media del ala gris en el piso del cuarto ventrículo, este último obtiene información tanto de mecanorreceptores como de quimiorreceptores, que envía a diferentes subnúcleos del NTS con predominancia a la región caudal. {Andrews P. L. & Sanger G. J. 2002}. El núcleo dorsal del vago también tiene comunicación con algunas fibras secundarias del nervio glossofaríngeo, centro olfativo y vestibular que llevan, entre otras cosas, información olfativa aunada a la gustativa produciendo reflejos de salivación, secreción de jugos gástricos o vómito. {Frodden E. E. 1985}.

Área postrema

El área postrema es considerada el núcleo emético, se localiza en la línea media del piso del cuarto ventrículo parte caudal. Recibe proyecciones del nervio vago de forma directa e indirectamente por vía hemática, también tiene aferencias del hipotálamo paraventricular y dorsomedial; releva la información al NTS, NPB, núcleo dorsal motor del vago, núcleo *ambiguus*, entre otras estructuras del cerebro medio. Este órgano es muy importante en la percepción viscerosensorial puesto que detecta el malestar gástrico por medio del nervio vago, así como las sustancias tóxicas presentes en la sangre {Bures, J., Bermúdez-Rattoni F. & Yamamoto T., 1998}.

Núcleo del Tracto Solitario.

Las aferencias gastrointestinales ocupan la parte caudal, intermedial, central y subnúcleos gelatinosos del NTS. La información del nervio vago también puede provenir a través de vía hemática arribando al área postrema, un órgano circunventricular sensible a las toxinas presentes en sangre, y de ahí al NTS, formación reticular medular y NPB.

El NTS proyecta a la formación reticular medular (ventrolateral caudal) incluyendo a la zona *parvicellular* que integra tanto información gustativa como gastrointestinal. También manda información al NPB lateral y en menor cantidad a la ACe (prioritariamente región lateral y medial), conectándose de forma ipsilateral {Spray K. J. & Bernstein I. L., 2004}.

Tiene conexiones bilaterales con el núcleo hipotalámico dorsomedial, paraventricular y al área hipotalámica lateral importantes para la detección de un sabor aversivo {Helm K. A. *et al.* 2003}, {Spray K. J. & Bernstein I. L. 2004}.

Núcleo Parabraquial (NPB).

El NPB lateral recibe información visceral del NTS región caudal y de área postrema y la manda principalmente a la región ventroposterolateral del núcleo *parvicellular* del tálamo (VPLpc), complejo talámico intralaminar, zona inserta {Sakai N. & Yamamoto T. 1999}, hipotálamo paraventricular {resumido por Bermúdez-Rattoni F, *et al.* 2004b}, CI región agranular, ACe región lateral {McDonald A. J. 1999} e hipotálamo lateral {Reilly S. 1999} {Paxinos G. & Watson C. 1995}.

Núcleo Talámico.

El núcleo talámico dorsomedial y paraventricular lleva información a la CI región agranular y al núcleo talámico paraventricular. El núcleo paraventricular recibe aferencias del núcleo preóptico mediano y periventricular, ventromedial y del núcleo hipotalámico dorsomedial así como del área hipotalámica lateral.

Por otro lado, el tálamo ventroposterolateral obtiene información propioceptivas y viscerotópicas por una vía alterna al NTS y NPB, esta es por medio del sistema *Lemniscus* de la columna dorso medial, localizado en la lámina III y IV del asta dorsal, cuya función primordial es transmitir los impulsos somatosensoriales y vibratorios de la piel y víscera torácica y abdominal {Rong P. J. *et al.*, 2004}.

Zona Inserta.

La zona inserta, recibe proyecciones viscerotópicas del NPB lateral y las envía al complejo talámico intralaminar y este a su vez a la ABL {Groenewegen, H.J. & Berendse, H.W. 1994}. La zona inserta también tiene comunicación con hipotálamo lateral y región preóptica, áreas involucradas en la regulación de la sed y hambre.

Núcleo hipotalámico dorsomedial.

El núcleo hipotalámico dorsomedial, recibe información del NTS y del NPB. Contribuye al descenso de proyecciones al NPB, complejo vagal y corda espinal. Por otro lado, el área hipotalámica lateral, tiene proyecciones del NPB, área infralímbica y de la CI y manda al núcleo *accumbens* {Mehendale S. *et al.* 2004}.

Amígdala

El complejo amigdalino es componente indispensable para la evaluación de la información externa e interna del cuerpo; una vez que ha sido reconocida, la amígdala puede coordinar una respuesta conductual {Wright C. I. *et al.* 1996}.

La amígdala manda información al área hipotalámica lateral, NPB, médula ventrolateral y NTS, mayoritariamente a la región *parvicellular* y en menor proporción a la ventrolateral {Spray K. J. & Bernstein I. L., 2004}.

La ACE tiene conexiones con NTS, NPB, CI región agranular y el complejo talámico posterior intralaminar (zona inserta).

Las neuronas del núcleo central región lateral responden mayoritariamente a información cardiovascular, barorreceptor y visceral provenientes de la ínsula granular, disgranular visceral y agranular posterior y en menor medida la corteza periamigdalina y el núcleo basal accesorio {McDonald A. J. 1999}, {Paxinos G. & Watson C. 1995}.

La ABL recibe información viscerosensorial de CI, complejo talámico posterior intralaminar y del núcleo central de la amígdala.

La ABL tiene algunas pocas proyecciones al núcleo *accumbens* central región medial, el cual manda la información a la sustancia *nigra* región rostral, que la envía al tálamo medial y este a la corteza prelímbica, la cual puede controlar también la activación de centros autónomos de la médula oblonga y tallo cerebral. En cambio, la ABL accesoria (porción caudal), manda dicha información al núcleo *accumbens* medial, principalmente a la región laminar o periférica y subsecuentemente este lo envía al VTA lateral. Algunos otros subnúcleos de la ABL como el *magnocellular* y el *parvicellular* también mandan impulsos a núcleo *accumbens* prioritariamente al subnúcleo periférico y este proyecta a la PAG, al área extrapiramidal del cerebro anterior (MEA) y al VTA lateral, estructuras muy importantes en la coordinación del complejo motor y respuesta autónoma {Wright C. I. et al. 1996}.

Corteza insular.

