



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO
PROGRAMA DE DOCTORADO DE CIENCIAS BIOMÉDICAS
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

**LA FUNCIÓN DE LA ACTIVIDAD GLUTAMATÉRGICA EN LA CORTEZA
INSULAR DURANTE LA FORMACION DE LA MEMORIA:
REGULACIÓN DEL CAMBIO DE MEMORIA APETITIVA A AVERSIVA.**

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
DOCTORA EN CIENCIAS BIOMÉDICAS**

**PRESENTA:
LIC. PSIC. MARÍA JOSÉ OLVERA CALTZONTZIN**

**TUTOR:
DRA. MARÍA ISABEL MIRANDA SAUCEDO
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA, UNAM**

**COMITÉ TUTOR:
DR. ROBERTO AGUSTÍN PRADO ALCALÁ,
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA
DR. RANIER GUTIÉRREZ MENDOZA,
INSTITUTO DE FISILOGÍA CELULAR**

CAMPUS JURIQUILLA, QUERÉTARO. JUNIO 2020



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.

RESUMEN

La capacidad de recordar y dar una respuesta rápida y eficiente a los estímulos del entorno es necesaria para la supervivencia. Se ha descrito la importancia de la participación de los **receptores NMDA** (NMDAR), en la **corteza insular** (CI) durante la formación de la memoria, en particular la formación de memorias aversivas. Sin embargo, poco se ha descrito acerca de la participación de los NMDAR durante tareas complejas en donde dos o más estímulos están presentes, tampoco se conoce que papel desempeñan los NMDAR durante la actualización de la memoria (p.e. a través de la **inhibición latente (IL)**). Por lo tanto, en el presente trabajo se estudió la acción precisa de los receptores tipo NMDA en la CI durante la adquisición de una tarea aversiva, utilizando el **condicionamiento de aversión al sabor (CAS)**. También, se evaluó lo que sucede durante el aprendizaje de “*conflicto emocional*” a través de la tarea de **evitación inhibitoria (EIn)** modificado donde compiten estímulos con valencia opuesta; evaluando también la función de los NMDAR en la CI durante la adquisición de esta tarea compleja. Por último, a través de la IL de la EIn modificada se evaluó la actualización de la memoria, cuando se asocia algo nuevo a un contexto apetitivo previamente aprendido, así como la función de los NMDAR en la CI durante el proceso de IL. Los resultados mostraron que existe una coincidencia precisa de la actividad de glutamato mediada por los NMDAR inmediatamente después de la presentación del **estímulo condicionado (EC)** durante la adquisición del CAS. Por otra parte, se encontró que en una tarea de “*conflicto emocional*” no se altera la formación de la memoria aversiva, pese a tener un contexto modificado con estímulos apetitivos. Sin embargo, la alteración del equilibrio en la actividad de los NMDAR disminuye la formación de la memoria aversiva. Por último, se mostró que en la tarea de la IL-EIn modificada, la preexposición al contexto apetitivo crea una representación de memoria

robusta que no se decrementó por una nueva asociación con un estímulo aversivo. De igual forma, se demostró la poca participación de los NMDAR en la CI durante la IL-EIn modificada. Estos resultados nos llevan a proponer que hay una participación diferencial de los NMDAR en la CI, que depende del tipo de estímulos que están presentes durante la formación de la memoria.

SUMMARY

The ability to remember and respond quickly and efficiently to environmental stimuli is necessary for survival. The importance of NMDA receptor involvement (NMDAR) in the insular cortex (IC) during memory formation, in particular aversive memory formation, has been described. However, little has been described about the participation of NMDARs during complex tasks where two or more stimuli are present, nor is it known what role NMDARs play during memory updating (e.g. through latent inhibition (LI)). Therefore, in the present work we studied the precise activation of NMDA-like receptors in IC during the acquisition of an aversive task, using conditioned taste aversion (CTA). Also, we studied what happens during the memory formation of “*emotional conflict*” task through the modified inhibitory avoidance (IA) task where stimuli with opposite valence compete; evaluating also the role of NMDARs in IC during the acquisition of this complex task. Lastly, the memory update was evaluated through the LI of the modified IA, when something new is associated with a previously learned appetitive context, as well as the role of NMDARs in IC during the LI process. The results showed that there is a precise match of NMDAR-mediated glutamate activity immediately after the presentation of the conditioned stimulus (CS) during the acquisition of CTA. On the other hand, it was found that in “*emotional conflict*” task the formation of aversive memory is not altered, despite having a modified context with appetitive stimuli. However, disruption of balance in NMDAR activity decreases aversive memory formation. Finally, it was shown that in the modified LI-IA task, preexposure to the appetitive context creates a robust memory representation that was not decreased by a new association with an aversive stimulus. Similarly, the low participation of NMDARs in IC during modified LI-IA was demonstrated. These results lead us to propose that there is a differential participation of

NMDARs in IC, which depends on the type of stimuli that are present during memory formation.

AGRADECIMIENTOS

A mi familia, por siempre apoyarme, sin ellos jamás habría llegado a este momento.

A todas las situaciones, personas y experiencias que me hicieron llegar a este lugar, al final somos nuestras memorias y nos debemos a todo y todos los que se nos han cruzado en nuestro camino.

A la Dra. Miranda, por haberme dado la oportunidad de entrar al laboratorio, por haberme dado la confianza de realizar el proyecto, así como todas las herramientas para terminarlo; gracias por la paciencia y la dedicación para corregirme y aguantar los tantos y tantos errores cometidos.

A Gaby Vera, por la confianza y el apoyo, gracias por la escucha y por todos los consejos, no solo de la vida académica pero de la vida.

A Alex Rangel, gracias por todas las enseñanzas y la paciencia, gracias por guiarnos con esa ecuanimidad y sabiduría para guiarme.

A mis compañeros (Ale, Polo y Maricruz), por las risas y las pláticas.

Al todo el B16 (Dr. Condés, Dra. Lupita, Abimael, Irma, Alfredo, Mohammed, Toño, Enrique), por adoptarme en su laboratorio, gracias por el café, pastel, comida y pláticas, gracias por enseñarme que la vida no es solo ciencia y que no siempre debemos pensar u opinar igual para pasar un rato ameno.

A la Dra. Mónica, muchas gracias por darme la oportunidad de participar en las clases y proyectos, por la oportunidad de participar en la formación de futuros estudiantes, gracias por mostrarme que antes de ser doctor uno es persona, gracias infinitas.

A Dra. Giordano, por las correcciones y por siempre apoyarme en la parte de estadística.

A Leonor, Lulú y Carmelita, por siempre ayudarnos con todo lo burocrático y resolver todas nuestras dudas con una sonrisa.

A mi comité tutor (Dr. Prado y Dr. Ranier) y a mis sinodales (Dr. Sótres, Dr. Roldan, Dra. Giordano y Dra. Mónica) gracias por las ideas y correcciones.

A Abraham, por toda la paciencia y apoyo por ser mi *punching bag* todos estos años, por darme calma y tranquilidad en los momentos difíciles. Por acompañarme en cada locura que hacía, por no haberme abandonado a la mitad de camino y por salvarme de morir atropellada más de una vez.

Al Programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) al CONACyT por la beca 573235. También DGAPA-PAPIIT 201018 y 204615 por el apoyo para realizar este trabajo, CONACyT 252379.

ÍNDICE

RESUMEN

SUMMARY

AGRADECIMIENTOS

1. INTRODUCCIÓN
2. ANTECEDENTES
 - 2.1.MEMORIA Y APRENDIZAJE
 - 2.2.APRENDIZAJE
 - 2.3.PLASTICIDAD CEREBRAL
 - 2.4.ACTUALIZACIÓN DE LA MEMORIA (INHIBICIÓN LATENTE)
 - 2.5.EMOCIÓN Y APRENDIZAJE
 - 2.6.GLUTAMATO COMO SISTEMA DE NEUROTRASMISIÓN

IMPLICADO EN LA MEMORIA

- 2.6.1.GENERALIDADES
- 2.6.2.TIPOS DE RECEPTORES
- 2.6.3.GLUTAMATO COMO NEUROTRASMISOR DE PLASTICIDAD

NEURONAL

- 2.7.CORTEZA INSULAR (CI)
 - 2.7.1.GENERALIDADES
 - 2.7.2.PARTICIPACIÓN DE LA CI EN APRENDIZAJES AVERSIVOS
 - 2.7.3.PARTICIPACIÓN DE LA CI EN APRENDIZAJES APETITIVOS
 - 2.7.4.PARTICIPACIÓN DE LA CI EN APRENDIZAJES COMPLEJOS

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA
4. HIPÓTESIS
5. OBJETIVOS
6. MATERIAL Y MÉTODO
7. RESULTADOS
8. DISCUSIÓN
9. CONCLUSIÓN
10. PERSPECTIVAS
11. BIBLIOGRAFÍA

12. APÉNDICE
13. TERMINOS Y DEFINICIONES OPERACIONALES
14. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA

ABREVIATURAS

aCI – Corteza insular agranular	IL-SAL-H – Inhibición latente + Salina + Agua
AMPA – α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol propiónico	IL-SAL-S – Inhibición latente + Salina + Azúcar
AP5 – 2-Amino-5-fosfonovaleriánico	KA - Kainato
Ca²⁺ - Ión calcio	LiCl - Cloruro de litio
CAMKII – Calcio Calmodulina	LTD – Depresión a largo plazo
Proteína quinasa II	LTP – Potenciación a largo plazo
CAS - Condicionamiento de aversión al sabor	NBM – Núcleo basal magnocelular
CI – Corteza insular	NMDA – N-metil-D-aspartato
dCI – Corteza insular disgranular	NMDAR – Receptores NMDA
EC - Estímulo condicionado	NTS – Núcleo del tracto solitario
EI - Estímulo incondicionado	NZ-NMDA-H – Sin choque + NMDA + Agua
EIn - Evitación inhibitoria	NZ-NMDA-S – Sin choque + NMDA + Azúcar
EIn-NMDA-H – Evitación inhibitoria + NMDA + Agua	NZ-SAL-H – Sin choque + Salina + Agua
EIn-NMDA-S – Evitación inhibitoria + NMDA + Azúcar	NZ-SAL-S – Sin choque + Salina + Azúcar
EIn-SAL-H – Evitación inhibitoria + Salina + Agua	PAG – sustancia gris periacueductal
EIn-SAL-S – Evitación inhibitoria + Salina + Azúcar	PKC – Protein cinasa C
GABA – ácido γ -aminobutírico	PLC – Fosfolipasa C
gCI – corteza insular granular	RC - Respuesta condicionada
i.p. – Intraperitoneal	RI - Respuesta incondicionada
iGluRs – Receptores iónotropicos de glutamato	SNC – Sistema nervioso central
IIE – Intervalo inter-estímulos	SZ-NMDA-H – Sin choque + NMDA + Agua
IL - Inhibición latente	SZ-NMDA-S – Sin choque + NMDA + Azúcar
IL-NMDA-H – Inhibición latente + NMDA + Agua	SZ-SAL-H – Sin choque + Salina + Agua
IL-NMDA-S – Inhibición latente + NMDA + Azúcar	SZ-SAL-S – Sin choque + Salina + Azúcar