La corteza insular agranular caudodorsal, recibe información visceral proveniente del tálamo ventroposterolateral, ACE, estría terminal y NPB que llevan la información visceral del NTS. Esta misma zona cortical está relacionada con la respuesta autónoma (respiratoria, cardiovascular y gastrointestinal), por ende tiene conexiones con PAG, hipotálamo lateral, corteza orbital ventrolateral y lateral, estriado, núcleo *pericoeruleus* y *subcoeruleus*.

Cabe hacer mención que las lesiones en CI no producen cambios en la sensibilidad gustativa ni gastrointestinal, pero si produce déficit en la adquisición y retención de aprendizajes de tareas gustativas, lo que sugiere que dicha corteza está más relacionada con la memoria gustativa y su repercusión gastrointestinal {Bures, J., Bermúdez-Rattoni F. & Yamamoto T., 1998}.

Vía visceral

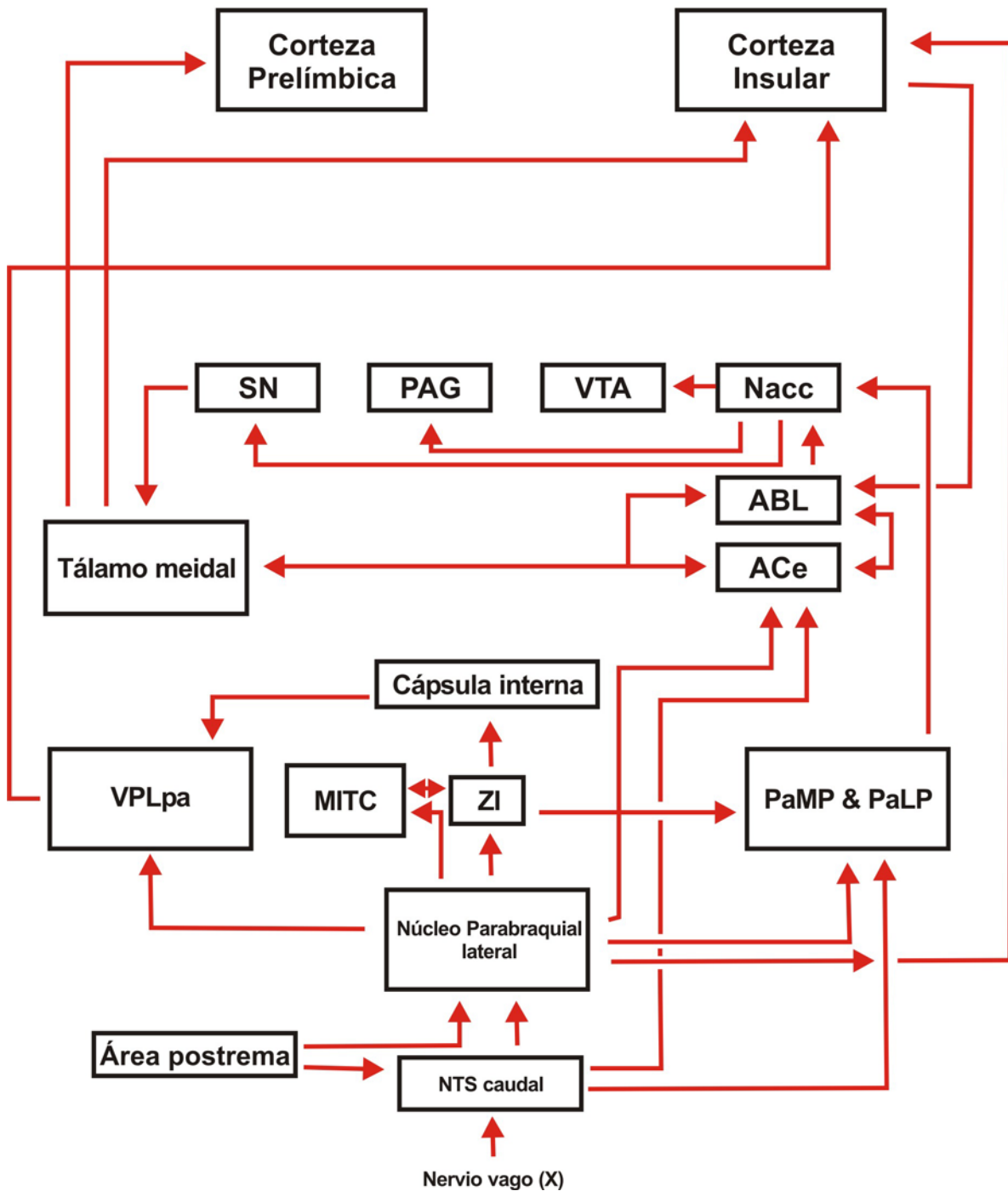


Figura 3. Gráfico que muestra las aferencias de la vía visceral.

Amígdala Basolateral (BLA), Amígdala Central (ACe), Área Ventral Tegmental (VTA), Materia Gris Periacueductal (PAG), Núcleo *Accumbens* (Nacc), Núcleo del Tracto Solitario (NTS), Núcleo Talámico Ventro Postero Lateral Paraventricular (PaLP), Substancia Nigra (SN).

8. REFERENCIAS.

1. Akirav I. NMDA Partial agonist reverses blocking of extinction of aversive memory by GABA(A) agonist in the amygdala. *Neuropsychopharmacology*. 2007 Mar;32(3):542-50
2. Albasanz J.L., Ros M., Martín M. Characterization of metabotropic glutamate receptors in rat C6 glioma cells *European Journal of Pharmacology* 326 1997.85-91
3. Andrews PL. & Sanger GJ. Abdominal vagal afferent neurones: an important target for the treatment of gastrointestinal dysfunction. *Curr Opin Pharmacol*. 2002 Dec;2(6):650-6
4. Aronica E., Gorter JA., Jansen GH., van Veelen CW., van Rijen PC., Ramkema M., Troost D. Expression and cell distribution of group I and group II metabotropic glutamate receptor subtypes in taylor-type focal cortical dysplasia. *Epilepsia*. 2003 Jun;44(6):785-95.
5. Azad S. C., Monory K., Marsicano G., Cravatt B. F., Lutz B., Zieglgänsberger W., & Rammes G. Circuitry for Associative Plasticity in the Amygdala Involves Endocannabinoid Signaling *Journal of Neuroscience*, 2004 24(44):9953-9961
6. Baird JP, Travers SP, Travers JB. Integration of gastric distension and gustatory responses in the parabrachial nucleus *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol* 2001 (281): R1581-R1593
7. Bao W.L., Williams A.J., Faden A.I., Tortella F.C. Selective mGluR5 receptor antagonist or agonist provides neuroprotection in a rat model of focal cerebral ischemia *Brain Research* 922 (2001) 173-179
8. Barbano MF, Cador M. Opioids for hedonic experience and dopamine to get ready for it. *Psychopharmacology (Berl)*. 2007 Apr; 191(3):497-506.
9. Barker G. R. I., Bashir Z. I., Brown M. W. & Warburton E. C. A temporally distinct role for group I and group II metabotropic glutamate receptors in object recognition memory *Learn. Mem.* 2006 13: 178-186
10. Bashir Z. I. On long-term depression induced by activation of G-protein coupled Receptors *Neuroscience Research* 45 (2003) 363-367
11. Baude A, Nusser Z, Roberts JD, Mulvihill E, McIlhinney RA, Somogyi P. The metabotropic glutamate receptor (mGluR1a) is concentrated at perisynaptic membrane of neuronal subpopulations as detected by immunogold reaction. *Neuron* 1993;11:771-787
12. Benquet P, Gee CE, Gerber U. Two distinct signaling pathways upregulate NMDA receptor responses via two distinct metabotropic glutamate receptor subtypes. *J Neurosci*. 2002 Nov 15;22(22):9679-86
13. Berman DE, Hazvi S, Neduva V, Dudai Y. The role of identified neurotransmitter systems in the response of insular cortex to unfamiliar taste: activation of ERK1-2 and formation of a memory trace. *J Neurosci*. 2000 Sep 15;20(18):7017-23
14. Berman DE, Hazvi S, Rosenblum K, Seger R, Dudai Y. Specific and differential activation of mitogen-activated protein kinase cascades by unfamiliar taste in the insular cortex of the behaving rat. *J Neurosci*. 1998 Dec 1;18(23):10037-44
15. Bermúdez-Rattoni F & Prado A. R. Memoria, dónde reside y cómo se forma. 2001 Trillas México.
16. Bermúdez-Rattoni F, Ramírez-Lugo L, Gutiérrez R, Miranda MI. Molecular signals into the insular cortex and amygdala during aversive gustatory memory formation. *Cell Mol Neurobiol*. 2004b Feb;24(1):25-36
17. Bermúdez-Rattoni F. Molecular mechanisms of taste-recognition memory. *Nat Rev Neurosci*. 2004a Mar;5(3):209-17
18. Best A. R., Thompson J. V., Fletcher M.L. & Wilson D. A. Cortical metabotropic glutamate receptors contribute to habituation of a simple odor-evoked behavior. *Journal of Neuroscience* 2005 25(10):2513-2517

19. Bills C, Schachtman TR, Serfozo P, Spooren WP, Gasparini F, Simonyi A. Effects of metabotropic glutamate receptor 5 on latent inhibition in conditioned taste aversion. *Behav Brain Res.* 2005 Feb 10;157(1):71-8
20. Block F. & Kosinski CM. Glutamate antagonists in neurology. *Nervenarzt.* 2001 Jun;72(6):393-405
21. Bordi F. & Ugolini A. Group I Metabotropic Glutamate Receptors: Implications for Brain Diseases. *Progress in Neurobiology* 1999 (59): 55 – 79
22. Brailowsky, Simón (2002). *Las sustancias de los sueños: neuropsicofarmacología* 3a Ed. Fondo de Cultura Económica. México D.F.
23. Brog JS, Salyapongse A, Deutch AY, Zahm DS. The patterns of afferent innervation of the core and shell in the "accumbens" part of the rat ventral striatum: immunohistochemical detection of retrogradely transported fluoro-gold. *J Comp Neurol.* 1993 Dec 8;338(2):255-78
24. Brusca R. C. & Brusca G. J., (2005). *Invertebrados* 2a Ed. McGraw-Hill/Interamericana. España Pp. 5
25. Bures J, Fenton AA, Kaminsky Y & Zinyuk L. Place cells and place navigation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997 Jan 7;94(1):343-50
26. Bures, J., Bermúdez-Rattoni F. & Yamamoto T. (1998) *Conditional Taste Aversión* Oxford Psychology Series No. 31 Oxford University Press USA
27. Buresová O & Bures J. The effect of anesthesia on acquisition and extinction of conditioned taste aversion. *Behav Biol.* 1977 May;20(1):41-50.
28. Burighel P, Lane NJ, Fabio G, Stefano T, Zaniolo G, Carnevali MD, Manni L. Novel, secondary sensory cell organ in ascidians: in search of the ancestor of the vertebrate lateral line. *J Comp Neurol.* 2003 Jun 23;461(2):236-49. Erratum in: *J Comp Neurol.* 2003 Sep 8;464(1):114
29. Cain DP. LTP, NMDA, genes and learning. *Curr Opin Neurobiol.* 1997 Apr;7(2):235-42
30. Cartmell J, Schoepp DD. Regulation of neurotransmitter release by metabotropic glutamate receptors. *J Neurochem.* 2000 Sep;75(3):889-907
31. Cechetto DF, Saper CB. Evidence for a viscerotopic sensory representation in the cortex and thalamus in the rat. *J Comp Neurol.* 1987 Aug 1;262(1):27-45.
32. Conn PJ. & Pin JP. Pharmacology and functions of metabotropic glutamate receptors. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 1997;37:205-37
33. Cortelli P, Pierangeli G. Chronic pain-autonomic interactions. *Neurol Sci.* 2003 May;24 Suppl 2:S68-70
34. Csillag A. (2005) *Atlas of the Sensory Organs Functional and Clinical Anatomy.* In Andrea D. Székely & András Csillag (eds), *A The Organ of Taste.* Ed Humana Press Inc. Pp 187-198
35. Cull-Candy S, Brickley S, Farrant M. NMDA receptor subunits: diversity, development and disease. *Curr Opin Neurobiol.* 2001 Jun;11(3):327-35
36. Davis S., Butcher S. P., and Morris R. G. M. The NMDA Receptor Antagonist *D-2-amino-phosphonopentanoate* (D-AP5) Impairs Spatial Learning and LTP in vivo at Intracerebral Concentrations Comparable to Those that Block LTP in vitro *Journal of Neuroscience,* 1992, 12(1): 21-34
37. de Araujo IE, Rolls ET, Kringelbach ML, McGlone F, Phillips N. Taste-olfactory convergence, and the representation of the pleasantness of flavour, in the human brain. *Eur J Neurosci.* 2003 Oct;18(7):2059-68
38. de la Torre-Vacas L, Agüero-Zapata A. The neural bases of taste aversion learning: the formation of acquired hedonic taste representations. *Rev Neurol.* 2006 Jul 1-15;43(1):25-31
39. De Vry J, Eckel G, Kuhl E, Schreiber R. Effects of serotonin 5-HT(1) and 5-HT(2) receptor agonists in a conditioned taste aversion paradigm in the rat. *Pharmacol Biochem Behav.* 2000 Aug;66(4):797-802.
40. Desmedt A, Hazvi S, Dudai Y. Differential pattern of cAMP response element-binding protein activation in the rat brain after conditioned aversion as a function of the associative process engaged: taste versus context association. *J Neurosci.* 2003 Jul 9;23(14):6102-10