1. INTRODUCCIÓN

En nuestras vidas debemos lidiar con situaciones de conflicto, en la cual dos o más estímulos pueden competir durante una asociación o durante una respuesta conductual. Variados estímulos pueden portar una valencia positiva/apetitiva o negativa/aversiva, presente de forma innata o aprendida. El saber qué comer y en dónde comerlo es fundamental para la supervivencia. Diferentes alimentos tienen una valencia positiva, como es el caso de los carbohidratos y en particular del azúcar, estos alimentos son necesarios para el desarrollo y aportan energía para la supervivencia. Sin embargo, si alimentos novedosos con valencia positiva produce un malestar o enfermedad, la valencia cambia de positiva a negativa, evitando el consumo en futuras ocasiones. De igual manera, el lugar donde se consume los alimentos es indispensable para la supervivencia, si se consume un sabor novedoso en contexto aversivo o peligroso, puede alterar la valencia que se le otorgue a este nuevo sabor. Por otro lado, si un sabor tiene una valencia positiva y se aprendió bajo un contexto apetitivo, esta asociación apetitiva previa puede alterar/impedir una asociación aversiva futura. Reportes previos, sugieren la participación de la **corteza insular (CI)**, en la formación de memorias aversivas tanto del sabor como del contexto, además la CI también se comunica con el sistema límbico, sistema de recompensa, recibe información de diferentes modalidades sensoriales incluidas el sabor, el olor y la nocicepción; de igual forma se le conoce como un área de integración de información de estímulos internos como estímulos provenientes del exterior. La CI es blanco de diferentes neurotransmisores como acetil colina, dopamina, noradrenalina, **ácido γ -aminobutírico (GABA)** y en partícula glutamato. Se conoce la participación del receptor **N-metil-D-aspartato (NMDA)** en la CI, durante la formación de la memoria, el bloqueo de los **receptores NMDA (NMDAR)**,

impide la formación de la memoria aversiva al sabor. Sin embargo, se desconoce cuál es su participación cuando hay una activación fisiológica. La activación de los NMDAR en la CI durante la formación de la memoria aversiva al sabor permite determinar el momento preciso de activación de los NMDAR. De igual manera, se desconoce cuál sea la participación de los NMDAR durante la competencia de estímulos con valencias opuestas, como un sabor apetitivo vs un contexto aversivo. La activación de los NMDAR nos permite conocer la forma en la que la CI procesa información de estímulos opuestos y evalúa cuál de los dos es de mayor importancia para la supervivencia. Por último, poco se conoce de los mecanismos neuronales de la actualización de la memoria, al utilizar el paradigma de la **inhibición latente (IL)** de la **evitación inhibitoria (EI_n)**, se puede estudiar la participación de los NMDAR en una prueba de competencia de estímulos con valencias opuestas.

2. ANTECEDENTES

2.1. Memoria y aprendizaje

El aprendizaje y la memoria son un binomio, no se puede hablar de una sin la existencia de la otra, ambas son propiedades del sistema nervioso, que nos permiten adquirir, retener, actualizar y evocar diferentes tipos de información (Bermúdez-Rattoni & Prado-Alcalá, 2001). Si bien, hay diferentes definiciones de aprendizaje y de memoria, se pueden definir primeramente, en términos conductuales, al aprendizaje, como el cambio relativamente permanente de la conducta, producido a través de la experiencia (Myers, 2007). Por otra parte, la definición neurobiológica señala que la memoria es la representación interna de las experiencias que perduran a través del tiempo, es la capacidad de evocar dicha experiencias (Roediger III, Dudai, & Fitzpatrick, 2007). No obstante, la memoria, o dicha representación, está en constante actualización cada vez que se repite la experiencia o que se evoca la memoria, por lo tanto la memoria no es fija, sino un proceso espacio-temporal dinámico (Dudai, Nader, & Born, 2015).

El estudio de la memoria, se ha dividido en diferentes fases o procesos: 1) la adquisición, proceso por el cual la información, mediada por el procesamiento de los estímulos sensoriales, se incorpora y procesa en el sistema nervioso, 2) la consolidación de la memoria, cuyo término deriva del latín “*dar estabilidad*” y se refiere al proceso por el cual la información que fue “*adquirida*” se estabiliza e incorpora a largo plazo como una representación; 3) la evocación de la memoria es el proceso mediante el cual información previamente procesada y estable como una representación, es recuperada y expresada en la forma de una conducta determinada (Myers, 2007).

La memoria es un tema que ha llamado la atención del ser humano desde tiempos ancestrales; por ejemplo, los griegos la consideraron como una divinidad, llamada *Mnemosyne*, madre de las nueve musas, siendo la personificación de la memoria y encargada de la razón, que conocía todo lo que ha sido y todo lo que será. *“Había en nuestras almas un bloque de cera, había cera buena y pura y cera mala e impura, si la cera era buena... todo lo que se desea recordar en nuestra mente, plasmamos en esta cera esos pensamientos, como se graba un anillo, y cualquier pensamiento que quedara plasmado sería recordado por siempre; pero cualquier pensamiento que no quedara plasmado, sería olvidado”* (Plato, 1921). En el inframundo si las personas bebían de su río iban a recordar sus vidas pasadas, en cambio si no eran inteligentes y bebían de las aguas del río de Hades llamado *“lete”*, dichas aguas provocarían que las personas olvidaran todo; por lo que beber de esta agua se le consideraba como *“olvido de todos los males y remedio de las preocupaciones”*. Los griegos ejemplificaron a la memoria como un sello que las cosas que queríamos se quedaban grabadas para toda la vida y las que no eran deseadas, se olvidaban. Bajo estos términos inició la clasificación de la memoria de corto plazo y la memoria de largo plazo. El tema de la memoria no solo ha sido objeto de atención de las culturas antiguas, ya que diversas disciplinas se han dedicado a su estudio. La memoria se ha estudiado desde la filosofía, esta disciplina se encarga de estudiar problemas fundamentales, como la mente, la belleza el conocimiento etc. Inclusive hay un sin número de escritos literarios que han puesto a la memoria como personaje principal, donde se le atribuye la capacidad máxima de los recuerdos y de la percepción de la vida (Borges, 2004).

Particularmente, en el siglo XIX, la memoria pasó de ser un tema filosófico a un estudio del comportamiento desde la perspectiva psicológica. Ebbinghaus fue pionero de la

“cuantificación” de la memoria y en 1885, publicó su obra titulada “*Sobre la memoria*”, donde postulaba que a mayor repetición mejor retención de la memoria. Empleando la ecuación de Fechner, estudió la capacidad de retener información por más tiempo, dicha ecuación le ayudó a medir la relación entre el estímulo y la “sensación” asociada. Entre las aportaciones de Ebbinghaus se encuentra la curva del aprendizaje y olvido, que es uno de los pilares para el estudio y la clasificación de la memoria (Bermúdez-Rattoni & Prado-Alcalá, 2001). La obra de Ebbinghaus dio pie al estudio de William James, quien propone la primera categorización formal de la memoria: dividiéndola en *memoria primaria* (memoria a corto plazo), que se ocupa únicamente en el momento presente y no puede ser evocada; y *memoria secundaria* (memoria a largo plazo), que puede ser evocada a voluntad.

Pasando al plano neurobiológico, el psicólogo Karl Lashley, compañero de Watson, inició el estudio de la memoria incorporando el conocimiento que en ese entonces se tenía del sistema nervioso. Si bien, se conocían diferentes componentes del sistema nervioso, Lashley propuso que no era posible estudiar y comprender los mecanismos neuronales, sin integrar a la psicología experimental; de tal forma, él estudió la asociación a diferentes estímulos desde un plano más biológico. Así, Lashley postuló que la memoria no se restringía a una región específica en el cerebro (Lashley, 1930). Si bien, el trabajo de Lashley fue uno de los primeros en intentar explicar a la memoria como un engrama, que residía en un sitio exclusivo del cerebro (donde se “almacenaba” la memoria), ésta visión fue simplista, ya que su investigación demostró la ubicuidad del “engrama”.

Un gran avance en el siglo XIX en del estudio del **sistema nervioso central (SNC)**, fue el conocimiento sobre las áreas que participan en la formación de la memoria. Durante la década de los 50’s, a través del caso Henry Molaison (H.M.), un paciente de 27 años que

desde niño había sufrido de crisis epilépticas, le extirparon gran parte del lóbulo temporal, en particular el hipocampo. A pesar de tener una aparente recuperación normal después de la cirugía, y de mostrar una memoria intacta para recordar cosas que ocurrieron antes de la operación; H.M. fue incapaz de poder aprender/adquirir nueva información por largo plazo. La psicóloga Brenda Milner, se dedicó a estudiar este caso, mediante diferentes pruebas que aplicó al paciente H.M. y encontró que la memoria a corto plazo había quedado intacta, al igual que la memoria de procedimientos; sin embargo, H.M. fue incapaz de recordar hechos o eventos que vivió después de la cirugía, sugiriendo que la consolidación y la evocación de memorias declarativas de largo plazo se encontraban en el lóbulo temporal, en particular en el hipocampo (Kandel & Squire, 2000; Scoville & Milner, 1957). Si bien, los trabajos de Ebbinghaus y James dieron los primeros indicios de la clasificación de la memoria hoy en día hay nuevas clasificaciones de los tipos de memoria (**Figura 1**).

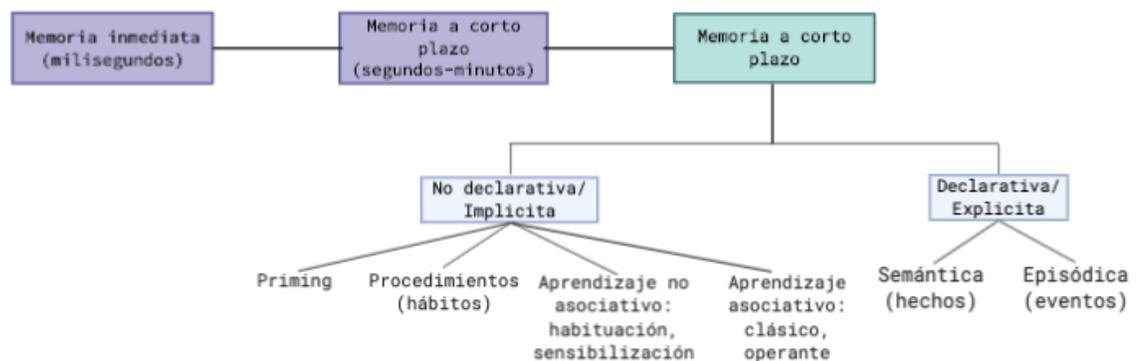


Figura 1. Clasificación de la memoria; memoria inmediata cuya duración temporal es de milisegundos, memoria a corto plazo, cuya duración temporal es de segundo a minutos, también es conocida como memoria de trabajo; por último memoria a largo plazo cuya duración es mayor y se divide en dos, memoria no declarativa/implícita y declarativa/explicita (Modificada del (Purves et al., 2008)).

2.1.1. Memoria inmediata

La memoria inmediata, también conocida como memoria sensorial, es la habilidad que posee el cerebro de retener información por un periodo corto, en la escala de los segundos

(Purves et al., 2008). Es la memoria proveniente de los sentidos, que perdura mientras se recibe el estímulo (Myers, 2007).

2.1.2. Memoria a corto plazo

Es la habilidad de retener y manipular por segundos o hasta minutos, es la memoria que nos ayuda a lograr una meta en particular (Purves et al., 2008). También se le puede clasificar como memoria de trabajo. La memoria de corto plazo nos ayuda a responder de manera rápida y eficiente estímulos previamente experimentados. Debido a su corta duración y baja capacidad, es únicamente útil en el momento que se vive la experiencia. Está asociada con la atención, el lenguaje, la razón y la solución de problemas (Bermúdez-Rattoni & Prado-Alcalá, 2001).