41. Dobzhansky, T. 1970, Genetics of the Evolutionary Process, Columbia University Press, New York
42. Dong HW, Swanson LW. Organization of axonal projections from the anterolateral area of the bed nuclei of the stria terminalis. *J Comp Neurol.* 2004 Jan 6;468(2):277-98
43. Eckert MJ, Racine RJ. Metabotropic glutamate receptors contribute to neocortical synaptic plasticity in vivo. *Neuroreport.* 2004 Dec 3;15(17):2685-9
44. Escobar ML, Alcocer I, Bermúdez-Rattoni F. In vivo effects of intracortical administration of NMDA and metabotropic glutamate receptors antagonists on neocortical long-term potentiation and conditioned taste aversion. *Behav Brain Res.* 2002 Feb 1;129(1-2):101-6
45. Escobar ML, Alcocer I, Chao V. The NMDA receptor antagonist CPP impairs conditioned taste aversion and insular cortex long-term potentiation in vivo. *Brain Research* 812(1998):246-251
46. Fagni L, Ango F, Perroy J, Bockaert J. Identification and functional roles of metabotropic glutamate receptor-interacting proteins. *Semin Cell Dev Biol.* 2004 Jun;15(3):289-98
47. Fenu S, Bassareo V, Di Chiara G. A role for dopamine D1 receptors of the nucleus accumbens shell in conditioned taste aversion learning. *J Neurosci.* 2001 Sep 1;21(17):6897-904.
48. Ferreira G., Gutiérrez R., De la Cruz V. & Bermúdez-Rattoni F. Differential involvement of cortical muscarinic and NMDA receptors in short- and long-term taste aversion memory *European Journal of Neuroscience*, 2002 (16):1139-1145
49. Ferry B, McGaugh JL. Clenbuterol administration into the basolateral amygdala post-training enhances retention in an inhibitory avoidance task. *Neurobiol Learn Mem.* 1999 Jul;72(1):8-12
50. Fiorillo CD. & Williams JT. Glutamate mediates an inhibitory postsynaptic potential in dopamine neurons. *Nature.* 1998 Jul 2;394(6688):78-82
51. Francesconi W., Cammalleri M., Sanna P. P. The metabotropic glutamate receptor 5 is necessary for late-phase long-term potentiation in the hippocampal CA1 region *Brain Research* 1022 (2004) 12-18
52. Frodden E. E. 1985 *Texto de Anatomía del Sistema Nervioso Central* Ed. Oteo México D.F. Ciudad Universitaria
53. Gallagher M, McMahan RW, Schoenbaum G. Orbitofrontal cortex and representation of incentive value in associative learning. *J Neurosci.* 1999 Aug 1;19(15):6610-4
54. Gerber U, Gee CE & Benquet P. Metabotropic glutamate receptors: intracellular signaling pathways. *Curr Opin Pharmacol.* 2007 Feb;7(1):56-61
55. Geurts J. J. G., Wolswijk G., Bö L., van der Valk P., Polman C. H., Troost D. and Aronica E. Altered expression patterns of group I and II metabotropic glutamate receptors in multiple sclerosis *Brain.* 2003 Aug;126(Pt 8):1755-66.
56. Gorzalka B, Hanson L, Harrington J, Killam S, Campbell-Meiklejohn D. Conditioned taste aversion: modulation by 5-HT receptor activity and corticosterone. *Eur J Pharmacol.* 2003 Jun 20;471(2):129-34
57. Goto M & Swanson LW. Axonal projections from the paraventricular nucleus. *J Comp Neurol.* 2004 Feb 16;469(4):581-607
58. Gravius A, Pietraszek M, Schafer D, Schmidt WJ, Danysz W. Effects of mGlu1 and mGlu5 receptor antagonists on negatively reinforced learning. *Behav Pharmacol.* 2005 Mar;16(2):113-21.
59. Groenewegen, H.J., Berendse, H.W. The specificity of nonspecific midline and intralaminar thalamic nuclei. *Trend Neuroscience* 1994 (17): 52-57
60. Gubellini P., Saule E Centonze D., Costa C. Tropepi D. Bernardi G. Conquet F. Calabresi P. Corticostriatal LTP requires combined mGluR1 and mGluR5 activation *Neuropharmacology* 44 (2003) 8-16
61. Gutiérrez H, Hernandez-Echeagaray E, Ramirez-Amaya V, Bermudez-Rattoni F. Blockade of N-methyl-D-aspartate receptors in the insular cortex disrupts taste aversion and spatial memory formation. *Neuroscience.* 1999 Mar;89(3):751-8

62. Gutiérrez R, Rodríguez-Ortiz CJ, De La Cruz V, Núñez-Jaramillo L, Bermudez-Rattoni F. Cholinergic dependence of taste memory formation: evidence of two distinct processes. *Neurobiol Learn Mem.* 2003b Nov;80(3):323-31
63. Gutiérrez R, Téllez LA, Bermúdez-Rattoni F. Blockade of cortical muscarinic but not NMDA receptors prevents a novel taste from becoming familiar. *Eur J Neurosci.* 2003a Apr;17(8):1556-62
64. Hannan AJ, Blakemore C, Katsnelson A, Vitalis T, Huber KM, Bear M, Roder J, Kim D, Shin HS, Kind PC. PLC-beta1, activated via mGluRs, mediates activity-dependent differentiation in cerebral cortex. *Nat Neurosci.* 2001 Mar;4(3):282-8
65. Harney S. C., Rowan M., & Anwyl R. Long-Term Depression of NMDA Receptor-Mediated Synaptic Transmission Is Dependent on Activation of Metabotropic Glutamate Receptors and Is Altered to Long-Term Potentiation by Low Intracellular Calcium Buffering *Journal of Neuroscience*, January 25, 2006 • 26(4):1128–1132
66. Hatfield T, McGaugh JL. Norepinephrine infused into the basolateral amygdala posttraining enhances retention in a spatial water maze task. *Neurobiol Learn Mem.* 1999 Mar;71(2):232-9
67. Helm KA, Rada P, Hoebel BG. Cholecystokinin combined with serotonin in the hypothalamus limits accumbens dopamine release while increasing acetylcholine: a possible satiation mechanism. *Brain Res.* 2003 Feb 14;963(1-2):290-7
68. Hermans E, Saunders R, Selkirk JV, Mistry R, Nahorski SR, Challiss RA. Complex involvement of pertussis toxin-sensitive G proteins in the regulation of type 1alpha metabotropic glutamate receptor signaling in baby hamster kidney cells *Mol Pharmacol.* 2000 Aug;58(2):352-60
69. Hermans E. & Challiss RA. Structural, signalling and regulatory properties of the group I metabotropic glutamate receptors: prototypic family C G-protein-coupled receptors *Biochem J.* 2001 Nov 1;359:465-84
70. Hodges JR, Graham KS. Episodic memory: insights from semantic dementia. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2001 Sep 29;356(1413):1423-34.
71. Homayoun H. and Moghaddam B. Bursting of prefrontal cortex neurons in awake rats is regulated by metabotropic glutamate 5 (mGlu5) receptors: rate-dependent influence and interaction with NMDA receptors. *Cereb Cortex.* 2006 Jan;16(1):93-105
72. Hornigold DC, Mistry R, Raymond PD, Blank JL, Challiss RA. Evidence for cross-talk between M₂ and M₃ muscarinic acetylcholine receptors in the regulation of second messenger and extracellular signal-regulated kinase signalling pathways in Chinese hamster ovary cells. *Br J Pharmacol.* 2003 Apr;138(7):1340-50
73. Jacobson LH, Kelly PH, Bettler B, Kaupmann K, Cryan JF. GABA(B(1)) receptor isoforms differentially mediate the acquisition and extinction of aversive taste memories. *J Neurosci.* 2006 Aug 23;26(34):8800-3
74. James P. Taste and Smell: from Molecular Biology to Behaviour *Nutrition Reviews*; Nov 2004; 62, 11; Health Module
75. Jung HS, Akita K & Kim JY. Spacing patterns on tongue surface-gustatory papilla. *Int J Dev Biol.* 2004;48(2-3):157-61
76. Kandel E. R., Schwartz J. H. & Jessell T. M. (1991) *Principles of Neural Science* 3rd Ed. Prentice Hall USA
77. Karimnamazi H., Travers S. P., Travers J. B. Oral and gastric input to the parabrachial nucleus of the rat *Brain Research* 2002 (957): 193–206
78. Kelley A. E. Ventral striatal control of appetitive motivation: role in ingestive behavior and reward-related learning *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 27 (2004) 765–776
79. Kenny PJ & Markou A. The ups and downs of addiction: role of metabotropic glutamate receptors. *Trends Pharmacol Sci.* 2004 May;25(5):265-72.
80. Kesner RP. & Rogers J. An analysis of independence and interactions of brain substrates that subserve multiple attributes, memory systems, and underlying processes. *Neurobiol Learn Mem.* 2004 Nov;82(3):199-215
81. Kirouac G. J. & Ciriello J. Medullary inputs to nucleus accumbens neurons *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 1997 273:2080-2088

82. Kitchener SJ, Dourish CT. An examination of the behavioural specificity of hypophagia induced by 5-HT1B, 5-HT1C and 5-HT2 receptor agonists using the post-prandial satiety sequence in rats. *Psychopharmacology (Berl)*. 1994 Jan;113(3-4):369-77
83. Koh MT, Clarke SN, Spray KJ, Thiele TE, Bernstein IL. Conditioned taste aversion memory and c-Fos induction are disrupted in RIIbeta-protein kinase A mutant mice. *Behav Brain Res*. 2003 Jul 14;143(1):57-63
84. Krauss G. (2003) *Biochemistry of Signal Transduction and Regulation*. 3rd Edition. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim. Germany
85. Lam HM, Chiu J, Hsieh MH, Meisel L, Oliveira IC, Shin M, Coruzzi G. Glutamate-receptor genes in plants. *Nature*. 1998 Nov 12;396(6707):125-6
86. Laviolette S. R. & van der Kooy D. The neurobiology of nicotine addiction: Bridging the gap from the molecules to behaviour *Nat Rev Neurosci*. 2004 Jan;5(1):55-65.
87. Lavreysen H, Pereira SN, Leysen JE, Langlois X, Lesage AS. Metabotropic glutamate 1 receptor distribution and occupancy in the rat brain: a quantitative autoradiographic study using [3H]R214127. *Neuropharmacology*. 2004 Apr;46(5):609-19.
88. Lechner H. A., Squire L. R., & Byrne J.H. 100 Years of Consolidation—Remembering Müller and Pilzecker *Learning & Memory* 1999 (6):77–87
89. Luján R, Nusser Z, Roberts JDB, Shigemoto R, Somogyi P. Perisynaptic location of metabotropic glutamate receptors mGluR1 and mGluR5 on dendrites and dendritic spines in the rat hippocampus. *Eur J Neurosci* 1996;8:1488-500
90. Lyeth BG, Gong QZ, Shields S, Muizelaar JP, Berman RF. Group I Metabotropic Glutamate Antagonist Reduces Acute Neuronal Degeneration and Behavioral Deficits after Traumatic Brain Injury in Rats. *Exp Neurol*. 2001 May;169(1):191-9.
91. Maciejak P, Taracha E, Lehner M, Szyndler J, Bidziński A, Skórzewska A, Wisłowska A, Zienowicz M, Płażnik A. Hippocampal mGluR1 and consolidation of contextual fear conditioning. *Brain Res Bull*. 2003 Nov 15;62(1):39-45
92. Mao L. & Wang JQ. Interactions between ionotropic and metabotropic glutamate receptors regulate cAMP response element-binding protein phosphorylation in cultured striatal neurons. *Neuroscience*. 2002;115(2):395-402
93. McCaughey SA. & Scott TR. The taste of sodium. *Neurosci Biobehav Rev*. 1998 Sep;22(5):663-76
94. McDonald A. J. Cortical Pathways to the Mammalian Amygdala. *Progress in Neurobiology* 55 (1999): 257– 332
95. Mehendale S, Xie JT, Aung HH, Guan XF, Yuan CS. Nucleus accumbens receives gastric vagal inputs. *Acta Pharmacol Sin*. 2004 Mar;25(3):271-5
96. Michael P. Saddoris, Barry Setlow, Michela Gallagher, Peter C. Holland, and Geoffrey Schoenbaum Different Roles for Orbitofrontal Cortex and Basolateral Amygdala in a Reinforcer Devaluation Task *The Journal of Neuroscience*, December 3, 2003 23(35):11078 –11084
97. Milner B., Squire L. R. & Kandel E. R. *Cognitive Neuroscience and the Study of Memory* *Neuron* 1998 (20):445-468
98. Miranda MI, Bermúdez-Rattoni F. Reversible inactivation of the nucleus basalis magnocellularis induces disruption of cortical acetylcholine release and acquisition, but not retrieval, of aversive memories. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999 May 25;96(11):6478-82
99. Miranda MI, Ferreira G, Ramirez-Lugo L, Bermudez-Rattoni F. Glutamatergic activity in the amygdala signals visceral input during taste memory formation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002 Aug 20;99(17):11417-22. Epub 2002 Aug 7.
100. Miranda MI, LaLumiere RT, Buen TV, Bermudez-Rattoni F, McGaugh JL. Blockade of noradrenergic receptors in the basolateral amygdala impairs taste memory. *Eur J Neurosci*. 2003 Nov;18(9):2605-10
101. Miranda MI, McGaugh JL. Enhancement of inhibitory avoidance and conditioned taste aversion memory with insular cortex infusions of 8-Br-cAMP: involvement of the basolateral amygdala. *Learn Mem*. 2004 May-Jun;11(3):312-7
102. Miranda MI, Ramirez-Lugo L, Bermúdez-Rattoni F. Cortical cholinergic activity is related to the novelty of the stimulus. *Brain Res*. 2000 Nov 3;882(1-2):230-5