2.1.3. Memoria a largo plazo

La habilidad de “*retener*” información por días, meses o años de manera permanente. James también definía este tipo de memoria, como la memoria que se guarda sin necesidad de tener atención (James, 1884). La memoria de largo plazo es la habilidad que nos permite tomar ventaja de la experiencia previa para ayudarnos a resolver problemas, por lo tanto, cualquier estímulo significativo o relevante para la supervivencia puede pasar de memoria inmediata a memoria a largo plazo o, de memoria de corto plazo a memoria a largo plazo (Bermúdez-Rattoni & Prado-Alcalá, 2001; Purves et al., 2008). La memoria a largo plazo también depende de cambios a nivel neuronal, estos cambios neuronales suelen considerarse como sinónimos de consolidación. La consolidación implica cambios en la expresión de genes, síntesis de proteínas, así como otros mecanismos de plasticidad sináptica para que la memoria persista a través de tiempo (Dudai, 2004; Kandel, Dudai, & Mayford, 2014; Purves et al., 2008). Se ha sugerido que no hay una área o estructura específica para que se consolide la memoria, sino que diferentes estructuras forman redes,

en las cuales se puede observar los cambios a nivel intracelular, así como cambios morfológicos y/o de sinapsis (Bermúdez-Rattoni & Prado-Alcalá, 2001). La memoria se puede adquirir de forma consciente o inconsciente (*memoria incidental*). La *memoria incidental* se refiere a la información adquirida que parece no estar asociada a nada de manera específica o determinada (Lubow, 1989). El primero en acuñar este término fue Edward C. Tolman, a partir de experimentos con ratas él encontró que es suficiente la contingencia de estímulos para producir una asociación. Utilizando el laberinto de Tolman, tres grupos de ratas se colocaron durante 17 días en el laberinto: en el primero, las ratas al llegar al final del laberinto obtenían un reforzador (comida); el segundo grupo o también llamado de reforzador tardío, fue retirado al llegar al final del laberinto durante los primeros 10 días, del día 11 al 17, el animal obtuvo un reforzador (antes de ser retirado); por último, el tercer grupo jamás obtuvo el reforzador al llegar al final del laberinto. Al contrario de lo que se creía, no fue necesaria la presencia de un reforzador para que el animal llegara al final del laberinto, ya que los tres grupos, con o sin, reforzador realizaron la tarea en el mismo tiempo. Esto sugirió que existe una memoria incidental, un aprendizaje que está “*escondido*” (Tolman, 1948).

2.2. Aprendizaje

Dependiendo de la disciplina de estudio, el aprendizaje se puede definir según la psicología como un cambio en la conducta relativamente permanente, que resulta de la experiencia y no es debido a la maduración, fatiga, drogas y/o enfermedad (Kimble, Hilgard, & Marquis, 1969); o según las neurociencias como los cambios neuronales que codifican eventos o experiencias en el cerebro, dichas experiencias pueden ser adquiridas de forma intencional o incidental (Berman, Hazvi, Neduva, & Dudai, 2000). Por lo tanto, el aprendizaje se refiere a procesos de comportamiento, que se pueden medir mediante

cambios en la conducta, a los que subyace la plasticidad neuronal; así como también alteraciones neuronales o sinápticas que correlacionan con cambios en el rendimiento conductual (Roediger III et al., 2007). El aprendizaje indica que una memoria adquirida fue consolidada, por lo tanto, puede ser evocada produciendo un cambio en la conducta (Myers, 2007). El aprendizaje, en términos de la psicología, se ha clasificado dependiendo de la relevancia y de la forma en la que se aprende, se ha clasificado en dos grandes tipos de aprendizaje, el *aprendizaje no asociativo* y el *aprendizaje asociativo*.

2.2.1. *Aprendizaje no asociativo*

El aprendizaje no asociativo resulta de la exposición única o repetida hacia un estímulo que deriva en cambios en la conducta, dando como resultado la caracterización de este estímulo en el SNC. Este aprendizaje se encuentra conservado evolutivamente, por lo tanto, tiene una importancia en la supervivencia. A su vez el aprendizaje no asociativo se divide en dos: la *habitación* y la *sensibilización*. La *habitación*, es el decremento o disminución en la respuesta hacia un estímulo generalmente inofensivo que se ha presentado varias veces; por ejemplo, “*acostumbrarse*” al ruido del refrigerador (Jessell, Kandel, & Schwartz, 2000). La *sensibilización*, es un incremento en la respuesta producida por un estímulo que fue presentado de forma reiterada y cuya consecuencia fue nociva; por ejemplo, una mayor respuesta a un estímulo táctil, después de haber recibido un estímulo nociceptivo (Myers, 2007).

2.2.2. *Aprendizaje asociativo*

El aprendizaje asociativo es la capacidad que tienen los seres vivos para establecer una asociación entre dos o más estímulos que pueden cuantificarse (medible). Dicha asociación

depende fundamentalmente del tiempo o intervalo de presentación entre los estímulos. A su vez, se divide en el condicionamiento clásico y el condicionamiento operante.

2.2.2.1. *Condicionamiento clásico*

A principios del siglo XX el fisiólogo Ruso Ivan Pavlov, se encontraba estudiando las glándulas salivales de los perros, midiendo el flujo de salivación de los animales al presentarles comida, sin embargo, al mismo tiempo que les presentaba la comida, sonaban las campanas de la iglesia. Pavlov observó que los animales salivaban al escuchar las campanas en ausencia de la comida (Pavlov, 1927). Pavlov ganó el premio Nobel en medicina en 1904, por su trabajo en las glándulas digestivas. Sin embargo, Pavlov no solo ganó el premio Nobel, sino que gracias a su observación cuidadosa de la asociación de la presentación de la comida con las campanas de la iglesia, y a la respuesta de salivación que el animal presentaba, se empezó a estudiar el condicionamiento asociativo o clásico. El aprendizaje asociativo es cuando dos estímulos se asocian para dar una respuesta anticipada; es decir un **estímulo incondicionado (EI)** que produce una **respuesta incondicionada o innata (RI)**, es asociado a un estímulo, que originalmente era irrelevante, llamado **estímulo condicionado (EC)**, resultando en una asociación, y provocando una **respuesta condicionada (RC)** (Myers, 2007). En el caso de Pavlov el EI era la presentación de la comida, que producía una RI de salivación, al presentarse repetidamente la comida (EI) al mismo tiempo que el sonar de las campanas (EC), se establece una asociación entre el EC y el EI de tal manera que después la sola presentación del EC produce una RC.

El condicionamiento clásico tiene características especiales, la respuesta es una respuesta involuntaria o autónoma que no está bajo el control del sujeto y en cuanto a la asociación de estímulos, los estímulos condicionados siempre anuncian a los

incondicionados y por ende deben poderse asociar de manera biológica. Por ejemplo, sería difícil que un choque eléctrico produjera una asociación aversiva a un sabor (Myers, 2007).

2.2.2.2. *Condicionamiento operante o instrumental*

Los estudios de Pavlov tuvieron gran influencia sobre el psicólogo estadounidense Edward Thorndike, quien creó la *caja de solución de problemas* para los roedores, en estas cajas los animales se quedaban atrapados dentro de ella y podían escapar mediante acciones simples, p. ej. jalar una cuerda, teniendo como motivación el olor de comida que provenía de afuera de la caja. En estos experimentos, Thorndike observó que los animales tardaban menos en salir de la caja al tener un estímulo motivacional. Thorndike postuló la *ley del efecto*; cualquier situación que de cómo consecuencia un efecto satisfactorio se hará más probable en el futuro, está ley propone que el aprendizaje se da por ensayo y error. Posteriormente, B.F. Skinner trabajó con palomas con condiciones similares a la *caja de solución de problemas de Thorndike*, y encontró que para aumentar o disminuir la conducta se requerían diversos factores, entre ellos el número de sesiones de entrenamiento, así como el tipo de reforzador (positivo o negativo) o castigo que se les aplicaban a los animales para incrementar o disminuir la conducta. Tanto Thorndike como Skinner estudiaron el condicionamiento operante o instrumental. El condicionamiento o aprendizaje operante, es más complejo que el clásico y tiene diversas características, la respuesta debe ser voluntaria ya que controla al ambiente. La asociación se establece entre la respuesta y la consecuencia de esta respuesta, es decir el reforzador o el castigo, por lo tanto el organismo genera una expectativa a la respuesta aprendida. La conducta se incrementa si es seguida por un reforzador o, disminuye si se aplica un castigo, aunque el efecto del castigo es más impredecible (Myers, 2007).

Ambos tipos de paradigmas, el condicionamiento clásico y el operante, constan de varias fases 1) adquisición: es la fase de asociación entre estímulos o entre la respuesta y el reforzador, 2) extinción: el decremento de la respuesta condicionada, debido a la ausencia del estímulo condicionado o del reforzador y 3) recuperación espontánea: la reaparición de la respuesta condicionada, después de la fase de extinción. Hay estímulos discriminativos, que le permiten al sujeto identificar cuando se debe de dar la respuesta y cuando no, a estos procesos se les conoce como generalización y discriminación. La generalización: la respuesta similar hacia un estímulo parecido a otro estímulo previamente asociado a un estímulo condicionado o a un reforzador. La discriminación: la habilidad de distinguir entre un estímulo semejante a un estímulo condicionado y/o a un reforzador particular (**Figura 2**).

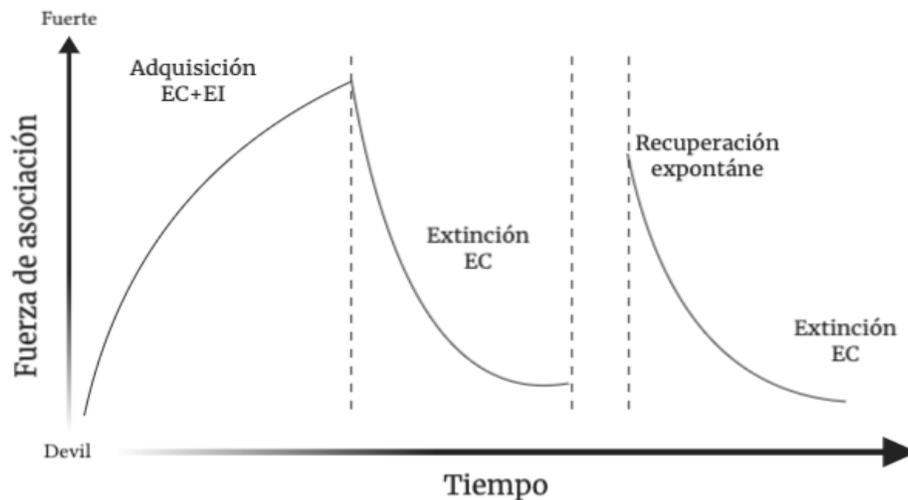


Figura 2. Etapas o procesos del condicionamiento clásico u operante; a menor tiempo mayor fuerza de asociación, a menor tiempo menor fuerza de asociación. 1. Adquisición, es la primera etapa del condicionamiento, en el clásico es cuando el EC se asocia al EI, en el condicionamiento operante, es la fuerza de asociación que tiene el reforzador o castigo con la respuesta. 2. Extinción, el decremento de la respuesta condicionada, en el condicionamiento clásico cuando el EC no es seguido por el EI, en el operante cuando una respuesta no es reforzada. 3. Recuperación espontánea, la reaparición después de un tiempo de una respuesta previamente extinta. 4. Extinción, el decremento de la respuesta (modificada de (Myers, 2007))