103. Miranda MI, Rodríguez-García G, Reyes-López JV, Ferry B, Ferreira G. Differential effects of beta-adrenergic receptor blockade in basolateral amygdala or insular cortex on incidental and associative taste learning. *Neurobiol Learn Mem.* 2008 Jul;90(1):54-61
104. Miura M., Watanabe M., Offermanns S., Simon M. I., & Kano M. Group I Metabotropic Glutamate Receptor Signaling via G_q/G₁₁ Secures the Induction of Long-Term Potentiation in the Hippocampal Area CA1 *Journal of Neuroscience*, October 1, 2002, 22(19):8379–8390
105. Mogenson GJ, Swanson LW, Wu M. Neural projections from nucleus accumbens to *globus pallidus*, *substantia innominata*, and lateral preoptic-lateral hypothalamic area: an anatomical and electrophysiological investigation in the rat. *J Neurosci* 1983;3(1):189-202
106. Moghaddam B. Targeting metabotropic glutamate receptors for treatment of the cognitive symptoms of schizophrenia. *Psychopharmacology* (2004) 174:39–44
107. Morris S.H., Knevet S., Lerner E. G. & Bindman L. J. Group I mGluR Agonist DHPG Facilitates the Induction of LTP in Rat Prelimbic Cortex In Vitro *J Neurophysiol.* 1999 82(4):1927-33
108. Muly EC, Maddox M, Smith Y. Distribution of mGluR1alpha and mGluR5 immunolabeling in primate prefrontal cortex. *J Comp Neurol.* 2003 Dec 22;467(4):521-35.
109. Nachman M. & Jones D. R. Learned taste aversions over long delays in rats: the role of learned safety. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 1974, 86(5):949-956
110. Northcutt RG. Taste buds: development and evolution. *Brain Behav Evol.* 2004;64(3):198-206
111. Núñez-Jaramillo L, Delint-Ramirez I. & Bermúdez-Rattoni F. PKC blockade differentially affects aversive but not appetitive gustatory memories. *Brain Res.* 2007 May 7;1148:177-82
112. Pałucha A. & Pilc A. On the Role of Metabotropic Glutamate Receptor in the mechanism of Action of Antidepressants. *Polish Journal of Pharmacology* 2002, 54:581-586
113. Paxinos G. & Watson C. (1995) *The Rat Nervous System*; Ralph Norgren Chapter 29 Gustatory System. 2nd Ed. San Diego: Academic Press Pp 751-767
114. Paxinos G. & Watson C. (1998) *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. 2nd Ed. San Diego: Academic Press
115. Phillips A. G. , Ahn S. & Howland J. G. Amygdalar control of the mesocorticolimbic dopamine system: parallel pathways to motivated behavior *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 27(6) 2003: 493-579
116. Picciotto Marina R., Caldarone Barbara J., King Sarah L. and Zachariou Venetia. Nicotinic Receptors in the Brain: Links between Molecular Biology and Behavior *Neuropsychopharmacology* 2000 22(5):451-465
117. Pickens CL, Saddoris MP, Setlow B, Gallagher M, Holland PC, Schoenbaum G. Different roles for orbitofrontal cortex and basolateral amygdala in a reinforcer devaluation task. *J Neurosci.* 2003 Dec 3;23(35):11078-84
118. Porter A. C., Bymaster F. P., DeLapp N. W., Yamada M., Wess J., Hamilton S. E., Nathanson N. M., Felder C. C. M 1 muscarinic receptor signaling in mouse hippocampus and cortex. *Brain Res.* 2002 Jul 19;944(1-2):82-9.
119. Ramírez-Lugo L, Miranda MI, Escobar ML, Espinosa E, Bermúdez-Rattoni F. The role of cortical cholinergic pre- and post-synaptic receptors in taste memory formation. *Neurobiol Learn Mem.* 2003 Mar;79(2):184-93
120. Ramírez-Lugo L, Zavala-Vega S, & Bermúdez-Rattoni F. NMDA and muscarinic receptors of the nucleus accumbens have differential effects on taste memory formation. *Learn Mem.* 2006 Jan-Feb;13(1):45-51
121. Ranganath C, Rainer G. Neural Mechanisms for detecting and remembering novel events. *Nat. Rev. Neurosci.* 2003 Mar;4(3):193-202.
122. Ray JP, Price JL. The organization of the thalamocortical connections of the mediodorsal thalamic nucleus in the rat, related to the ventral forebrain-prefrontal cortex topography. *J Comp Neurol.* 1992 Sep 8;323(2):167-97