2.3. Plasticidad cerebral

La plasticidad es la capacidad que tiene el SNC para modificar su propia organización, estructura y funcionalidad (Bach-y-Rita, 1994). La plasticidad sináptica incluye modificaciones en las conexiones entre neuronas que producen cambios en la conducta, por otra parte, se considera que a la memoria a largo plazo la subyacen cambios morfológicos y estructurales en los circuitos neuronales. Por años se ha planteado que el refuerzo en la conectividad de las neuronas puede ser un mecanismo de la plasticidad cerebral y también de la memoria a largo plazo (Ramón y Cajal, 1894). En 1940, Donald Hebb propuso que la memoria a largo plazo requiere de la activación y el fortalecimiento de la pre y la post-sinapsis, acuñando el término ensamble neuronal, a la representación celular de la memoria a largo plazo, como conjuntos neuronales en diferentes regiones del cerebro (Hebb & Hebb, 1949). Si bien, el término engrama ya lo había usado Lashley una década antes, no se ha podido demostrar que el engrama o trazo neuronal sea una representación estática en una estructura específica del cerebro, sino es una representación espacio-temporal que se modifica con la experiencia, y que involucra a diversas estructuras. La plasticidad sináptica es el proceso biológico mediante el cual patrones específicos de actividad sináptica resultan en cambios en la fuerza sináptica y se cree que contribuyen al aprendizaje y la memoria. Tanto los mecanismos presinápticos como los postsinápticos pueden contribuir a la expresión de la plasticidad sináptica (Asok, Leroy, Rayman, & Kandel, 2019). En la década de los 70s se descubrió la **potenciación a largo plazo (LTP)** en donde a mayor eficacia de la transmisión pre-sináptica y la mayor excitabilidad post-sináptica, se postula como el sustrato de la memoria a largo plazo. Tanto la plasticidad sináptica como la memoria a largo plazo requieren de la activación del receptor glutamatérgico ionotrópico tipo NMDA; ya que su activación es necesaria para la consolidación de la memoria, como para el LTP,

dicha activación produce cambios intracelulares, como la síntesis de proteínas y transcripción de genes (Tonegawa, Pignatelli, Roy, & Ryan, 2015).

2.4. Actualización de la memoria (inhibición latente)

La formación de la memoria no es un proceso lineal, más bien es dinámico y diferentes procesos secuenciales interactúan entre ellos como: adquisición de la información, consolidación, memoria a corto y largo plazo, desestabilización, evocación, actualización e integración de diversos tipos de memorias (Kandel et al., 2014). La actualización de la memoria es el proceso por el cual una nueva información adquirida es comparada con la previamente, procesada, de tal forma que la experiencia más relevante se reintegra y se estabiliza, para formar una memoria actualizada (Bermúdez-Rattoni & McGaugh, 2017). La consolidación de la memoria, es un proceso de transformación de la experiencia, a través del tiempo, este proceso depende de la modificación celular en el SNC, donde se “*agrega*” nueva información a la previamente existente (Dudai et al., 2015). Una manera de poder evaluar la actualización de la memoria es a través de la IL. Otra forma de definir a la IL, es como un pobre desempeño en el aprendizaje como resultado a una exposición a un estímulo de forma pasiva (Lubow, 1989).

La IL es un paradigma que puede considerarse de interferencia, definido como un proceso donde la preexposición decrementa la relevancia al estímulo, o bien, decrementa la atención y por lo tanto disminuye la asociación *a posteriori* (Lubow, 1965; Lubow & Moore, 1959). La IL se toma como un paradigma de interferencia proactiva, que afecta el aprendizaje futuro (Bouton, 1993). A través de la IL se puede evaluar la memoria incidental o memoria apetitiva de un estímulo no asociado de manera específica o identificable (Dudai, 1989). La IL surge de la teoría del aprendizaje latente, esta teoría se originó en los

años 30 con Tolman. En los años cincuenta Lubow & Moore intentaron utilizar el concepto de aprendizaje latente en una tarea clásica con cabras. Si bien, hasta ese momento se había replicado de forma satisfactoria el laberinto de Tolman y el mapa cognitivo, tanto en ratas como en humanos, el aprendizaje latente se había realizado con tareas instrumentales. Ellos hicieron un análogo del aprendizaje latente con una tarea clásica. Utilizando cabras y borregos entrenados en la tarea de flexor de pata; al presentar un estímulo audiovisual se aplicaba un choque eléctrico en la pata, de tal manera que los estímulos audiovisuales producían una flexión en la pata. Al contrario de lo que se esperaba, cuando los animales se exponían previamente al estímulo audiovisual, disminuía la capacidad de asociarlos con el choque eléctrico. A este fenómeno se le llamó IL, ya que originalmente se quería demostrar el aprendizaje latente e inhibición por el decremento que se producía en la asociación futura. La preexposición no reforzada a un estímulo, juega un papel muy importante durante el aprendizaje debido a que se vuelve familiar y esta familiaridad resulta en que se le presta menor atención, disminuyendo la probabilidad de una asociación futura a un EC (Lubow & Moore, 1959; Lubow, Weiner, & Schnur, 1981; Mackintosh, 1971).

Hay tres variables que caracterizan a la IL, la *duración de la preexposición*, que se refiere al tiempo que transcurre entre la preexposición y la presentación del EI asociado al EC, la *temporalidad*, que no debe exceder las 48 horas (Lubow & Siebart, 1969; Suboski, Di Lollo, & Gormezano, 1964) y *el número de preexposiciones*, que varía dependiendo de la tarea. En pruebas aversivas como el condicionamiento al miedo, con una preexposición es suficiente (Ackil & Mellgren, 1968; Berman et al., 2000; Miranda & Bermúdez-Rattoni, 2007; Traverso, Ruiz, & De la Casa, 2003). Sin embargo, en tareas más complejas (p. ejem., palanqueo) se pueden llegar a necesitar más de 100 preexposiciones (Halgren, 1974;

Lubow & Moore, 1959; Reiss & Wagner, 1972; Rescorla, 1971a, 1971b). También son relevantes *la especificidad del estímulo y del contexto* (Lubow, Rifkin, & Alek, 1976) pues es requerido que un estímulo que se utilizó durante la preexposición, sea el mismo que va ser condicionado, si hay un cambio en el estímulo o en el contexto no se observará la IL (Lubow & Moore, 1959). Por ejemplo, si hay un cambio en la concentración de sacarosa durante la IL del **condicionamiento de aversión al sabor (CAS)**, el animal disminuirá la respuesta aversiva al sabor, a pesar de ser un sabor familiar (Metzger & Riccio, 2009). Por otro lado, el contexto bajo el cual se expone el estímulo la primera vez tiene un rol fundamental; si hay un cambio en el contexto del día de la preexposición al de la adquisición y del de la adquisición al de la evocación no se produce la IL (Albert & Ayres, 1989; Escobar, Arcediano, & Miller, 2002; Pearce & Hall, 1980). En algunos estudios se ha observado que no es solo la especificidad del estímulo o del contexto, también la hora del día y la fase del ciclo circadiano juegan un papel importante para la IL (Molero-Chamizo & Rivera-Urbina, 2017). Por ejemplo, en trabajos controlando los ritmos circadianos, se ha demostrado que hay condiciones donde un desbalance homeostático interrumpe la formación de la IL (De la Casa, Mena, Orgaz, & Fernandez, 2013).

Por otro lado, también se ha propuesto que durante la preexposición el estímulo se asocia a algo inespecífico, lo que genera una condición excitatoria o inhibitoria el día de la adquisición, lo cual interfiere con un nuevo aprendizaje. En la IL surgen dos teorías de atención; por un lado, se plantea que la preexposición al estímulo decrementa la atención al estímulo preexpuesto. Por lo tanto, la atención será mayor cuando se presente el segundo estímulo, produciendo un decremento en la respuesta del estímulo asociado durante la posición y un incremento en la respuesta hacia el EC; a esto se le conoce como condición excitatoria. Por otro lado, la preexposición decrementa la atención al estímulo que será

condicionado, incrementado la inhibición de la respuesta de éste nuevo estímulo, a esto se le conoce como condición excitatoria (Mackintosh, 1975; Pearce & Mackintosh, 2010; Reiss & Wagner, 1972; Rescorla, 1971a, 1971b). Por lo tanto, el estímulo preexpuesto facilita o suprime la respuesta.

Han surgido diversas teorías entorno al fenómeno de la IL, en su mayoría hablan de filtros de atención o de competencias durante la asociación y el aprendizaje (Lubow, 1973; Lubow et al., 1981) Sin embargo, las teorías más utilizadas son las siguientes: 1) *Inhibición condicionada*: la preexposición a un estímulo no produce la respuesta de la asociación futura. En esta teoría se propone que la preexposición produce una condición excitatoria, esto quiere decir, que esta preexposición en lugar de inhibir la respuesta refleja a la nueva asociación incrementa esta respuesta (Halgren, 1974; Reiss & Wagner, 1972; Rescorla, 1971a, 1971b). 2) *Habitación o reducción en la respuesta*: la habitación se puede explicar con dos estímulos, el A, el preexpuesto, y el B que se tiene que condicionar en el futuro. Si la variación en el reforzador es similar a lo que fue en A, entonces habrá un incremento en la atención hacia A, en cambio, si la variación en la respuesta al presentarse el estímulo B es incompatible con A, entonces la atención hacia B disminuye, por lo que la respuesta sigue siendo similar a A e inversa a B (Mackintosh, 1975). 3) *Respuesta por competencia o competencias de la respuesta en la preexposición contra la respuesta del condicionamiento*: un estímulo compite por la atención, si se presentan varios estímulos, uno va a tener una mayor atención y los demás tendrán un decremento en su atención. Esta teoría propone que el organismo tiene límites para atender a varios estímulos, por lo que, durante la competencia de los estímulos, el que tenga un mayor valor para la supervivencia, será el que tenga la mayor atención. 4) *Atención selectiva o competencia por la atención (ignorarla)*: esta teoría surgió con el aprendizaje de discriminación en animales, a su vez surgió la teoría de los filtros

selectivos; donde se pone atención al estímulo mediante diferentes filtros, y cada filtro analiza el estímulo. Entre más selectivo sea el filtro menos atención se le dará al estímulo. La IL involucra un decremento en la relevancia hacia la RC (Mackintosh, 1971).

La IL se ha estudiado desde un punto neurobiológico, se han encontrado que diversos circuitos neuroquímicos implicados. Uno de los neurotransmisores implicados es la dopamina y noradrenalina, en particular su participación en sistema mesolímbico juega un papel importante, así como los inputs colinérgicos hacia el hipocampo (Baxter, Holland, & Gallagher, 1997; Mason & Fibiger, 1979; Solomon & Moore, 1975). El hipocampo es importante para la formación de la IL, lesiones en esta estructura impiden la formación de la IL. Trabajos han demostrado que el hipocampo a través de la actividad colinérgica es responsable en la relevancia de los estímulos durante la asociación. Apoyando la teoría de Mackintosh, Pearce y Hall, lesiones en el hipocampo producían un decremento en la relevancia del estímulo preexpuesto, impidiendo la IL (Baxter, Bucci, Holland, & Gallagher, 1999; Baxter, Gallagher, & Holland, 1999; Moore & Stickney, 1980). La teoría de la IL se ha empleado para estudiar la esquizofrenia (Baruch, Hemsley, & Gray, 1988a, 1988b; Swerdlow, Braff, Hartston, Perry, & Geyer, 1996). El desbalance en el sistema dopaminérgico es una de las teorías más empleadas para tratar este desorden. En esta patología hay un incremento en la atención y no existe un filtro selectivo, por lo tanto, todos los estímulos son relevantes (Lubow & Gewirtz, 1995; Lubow, Weiner, Schlossberg, & Baruch, 1987). El desbalance dopaminérgico en sistema mesolímbico está fuertemente implicado en patologías, en particular la actividad dopaminérgica proveniente del área tegmental ventral, esta actividad se ve afectado durante la esquizofrenia (Young, Joseph, & Gray, 1993). Administración de anfetaminas y bloqueo de los receptores D2 en pacientes con esquizofrenia reduce los síntomas (Robinson & Becker, 1986; Solomon et al., 1981). Se ha

demostrado que la dopamina afecta sistemas de atención y el bloqueo de este neurotransmisor en áreas corticales o alterando las proyecciones del estriado hacia núcleo accumbens afecta la IL, vía mesolímbica (Broersen, Heinsbroek, de Bruin, & Olivier, 1996). Se ha implicado al núcleo accumbens como el encargado de prestar atención al EC, por lo que podría apoyar la idea de la condición excitatoria y, por lo tanto, la teoría de la inhibición condicionada (Reiss & Wagner, 1972). Se sabe que el bloqueo de la actividad colinérgica impide la IL (Moore, Goodell, & Solomon, 1976). Posteriormente encontraron las proyecciones colinérgicas que se recibían al hipocampo provenientes del prosencéfalo, son necesarias para la IL. Por último, se ha implicado al sistema noradrenérgico, a este sistema se le ha prestado atención, se ha visto que es necesario para la atención selectiva, y que las ratas con decremento noradrenérgico tendían a extinguían más lento, por lo que se considera que este sistema está implicado en la IL (Mason & Fibiger, 1979; U'Prichard, Reisine, Mason, Fibiger, & Yamamura, 1980).

Glutamato: uno de los sistemas de neurotransmisión implicado en la memoria

2.4.1.Generalidades

La comunicación neuronal se logra a través de la transmisión sináptica comandada principalmente por varios neurotransmisores. Uno de los transmisores más utilizados y considerado como el principal “excitador” neuronal por el SNC es el glutamato. Ya que entre el 80-90% de las sinapsis son glutamatérgicas, mediando información sensorial, motora, motivación, emoción plasticidad sináptica, así como participando activamente durante la formación de la memoria (Siegel, 1999). También, es importante durante el desarrollo del sistema nervioso, participa en diversos procesos como la migración neuronal, maduración, refinamiento de las conexiones y diferenciación (Watkins & Jane, 2006). Así como en procesos neurodegenerativos y patológicos como, epilepsia (Meldrum, Akbar, & Chapman, 1999) isquemia (Gill, 1994), enfermedades motoras (Nestler, Hyman, &

Malenka, 2001) y procesos nociceptivos (Hoffmann & Charles, 2018; Vincent, Wang, Laferrière, Kumar, & Coderre, 2017) entre muchos otros.

El estudio del glutamato empezó en la década de 1930, sin embargo, solo se consideraba como un aminoácido que producía deficiencias neurofisiológicas, asociadas a la alimentación. Los primeros estudios que se hicieron fueron en la década de 1940, se estudió su papel en la epilepsia y en disfunciones del aprendizaje. Inclusive, se creía que su participación en el cerebro se debía a su cercanía con los aminoácidos en el ciclo de Krebs, y que su participación era meramente metabólica. El glutamato se consideró como neurotransmisor después de la década de 1970, en ese momento se conocía la acetilcolina, norepinefrina y serotonina. No fue sino hasta la 1980 que diversos experimentos con animales demostraron que el glutamato era un neurotransmisor (Curtis & Watkins, 1960), ya que cumplía con ciertos criterios como: la liberación después de una excitación de las terminales nerviosas, un sistema de transporte específico, así como la presencia de receptores post-sinápticos a glutamato (Fonnum, 1984).

El glutamato es sintetizado a partir del α -ketoglutarato, que a su vez se forma de glucosa; por lo tanto, este neurotransmisor forma parte del metabolismo de la glucosa y de los aminoácidos, siendo el precursor del GABA y de la glutamina en las células gliales. Una sinapsis glutamatérgica consiste en la pre-sinapsis, post-sinapsis, hendidura sináptica y atorcitos. El glutamato se vesícula y se libera de las terminales pre-sinápticas, en la terminal post-sináptica hay receptores inotrópicos (**α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol propiónico ((AMPA), Kainato (KA) y NMDA), receptores metabotrópicos de glutamato (iGluRs) (mGluR1-7) (Jessell et al., 2000). Por último, los atorcitos rodean la sinapsis y contienen transportadores de glutamato (EAAT1/2), así como transportador de glutamina (SN1). El glutamato remanente en el espacio intersináptico es capturado por**

procesos astrocíticos a través del transportador EAAT2. Una vez dentro de los astrocitos, el glutamato reacciona con el amoníaco y forma glutamina, la glia bombea a la glutamina por el transportador SN1 y regresa a la pre-sinapsis, y gracias a la glutaminasa, activada por fosfato, es convertida en glutamato; a este proceso se le conoce como el *ciclo de la glutamina* (Levy, Warr, & Attwell, 1998; Obrenovitch & Urenjak, 1997a, 1997b; Siegel, 1999) (**Figura 3**).

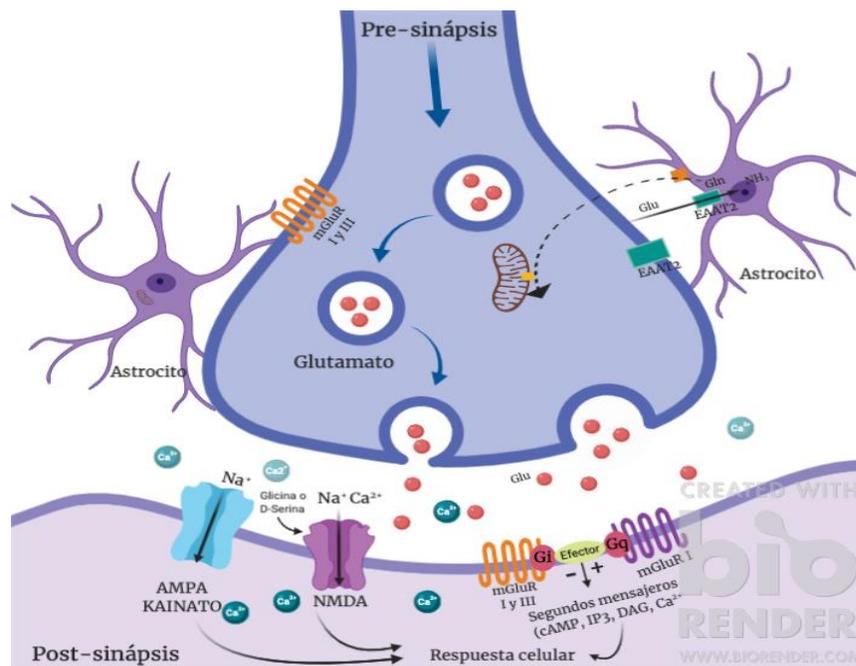


Figura 3. Vías de glutamato, síntesis y liberación así como, tipo de receptores glutamatérgicos. La figura muestra una sinapsis glutamatergica, consiste en un terminal nerviosa pre-sinapsis y una columna dendrítica post-sináptica. La pre-sinapsis contiene vesículas sinápticas con transportadores de glutamato, mitocondrias con glutaminasa en la terminal nerviosa, receptores metabotrópicos (mGluR I y III) y transportadores de glutamato (EAAT2). La columna dendrítica post-sináptica contiene receptores de glutamato, tanto ionotrópicos (tipo AMPA, Kainato y NMDA) como metabotrópicos (mGluR I, II y III), y transportadores de glutamato (EAAT3 y EAAT4). Alrededor de la sinapsis hay procesos astrocíticos con glutamato (EAAT1 y EAAT2) y transportadores de glutamina (transportadores SN1), receptores de glutamato e incluso vesículas llenas de glutamato (Modificada de (Siegel, 1999)).

2.4.2. Tipo de receptores

Dependiendo de sus características moleculares, farmacológicas y electrofisiológicas, los receptores glutamatérgicos se pueden dividir en ionotrópicos, que son canales iónicos y

de transmisión rápida y los metabotrópicos, que son de transmisión lenta y que están acoplados a proteínas G y son de transmisión lenta (Watkins & Jane, 2006) (**Figura 4**).

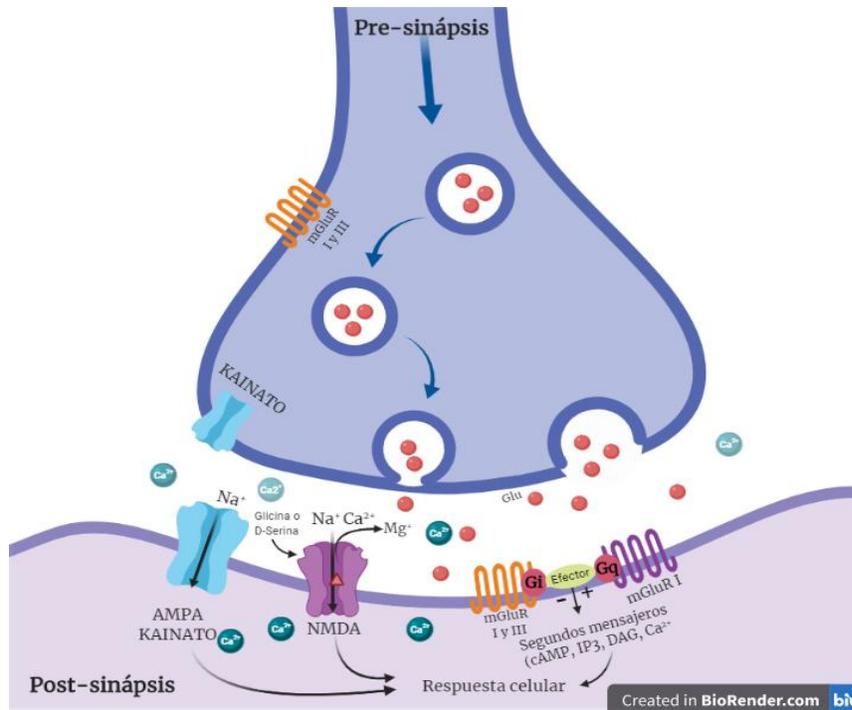


Figura 4. Tipos de receptores glutamatergicos. Los receptores AMPA y Kainato, permiten la entrada de Na^+ y la salida de K^+ , mientras que el receptor NMDA, también permite la entrada de Ca^{2+} , que propicia cambios intracelulares de acción rápida. Por otro lado, los receptores metabotrópicos están acoplados a proteína Gq, Gs y Gi (Modificada de (Siegel, 1999)).

2.4.2.1. Receptores ionotrópicos

Los receptores ionotrópicos como su nombre los dice son canales iónicos que se activan al unirse con el glutamato. Se caracterizan por conducir iones potasio (K^+), iones de sodio (Na^+) y calcio (Ca^{2+}), dependiendo del tipo de receptor. Están formadas por 4 subunidades, cada subunidad tiene a su vez unos cuatro dominios membrana, tres de ellos son transmembranales (TMI, TMIII y TMIV) y uno de ellos en intermembrana (TMII). Extracelularmente, el receptor tiene un extremo amino-terminal que es el sitio de unión de glutamato, mientras que intracelularmente tiene un extremo carbono-terminal con función reguladora (Siegel, 1999). Existen tres tipos de receptores ionotrópicos: AMPA, KA y

NMDA; nombrados por su afinidad/sensibilidad con los agonistas que le dieron el nombre. Sin embargo, estas subunidades están codificadas por al menos seis familias de genes: una familia para AMPA, dos para KA y tres para los NMDAR (Dingledine, Borges, Bowie, & Traynelis, 1999).