123. Reilly S. The parabrachial nucleus and conditioned taste aversion. *Brain Res Bull.* 1999 Feb;48(3):239-54
124. Riedel G, Wetzel W & Reymann K G Metabotropic glutamate receptors in spatial and nonspatial learning in rats studied by means of agonist and antagonist application. *Learn. Mem.* 1995 2: 243-265
125. Riedel G., Platt B, Micheau J. Glutamate receptor function in learning and memory. *Behav Brain Res.* 2003 Mar 18;140(1-2):1-47
126. Rodrigues S. M., Bauer E. P., Farb C. R., Schafe G. E., & LeDoux J. E. The Group I Metabotropic Glutamate Receptor mGluR5 Is Required for Fear Memory Formation and Long-Term Potentiation in the Lateral Amygdala *Journal of Neuroscience*, 2002, 22(12):5219–5229
127. Rodriguez-Ortiz C. J., De la Cruz V., Gutiérrez R. & Bermudez-Rattoni F. Protein synthesis underlies post-retrieval memory consolidation to a restricted degree only when updated information is obtained *Learn Mem.* 2005 Sep-Oct;12(5):533-7
128. Rolls E.T. The functions of the orbitofrontal cortex. *Brain and Cognition* 2004 (55): 11 – 29
129. Rolls E.T. The orbitofrontal cortex and reward, *Cereb. Cortex* 10 (2000) 284–294
130. Rong PJ, Zhang JL, Zhang HQ. Interactions between tactile and noxious visceral inputs in rat nucleus gracilis. *Neurosci Lett.* 2004 May 20;362(2):162-5
131. Rosenblum K, Berman DE, Hazvi S, Lamprecht R, Dudai Y. NMDA receptor and the tyrosine phosphorylation of its 2B subunit in taste learning in the rat insular cortex. *J Neurosci.* 1997 Jul 1;17(13):5129-35
132. Rosenblum K, Meiri N, Dudai Y. Taste memory: the role of protein synthesis in gustatory cortex. *Behav Neural Biol.* 1993 Jan;59(1):49-56
133. Rosenblum K, Schul R, Meiri N, Hadari YR, Zick Y, Dudai Y. Modulation of protein tyrosine phosphorylation in rat insular cortex after conditioned taste aversion training. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1995 Feb 14;92(4):1157-61
134. Sakai N. & Yamamoto T. Possible routes of visceral information in the rat brain in formation of conditioned taste aversion. *Neurosci Res.* 1999 Oct;35(1):53-61
135. Saper C. B. The Central Autonomic Nervous System: Conscious Visceral Perception and Autonomic Pattern Generation. *Ann. Rev. Neurosci.* 2002 25:433-469
136. Schachtman TR, Bills C, Ghinescu R, Murch K, Serfozo P, Simonyi A. MPEP, a selective metabotropic glutamate receptor 5 antagonist, attenuates conditioned taste aversion in rats. *Behav Brain Res.* 2003 May 15;141(2):177-82
137. Schacter DL. & Buckner RL. Priming and the brain. *Neuron.* 1998 Feb;20(2):185-95
138. Schoepp Darryle D. Unveiling the Functions of Presynaptic Metabotropic Glutamate Receptors in the Central Nervous System *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 299:12–20, 2001
139. Schulz B, Fendt M, Gasparini F, Lingenhohl K, Kuhn R & Koch M. The metabotropic glutamate receptor antagonist 2-methyl-6-(phenylethynyl)-pyridine (MPEP) blocks fear conditioning in rats. *Neuropharmacology* 41, 1–7 (2001)
140. Selkirk JV, Price GW, Nahorski SR, Challiss RA. Cell type-specific differences in the coupling of recombinant mGlu1alpha receptors to endogenous G protein subpopulations. *Neuropharmacology.* 2001 Apr;40(5):645-56
141. Senkowska A., Ossowska K. Role of metabotropic glutamate receptors in animal models of Parkinson's disease. *Polish Journal of Pharmacology* 2003, 55, 935–950
142. Sewards TV. & Sewards MA. Representations of motivational drives in mesial cortex, medial thalamus, hypothalamus and midbrain. *Brain Research Bulletin.* 2003 30;61(1):25-49.
143. Sewards TV. Dual separate pathways for sensory and hedonic aspects of taste *Brain Res Bull.* 2004 Jan 15;62(4):271-83
144. Siegel J. George Basic Neurochemistry: molecular, cellular and mediacal aspects 5th ed. 1994 Raven Press New York.
145. Simon SA, de Araujo IE, Gutierrez R, Nicolelis MA. The neural mechanisms of gustation: a distributed processing code. *Nat Rev Neurosci.* 2006 Nov;7(11):890-901
146. Simon SA. & Roper SD. Mechanisms of taste transduction CRC 1993 press Florida USA