2.4.2.1.1.Receptor AMPA

Es un tipo de receptor glutamatérgico iónico regulado por ligando, que participa en la transmisión sináptica rápida, que responde al fármaco AMPA (α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol propiónico), tiene cuatro subunidades (GluA1-4). Su activación produce la entrada y salida del Na^+ y K^+ , por lo que es responsable de una rápida transmisión sináptica excitatoria (Dingledine et al., 1999; Siegel, 1999). En células que necesitan de una regulación por Ca^{2+} y no tienen NMDA, los receptores AMPA pueden ser sensibles a Ca^{2+} . En particular, se conoce que el tipo de neuronas con receptores AMPA permeables a Ca^{2+} carecen de la subunidad GluA2 y se encuentran mayormente en las sinapsis excitadoras de interneuronas inhibitorias GABAérgicas, mientras que la mayoría de las células principales expresan receptores AMPA impermeables a Ca^{2+} que contienen la forma editada de GluA2 (Nestler et al., 2001).

2.4.2.1.2.Receptor Kainato

El KA es el tipo de receptor glutamatérgico iónico que responde al ácido kaínico, al igual que el AMPA participa en la transmisión rápida, tiene un rol menor en la sinapsis, pero es fundamental para la regulación de la respuesta en la postsinapsis. Se encuentra principalmente en las terminales presinapsis, aunque también hay receptores KA en la postsinapsis. Se encuentra en terminales presinápticas, donde su activación puede modificar la liberación de neurotransmisores, por sus acciones despolarizantes. Dependiendo de la sinapsis y el grado de activación, los receptores presinápticos de kainato pueden facilitar o

deprimir la liberación del transmisor, y por lo tanto, regulan la liberación del glutamato y del GABA teniendo un papel fundamental en la inhibición/excitación de la sinapsis. Los receptores de KA también se encuentran post-sinápticamente en ciertas neuronas, donde normalmente generan potenciales post-sinápticos bajos, pequeños pero funcionalmente importantes (Nestler et al., 2001). El KA tiene cuatro subunidades (GluR5-GluR7, KA1 y KA2, son las subunidades funcionales para el KA). El KA induce una respuesta de desensibilización rápida cuando incluye GluR6, pero una respuesta de desensibilización lenta si incluye GluR5 (Duan, Farrell, Guenza, Stein, & Swanson, 1998; Swanson et al., 1997). Se sugiere que los receptores de KA también pueden ser metabotrópicos, iniciando una cascada de señalización de proteína G independiente de su señalización ionotópica (Sihra & Rodríguez-Moreno, 2013).

2.4.2.1.3. Receptor NMDA

El NMDAR, es un tipo de receptor glutamatérgico y tal vez uno de los receptores más estudiados en el SNC. A diferencia del AMPA y del KA, el NMDAR es una proteína muy compleja, altamente regulada, que se activa mediante la unión a un ligando y cofactores, siendo sensible a voltaje. Su nombre se debe a su gran afinidad con el fármaco NMDA, el cual es su agonista putativo (Watkins & Jane, 2006). La regulación se debe a la alta permeabilidad al Ca^{2+} , lo que permite diversos procesos como la plasticidad sináptica, el aprendizaje y la memoria. En concordancia, también un desbalance en la permeabilidad a Ca^{2+} deriva en diferentes patologías como la enfermedad de Parkinson y Huntington, la epilepsia y la esquizofrenia (Watkins & Jane, 2006).

Los NMDAR tienen tres familias de subunidades, NR1 (lo codifica un gen), NR2 (codificado por 4 genes NR2A-NR2D) y NR3 (codificado por 2 genes NR3A y NR3B). La subunidad NR1 está siempre presente en la conformación del receptor, en cambio la

subunidad NR2 tiene diferentes patrones de distribución, v.g. la NR2A está en su mayoría en el cerebelo, la NR2B y la NR2C, están distribuidas en el cerebelo, cerebro medio y un poco en cortezas, finalmente la NR2D en el cerebro medio. La subunidad NR3, está distribuida en la médula espinal, corteza para la subunidad NR3A, su distribución está en las neuronas motoras, médula espinal, puente y tallo cerebral (Siegel, 1999).

Los NMDAR tienen varias características muy particulares que lo diferencian del resto de los receptores iónicos, entre ellos, que el potencial de membrana que se requiere para su activación es de -50mV, a diferencia del resto de los receptores iónicos que es de -60 a -70 mV. Esto se debe a que el **ión magnesio (Mg^{2+})** se encuentra bloqueando el poro del canal y se bloquea (Nestler et al., 2001; Siegel, 1999). Este ion se mueve del canal cuando la membrana los NMDAR actúan como detectores de coincidencia que pueden detectar la actividad de muchas entradas sinápticas independientes que convergen en la misma célula (Lau & Tymianski, 2010). Su activación requiere que diferentes factores coincidan en el mismo momento. Al ser altamente permeable a Ca^{2+} su activación está bien regulada. El poro del NMDAR tiene el sitio de unión de dos ligandos, el mayor es glutamato y D-serina o glicina (Jessell et al., 2000), necesita de la liberación de glutamato que va a despolarizar a los AMPA y esta despolarización produce un cambio en el potencial de membrana, lo cual va permitir que el Mg^{2+} que tiene un sitio de unión dentro del poro del NMDAR, pierda su afinidad a dicho sitio de unión y permita el movimiento de los iones y con esto la entrada de Ca^{2+} (Mayer, Westbrook, & Guthrie, 1984). La fosforilación del NMDAR se puede dar a través de la **proteína cinasa A (PKA)**, **proteína cinasa C (PKC)** y la **calcio calmodulina proteína cinasa II (CAMKII)**, ya que tiene entre 10% y 70% de sitios de unión para las subunidades NR1 y NR2. La activación de la PKC potencia la activación del

NMDAR, a través de la activación de los receptores a opióides (Chen & Huang, 1992), mGluR1 y mGluR 5 (Aniksztejn, Otani, & Ben-Ari, 1992) y receptores muscarínicos de Ach (Markram & Segal, 1990) (**Figura 5**).

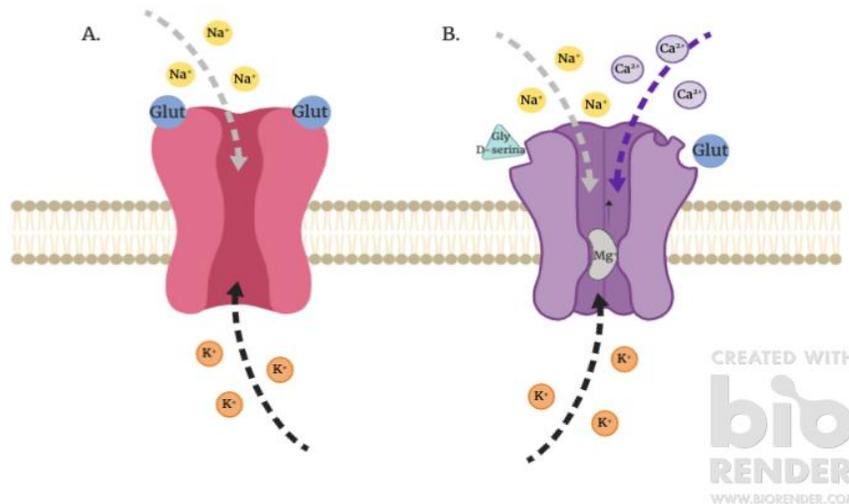


Figura 5. La activación de los NMDAR por voltaje y ligando (glutamato y glicina o D-serina). Dentro del poro del receptor NMDA, hay concentraciones de Mg^{+} , que lo bloquean cuando la célula se despolariza gracias al receptor AMPA o Kainato (aprox. $-30/-20$ mV). Al estar la membrana despolarizada, el receptor cambia su conformación y sus ligandos pueden unirse a él. La activación de los receptores permite la salida de K^{+} y la entrada de Na^{+} ; así como la entrada de Ca^{2+} (modificada de (Nestler et al., 2001; Siegel, 1999)).

2.4.2.2. Receptores metabotrópicos a glutamato

Los receptores metabotrópicos no conducen iones, sino que activan enzimas intracelulares a través de proteína G cuando se une el glutamato. Las proteínas G realizan una función central en el proceso de señalización transmembrana en el sistema nervioso. Estas proteínas fueron nombradas debido a su capacidad de unirse a los nucleótidos de guanina, guanosina trifosfato (GTP) y guanosina difosfato (GDP) (Nestler et al., 2001). El término metabotrópico se usó para indicar que estos receptores afectan los procesos bioquímicos celulares y no forman canales iónicos. Al no formar canales iónicos, están acoplados al sistema de segundos mensajeros, regulados por proteínas G, produciendo una regulación sináptica más lenta (Pin & Duvoisin, 1995). Estos receptores, que se

caracterizan por siete dominios transmembranales, se acoplan a las proteínas G mediando los efectos biológicos de la activación del receptor. Sin embargo, los receptores metabotrópicos de glutamato, como otros receptores acoplados a proteínas G, pueden ejercer profundos efectos sobre la función neuronal a través de la regulación de otros canales iónicos y segundos mensajeros. Existen tres tipos de receptores acoplados a proteínas G, los Gq (incrementan la **fosfolipasa C (PLC)**), Gi (inhiben la adenilato ciclasa) y Gs (incrementa la adenilato ciclasa) (Watkins & Jane, 2006).

El glutamato tiene la capacidad de activar los tres tipos de receptores Gq y Gi. Los receptores metabotrópicos se dividen en 8 subtipos (mGluR1-8), y se organizan en tres grandes grupos mGluR I, mGluR II y mGluR III, que se han clasificado de acuerdo a la homología de su secuencia de aminoácidos, a los mecanismos de transducción de señales y a sus propiedades farmacológicas.

Los mGluR del grupo I contiene al grupo mGluR1 y al mGluR5. Estos receptores estimulan la actividad de la **fosfolipasa C (PLC)** y la liberación del Ca^{2+} de las reservas intracelulares (Heuss, Scanziani, Gähwiler, & Gerber, 1999). La activación de las proteínas G activa a la PLC afectando la cascada río abajo del Ca^{2+} (Abe et al., 1992). La activación de la PLC conduce a la formación de inositol 1,4,5-trifosfato (IP3) y de diacilglicerol, activando la PKC (Lau & Tymianski, 2010). Al estar acoplados a proteína Gq se incrementa la actividad de calcio intracelular, que también potencia la actividad de los NMDAR (Bruno et al., 1995).

Tanto el grupo mGluRII como el mGluRIII, usan los mismos mecanismos de la vía de la adenilato ciclasa, inhibiendo la formación de **adenosín monofosfato cíclico (AMPC)** y por consecuencia inhibiendo la actividad de PKA por estar acoplados a proteínas Gi (Pin & Duvoisin, 1995). Los mGluR del grupo II incluyen a los receptores mGluR2 y mGluR3.

Estos receptores se encuentran tanto en la pre como en la postsinapsis así como en las células gliales (Abe et al., 1992; Luján, Roberts, Shigemoto, Ohishi, & Somogyi, 1997; Petralia, Wang, Niedzielski, & Wenthold, 1996; Shigemoto et al., 1997). Dado que el calcio pre-sináptico es parte fundamental de la neurotransmisión, los mGluRII, modulan la neurotransmisión a través de su acción sobre los canales de calcio regulados por voltaje (Lau & Tymianski, 2010).

El del grupo III incluye los receptores mGluR4 mGluR6 y mGluR7. Su activación al igual que el grupo II da como resultado la inhibición de la adenilato ciclasa (Nestler et al., 2001). Al encontrarse en la pre-sinapsis, así como en la post-sinapsis, su acción es sobre la regulación y la liberación de glutamato (Bradley, Levey, Hersch, & Conn, 1996).

2.4.3. Glutamato en relación con la plasticidad neuronal

Debido a la gran permeabilidad a calcio, así como al Na^+ y K^+ , el NMDAR es uno de los receptores más estudiados en relación con la plasticidad cerebral. El NMDAR es un “*detector de coincidencia*” que depende de la temporalidad de la unión de diversos factores, 1) despolarización de la membrana postsináptica, 2) la unión del coagonista a su sitio de unión y 3) la remoción del Mg^{2+} del poro del canal. Así, la activación del NMDAR llevará a un aumento en la entrada de Ca^{2+} y lo que puede resultar en la activación de diversas enzimas dependientes de Ca^{2+} , incluidas las proteínas cinasas dependientes de CAMKII, PKC, fosfolipasa A2, fosfolipasa C, óxido nítrico sintasa y varias proteasas (Nestler et al., 2001; Siegel, 1999). Por lo tanto, la activación del NMDAR puede traducir señales eléctricas en bioquímicas, que llevan a cambios duraderos en la sinapsis. Entre los cambios que se han visto a este nivel son la LTP, y la **deprsiión a largo plazo (LTD)** (Jessell et al., 2000).

La LTP es, en pocas palabras, un incremento en la transmisión sináptica que persiste por un tiempo relativamente largo (horas, días, años) (Bazzari & Parri, 2019). Para que pueda ocurrir la LTP se necesita de la activación de los NMDAR, con todos los cambios intracelulares que se producen por la entrada de Ca^{2+} , cambiando el tráfico del receptor AMPA, este cambio produce un aumento de los receptores AMPA en la membrana postsináptica (Jessell et al., 2000). La actividad de los receptores AMPA incrementa la despolarización de la membrana y en consecuencia aumenta la probabilidad de activación de los NMDAR (Siegel, 1974; Siegel, Agranoff, Albers, Molinoff, & Wolf, 1996). El aumento en la actividad del NMDAR produce un mantenimiento de la LTP, que genera síntesis de proteínas, e incrementa las espinas dendríticas (Bazzari & Parri, 2019). El bloqueo con el antagonista **α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol propiónico (AP5)**, impide la LTP no solo en el hipocampo (Volianskis et al., 2015), sino también en estructuras como la CI (Escobar, Chao, & Bermúdez-Rattoni, 1998; Rodríguez-Durán & Escobar, 2014; Rodríguez-Durán, Martínez-Moreno, & Escobar, 2017). Por otra parte, cuando hay activaciones más débiles hacia los NMDAR, se produce una LTD. La baja estimulación de la neurona produce una disminución en la entrada de Ca^{2+} y una regulación a la baja de los receptores AMPA (Nestler et al., 2001) (**Figura 6**).

Si bien los receptores ionotrópicos a glutamato (AMPA y NMDA) han sido los más estudiados durante la LTP y la LTD, diversos estudios también han mostrado la participación de los receptores metabotrópicos. En el caso de la LTD se ha encontrado la participación de los receptores metabotrópicos mGluR1-5, así como de los receptores metabotrópicos canabinoides (**CB1**), los cuales actúan en la presinapsis decrementando la liberación del glutamato (Bazzari & Parri, 2019).

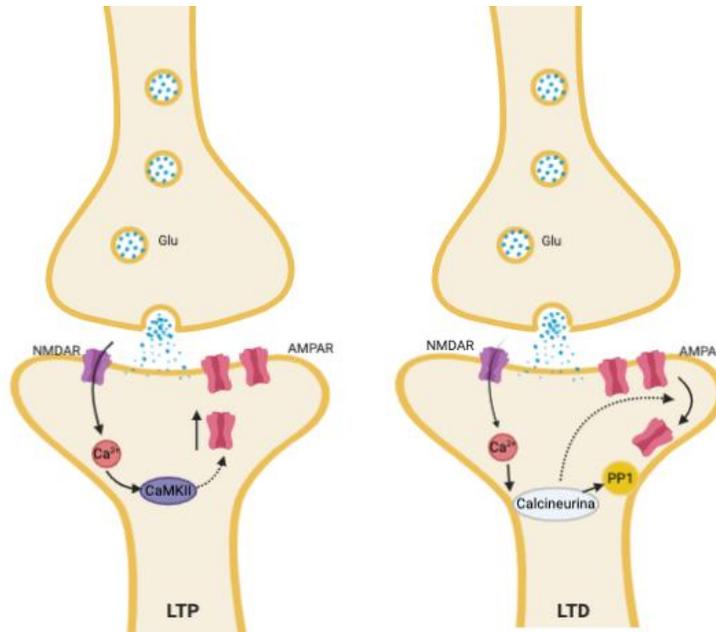


Figura 6. Mecanismos de inducción y expresión del LTP y LTD, dependientes de la activación del receptor de NMDA post-sináptico que conduce a un aumento de Ca^{2+} y la activación de CaMKII. La inserción del receptor de AMPA en la membrana post-sináptica es un mecanismo principal que subyace a la expresión de LTP. El LTD dependiente del receptor de NMDA se desencadena por una modesta entrada de Ca^{2+} a través de los canales del receptor de NMDA post-sináptico que conduce a aumentos en la actividad de la proteína fosfatasa calcineurina y la proteína fosfatasa 1 (PP1). El mecanismo de expresión primaria implica la internalización de los AMPAR post-sinápticos (modificada de (Nestler et al., 2001)).

2.5. Aprendizajes emocionales

2.5.1. Valencia

Las reacciones emotivas se han conservado durante la evolución, y tienen un gran impacto en la conducta y en la respuesta a los eventos ligados a la supervivencia. Las emociones se definen como el conjunto de respuestas fisiológicas, detectadas por el cerebro, ante ciertos cambios en el ambiente (Jessell et al., 2000). Desde el punto de vista evolutivo, las emociones son respuestas a los estímulos externos necesaria para la supervivencia, permiten responder a ciertos estímulos de forma rápida y acertada (Darwin, 1872). Las emociones se dividen en dos; las autónomas o inconscientes y las voluntarias o conscientes. Las emociones inconscientes, son la que producen un cambio en la respuesta fisiológica, por ejemplo, incremento en la respuesta cardiaca al ver un perro. Las emociones

conscientes, también llamadas sentimientos, a menudo (pero no siempre) acompañan estas respuestas corporales. Las emociones conscientes o voluntarias son las percepciones “*conscientes*” de las respuestas emocionales, los sentimientos son memorias que nuestro cerebro crea para representar los fenómenos fisiológicos generados por el estado emocional, éstas emociones están presentes únicamente en los seres humanos. Las emociones son automáticas, en gran medida inconscientes, las respuestas conductuales y cognitivas desencadenadas cuando el cerebro detecta un estímulo significativo cargado positiva o negativamente (Jessell et al., 2000).

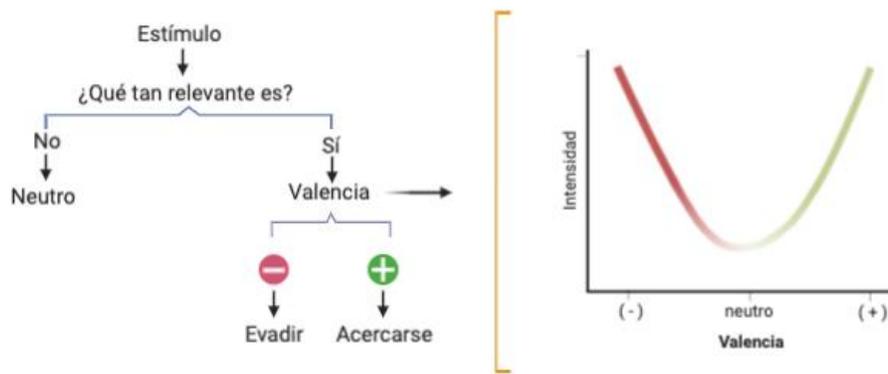


Figura 7. Teoría del procesamiento de los estímulos (modificada de (Tye, 2018)).

En este trabajo se utilizará el término operacional de *carga o estado emocional* como el estado-interno después de la presentación de un estímulo, que produce una conducta motivada, puede ser apetitiva (incremento en la respuesta para obtener un reforzador), o aversiva (un decremento en la respuesta, para evitar un castigo). La relevancia del estímulo depende del valor y de la intensidad: la *intensidad* se refiere al estado homeostático interno de cada individuo, por ejemplo; el estar en un estado de hambruna producirá un incremento en la búsqueda e ingesta de alimento; el *valor*, se refiere la importancia que cada estímulo externo tenga en el individuo, es dependiente del contexto (Berridge, 1999; Tye, 2018). El cerebro tiene la capacidad de filtrar los estímulos importantes de los no relevantes, de este

modo se da una respuesta rápida al entorno dinámico en el que vivimos (Tye, 2018). Ciertos estímulos tienen una valencia inherente, esto quiere decir que no necesitan ser asociados con otro estímulo. Por lo tanto, hay estímulos con una valencia positiva (estímulos apetitivos) o valencia negativa (estímulos aversivos) inherente. El término valencia se refiere a una señal sensorial, ya sea interna o externa, que produce una respuesta puntual en el momento que se presenta (**Figura 7**). Estímulos con valencias innatas o inherentes producen una “*carga emocional*”, las emociones son respuestas derivadas del ambiente que producen cambios en el nivel de activación del sistema nervioso central como un incremento en la excitación cortical y por ende la atención, la formación de la memoria y la toma de decisiones, así como el sistema endócrino y autónomo (Jessell et al., 2000) (**Figura 8**).

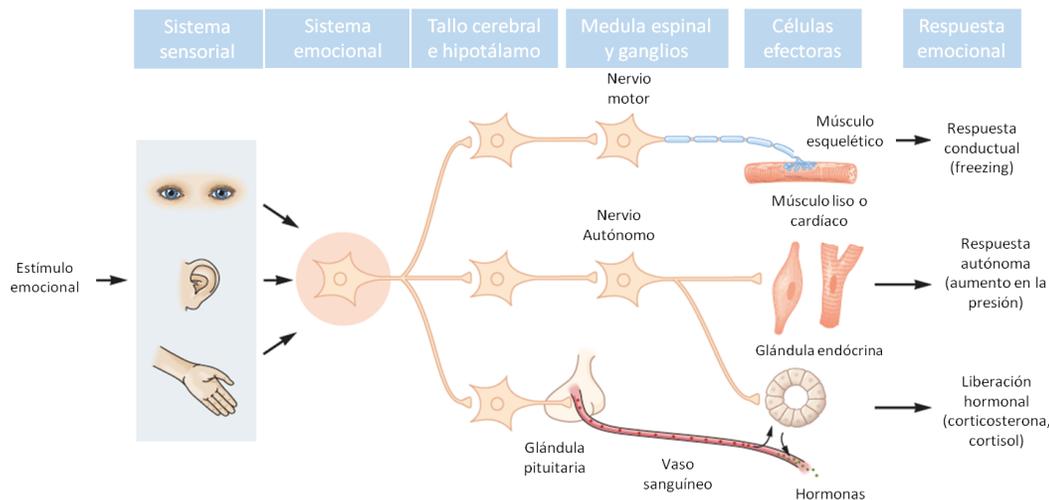


Figura 8. Respuestas asociadas con el miedo: Control neuronal de las respuestas emocionales a estímulos externos procesados por los sistemas sensoriales que convergen con áreas de procesamiento emocional. Las proyecciones de los sistemas de procesamiento de emociones a las regiones hipotalámicas y del tallo cerebral activan las células efectoras que controlan la expresión de las respuestas fisiológicas, incluida la acción esqueleto muscular, la actividad del sistema nervioso autónomo y la liberación hormonal (modificada de (Jessell et al., 2000)).