147. Smith H. M. 1960 Evolution of Chordate Structure Ed Holt, Rinehart & Winston INC, USA
148. Spray KJ, Bernstein IL. Afferent and efferent connections of the parvicellular subdivision of iNTS: defining a circuit involved in taste aversion learning. Behav Brain Res. 2004 Sep 23;154(1):85-97
149. Squire L. R. & Zola S. M. Amnesia, memory and brain systems Phil.Trans. R. Soc. Lond. B (1997) 352, 1663-1673
150. Squire L. R. & Zola S. M. Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93 (1996): 13515–13522
151. Squire LR. Memory systems of the brain: a brief history and current perspective. Neurobiol Learn Mem. 2004 Nov;82(3):171-7.
152. Staubli Ursula, Rogers Gary, AND Lynch Gary Facilitation of glutamate receptors enhances memory Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91 (1994): 777-781
153. Stefan Bleich, Römer Konstanze, Wiltfang Jens and Kornhuber Johannes Glutamate and the glutamate receptor system: a target for drug actino International Journal of Geriatric Psychiatry 18 (2003): S33–S40.
154. Swank MW, Sweatt JD. Increased histone acetyltransferase and lysine acetyltransferase activity and biphasic activation of the ERK/RSK cascade in insular cortex during novel taste learning. J Neurosci. 2001 May 15;21(10):3383-91
155. Swanson CJ, Bures M, Johnson MP, Linden AM, Monn JA, Schoepp DD. Metabotropic glutamate receptors as novel targets for anxiety and stress disorders. Nat Rev Drug Discov. 2005 Feb;4(2):131-44
156. Tan Y., Hori N., & Carpenter D. O. The Mechanism of Presynaptic Long-Term Depression Mediated by Group I Metabotropic Glutamate Receptors *Cellular and Molecular Neurobiology*,. 2003 2 (2):187-203
157. Teff KL & Mattes RD. Vagal circuitry mediating cephalic-phase responses to food. El apetoito 2000 (34): 184-188
158. Trifilieff P, Herry C, Vanhoutte P, Caboche J, Desmedt A, Riedel G, Mons N, Micheau J. Foreground contextual fear memory consolidation requires two independent phases of hippocampal ERK/CREB activation. Learn Mem. 2006 May-Jun;13(3):349-58
159. Tu JC, Xiao B, Yuan JP, Lanahan AA, Loeffert K, Li M, et al. Homer binds a novel proline-rich motif and links group 1 metabotropic glutamate receptors with IP3 receptors. Neuron 1998;21:717–26
160. Valenti O, Conn PJ, Marino MJ. Distinct physiological roles of the Gq-coupled metabotropic glutamate receptors Co-expressed in the same neuronal populations. J Cell Physiol. 2002 May;191(2):125-37
161. van Berckel BN, Kegeles LS, Waterhouse R, Guo N, Hwang DR, Huang Y, Narendran R, Van Heertum R, Laruelle M. Modulation of amphetamine-induced dopamine release by group II metabotropic glutamate receptor agonist LY354740 in non-human primates studied with positron emission tomography. Neuropsychopharmacology. 2006 May;31(5):967-77
162. VanderWeele DA, Dess NK, Castonguay TW. Ingestional responses to metabolic challenges in rats selectively bred for high and low saccharin intake Physiology & Behavior 75 (2002) 97– 104
163. Vassilatis DK, Hohmann JG, Zeng H, Li F, Ranchalis JE, Mortrud MT, Brown A, Rodriguez SS, Weller JR, Wright AC, Bergmann JE, Gaitanaris GA. The G protein-coupled receptor repertoires of human and mouse. Proc Natl Acad Sci U S A. 2003 Apr 15;100(8):4903-8.
164. Vermeij G. J. The Evolutionary Interaction Among Species: Selection, Escalation, and Coevolution Annual Review of Ecol. Syst. 1994 25:219-236
165. Vianna Monica R.M., Alonso Mariana, Viola Haydee, Quevedo Joao, Paris Fernanda de, Furman Melina, Levi de Stein Miguelina, Medina Jorge H. and Izquierdo Ivan Role of Hippocampal Signaling Pathways in Long-Term Memory Formation of a Nonassociative Learning Task in the Rat Learning & Memory 2000 7: 333-340
166. Wang C, Mullet MA, Glass MJ, Billington CJ, Levine AS, Kotz CM. Feeding inhibition by urocortin in the rat hypothalamic paraventricular nucleus. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2001 Feb;280(2):R473-80

167. Wegener G, Volke V, Bandpey Z, Rosenberg R. Nitric oxide modulates lithium-induced conditioned taste aversion. *Behav Brain Res.* 2001 Jan 29;118(2):195-200.
168. Welzl H., D'Adamo P. & Lipp H-P. Conditioned taste aversion as a learning and memory paradigm. *Behav. Brain Res.* 2001, 125: 205–213
169. Wiggs CL, Martin A. Properties and mechanisms of perceptual priming. *Curr Opin Neurobiol.* 1998 Apr;8(2):227-33
170. Wright CI, Beijer AV, Groenewegen HJ. Basal amygdaloid complex afferents to the rat nucleus accumbens are compartmentally organized. *J Neurosci.* 1996 Mar 1;16(5):1877-93
171. Yamamoto T, Matsuo R, Kiyomitsu Y, Kitamura R. Sensory inputs from the oral region to the cerebral cortex in behaving rats: an analysis of unit responses in cortical somatosensory and taste areas during ingestive behavior. *J Neurophysiol.* 1988 Oct;60(4):1303-21
172. Yamamoto T, Matsuo R, Kiyomitsu Y, Kitamura R. Taste responses of cortical neurons in freely ingesting rats. *J Neurophysiol.* 1989 Jun;61(6):1244-58.
173. Yamamoto T, Nagai T, Shimura T, Yasoshima Y. Roles of chemical mediators in the taste system. *Jpn J Pharmacol.* 1998 Apr;76(4):325-48
174. Yamamoto T, Yuyama N. On a neural mechanism for cortical processing of taste quality in the rat. *Brain Res.* 1987 Jan 6;400(2):312-20
175. Yamamoto T. Cortical organization in gustatory perception. *Ann N Y Acad Sci.* 1987;510:49-54
176. Yasoshima Y, Morimoto T & Yamamoto T. Different disruptive effects on the acquisition and expression of conditioned taste aversion by blockades of amygdalar ionotropic and metabotropic glutamatergic receptor subtypes in rats. *Brain Res.* 2000 Jun 30;869(1-2):15-24
177. Yasoshima Y, Yamamoto T, Kobayashi K. Amygdala-dependent mechanisms underlying memory retrieval of conditioned taste aversion. *Chem Senses.* 2005 Jan;30 Suppl 1:i158-9
178. Yasoshima Y., Sako N., Senba E. & Yamamoto T. Acute suppression, but not chronic genetic deficiency, of c-fos gene expression impairs long-term memory in aversive taste learning. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006 May 2;103(18):7106-11
179. Zach P, Krivanek J, Vales K. Serotonin and dopamine in the parabrachial nucleus of rats during conditioned taste aversion learning. *Behav Brain Res.* 2006 Jun 30;170(2):271-6
180. Zhao W, Bianchi R, Wang M, Wong RK. Extracellular signal-regulated kinase 1/2 is required for the induction of group I metabotropic glutamate receptor-mediated epileptiform discharges. *J Neurosci.* 2004 Jan 7;24(1):76-84
181. Zito KA, Bechara A, Greenwood C, van der Kooy D. The dopamine innervation of the visceral cortex mediates the aversive effects of opiates. *Pharmacol Biochem Behav.* 1988 Jul;30(3):693-9