El estudio de las emociones desde la fisiología inició a finales del siglo XIX con William James, quien planteó la teoría que proponía que cada emoción (enojo, miedo,

alegría) tiene un patrón único que activa una respuesta corporal, controlada por el cerebro; por ejemplo, al correr a causa de un perro, se acelera la respuesta cardíaca, y este incremento fisiológico produce el “*sentimiento*” de miedo (James, 1884, 1894). James propuso que la corteza del cíngulo se conectaba con el hipotálamo a través de los cuerpos mamilares y hacia el núcleo dorsal anterior del tálamo, que a su vez proyecta al giro cingulado. Posteriormente la información viaja a través del fórnix hacia el hipotálamo, este circuito proyecta a la corteza y es necesario para el control de las emociones, y es conocido como el circuito de Papéz. Estudios posteriores con monos mostraron que lesiones en la corteza prefrontal tenían conductas agresivas, así como conductas sexuales exacerbadas. Otras investigaciones, encontraron que lesiones en diferentes áreas de la corteza prefrontal, producían un deterioro en las emociones sociales y los sentimientos (Jessell et al., 2000). En humanos lesiones en la corteza prefrontal, producen una incapacidad para seguir reglas, inestabilidad financiera, laboral y personal, así como juicios morales defectuosos (Bechara, Tranel, & Damasio, 2000; Damasio, 2000; Damasio et al., 2000; Semendeferi, Lu, Schenker, & Damasio, 2002).

Papéz no incluyó diversas estructuras como la corteza orbitofrontal y prefrontal, así como las partes ventrales de los ganglios basales, el núcleo medio dorsal del tálamo, el hipocampo y la amígdala, ahora es reconocido que estas estructuras son parte del sistema límbico y necesarias en el procesamiento de las emociones (**Figura 9**). Otra estructura que no pertenece al sistema límbico es el tallo cerebral, contiene a los pares craneales que reciben la información sensorial de las periferias y de las cortezas, también recibe información motora mandando información descendente (Jessell et al., 2000; Parvizi & Damasio, 2001; Purves et al., 2008).

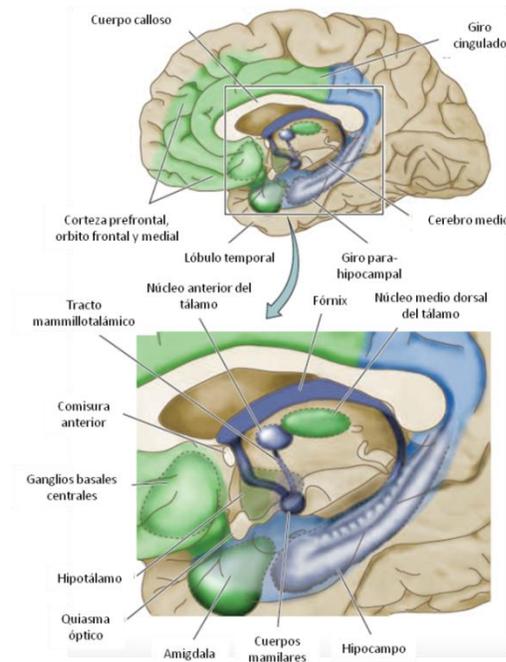


Figura 9. El sistema límbico incluye estructuras que procesan información sensorial, así como estructuras encargadas con la toma de decisiones. Entre las estructuras implicadas procesamiento de las emociones, se encuentran el cuerpo caloso, giro cingulado, y corteza prefrontal, en particular la cPF orbitofrontal y medial, ganglios basales, hipotálamo, hipocampo, fórnix, tracto mamilotalámico, tálamo, cuerpos mamilares y amígdala (Modificada del (Purves et al., 2008)).

2.5.2. Circuitos de procesamiento de los estados emocionales

Se cree que los elementos cognitivos en las emociones, que llamamos estados de sentimiento en humanos, están mediados por vías que proyectan a la corteza cerebral y que se originan en la musculatura del cuerpo y los órganos internos, por un lado, y de la amígdala, por otro lado (Jessell et al., 2000). Cualquier estímulo externo que sea percibido por cualquier sistema exteroceptivo (olfato, gusto, tacto, oído y audición) puede desencadenar una serie de cambios en el sistema nervioso (Damasio & Carvalho, 2013). Cambios en la homeostasis corporal (hambre, sed, sueño, temperatura) son los primeros en ser detectados por el sistema nervioso, existe un sistema interoceptivo, son estructuras encargadas de cesar éstos cambios corporales; la mayor parte de los estímulos pasan por; primero por el tallo cerebral, llegando a el nervio vago por la lámina I de la medula espinal, pasando por el **núcleo del tracto solitario (NTS)**, área postrema, **núcleo**

parabraqueal (NPB), área ventral tegmental (VTA), sustancia nigra, núcleo rojo, sustancia gris periaqueductal (PAG), colículos superiores e hipotálamo, involucrando al sistema monoaminoérgicos (Damasio, 2000; Panksepp, 1998). Trabajos recientes han demostrado que estructuras corticales como la CI, corteza del cíngulo anterior y corteza somatosensorial están íntimamente conectadas con este circuito debido a las proyecciones que tienen con el NTS, área ventral tegmentada y núcleo parabraquial (Craig & Craig, 2009; Rainville, Duncan, Price, Carrier, & Bushnell, 1997; Shackman et al., 2011). Sin embargo, no todas las estructuras ni todos los circuitos participan en todos los estados emocionales. Las emociones más “*primitivas*” se relacionan al PBN, NTS, PAG, hipotálamo y tallo cerebral; en cambio las más *reciente* evolutivamente hablando están en las cortezas (**Figura 10**).

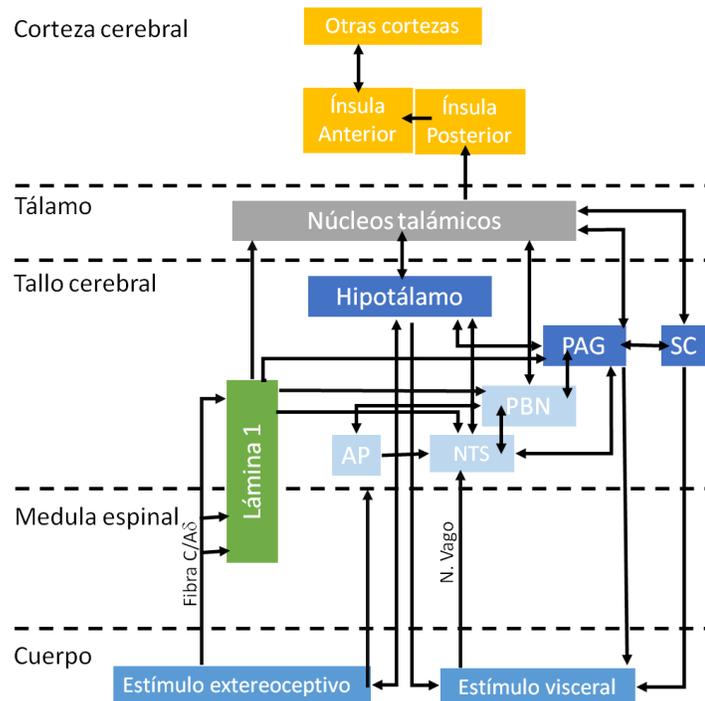


Figura 10. Vías encargadas de la detección y mapeo de la homeostasis y sistema límbico. Dos vías principales transmiten información del medio interno y las vísceras al SNC. La vía de la lámina I con fibras C y Aδ provenientes de cada área del cuerpo y que transportan información relacionada con de los cambios homeostáticos. Esta vía converge en la lámina I (asta posterior de materia gris de la médula espinal y el núcleo del trigémino). Desde aquí, las neuronas secundarias ascienden y se proyectan a centros homeostáticos del núcleo tracto solitario (NTS), núcleo parabraquial (PBN) y la sustancia gris periaqueductal (PAG). Estos centros están íntimamente interconectados y proyectan hacia la

corteza (principalmente la ínsula posterior) a través del tálamo. La información recopilada en la ínsula posterior se proyecta rostralmente a la ínsula anterior, que a su vez proyecta a la corteza orbitofrontal. Algunas fibras de la vía de la lámina I proyectan directamente hacia la ínsula (a través del tálamo), sin pasar por el tallo. El nervio vago transporta información desde las vísceras hasta el NTS, que luego se proyecta a la PBN, PAG e hipotálamo. Cada una de estas estructuras también se proyecta directamente a la corteza insular a través del tálamo. La comunicación extensa entre la lámina I y las vías del vago permite la formación de mapas integrados de estados corporales. El área postrema detecta directamente el medio interno y está íntimamente conectado al NTS y a colículos superiores (Modificada de (Damasio & Carvalho, 2013)).

El nervio vago, en el tallo cerebral es el encargado de procesar toda la información sensorial y de cambios homeostáticos (Damasio, 2000; Parvizi & Damasio, 2001); posteriormente en el PBN y PAG continúa la integración de la información, y dependiendo de la importancia para la supervivencia la complejidad del procesamiento recluta diferentes áreas. Los colículos superiores son otra área de interés, debido a que reciben información de tipo visual, auditiva y somatosensorial (Stein, Spencer, & Edwards, 1984).

Estudios recientes han propuesto a la CI como el área de integración interoceptiva y el procesamiento de sentimientos tanto aversivos como apetitivos (Damasio, 2000; Naqvi, Gaznick, Tranel, & Bechara, 2014; Naqvi, Rudrauf, Damasio, & Bechara, 2007), la lesión de esta área produce un decremento en la integración de estímulos aversivos así como del aprendizaje asociativo (Bermudez-Rattoni, 2014; Naqvi et al., 2007; Uddin & Menon, 2009). La CI conecta con la corteza del cíngulo anterior, implicada en la integración de la relevancia de los estímulos y en la atención, así como con el control motor (Menon & Uddin, 2010). La CI, también tiene conexiones con **la corteza somatosensorial primaria (SI)** y **la corteza somatosensorial suplementaria (SII)**, a pesar de que las lesiones de estas dos últimas cortezas o de la CI no alteran la expresión o integración de las emociones ni en humanos ni en roedores, sí alteran la ejecución de movimientos. Por último, la corteza prefrontal es parte del circuito regulador de los estados emocionales, si bien también participa en la memoria de trabajo, es por lo tanto lógica su participación en la ejecución de las respuestas emocionalmente motivadas (Semendeferi et al., 2002). De forma particular,

la corteza orbitofrontal se ha caracterizado por su papel en la toma de decisiones con “*carga emocional*” tanto en primates humanos como primates no humanos (Bechara, Damasio, & Damasio, 2000; Bechara, Tranel, et al., 2000).

Es importante aclarar que la información percibida que origina una respuesta emocional se puede asociar a diferentes estímulos externos, dicha asociación produce un aprendizaje, dependiendo del valor emocional del estímulo, negativo o positivo, aversivo o apetitivo respectivamente (Beyeler et al., 2018; Tye, 2018).

2.5.3. Aprendizaje apetitivo y aversivo: CAS, EIn, IL

La información adquirida a través de la experiencia puede representar a varios estímulos que son inherentemente apetitivos o agradables, y que poseen una valencia positiva; así como estímulos que son inherentemente aversivos y tienen un valor o “*valencia*” negativa (Namburi, Al-Hasani, Calhoon, Bruchas, & Tye, 2016), que pueden ser asociados, a otros estímulos neutrales o de diferente valor, a través de aprendizajes. Desde el punto de vista evolutivo aprender qué comer y evitar las toxinas es fundamental para la supervivencia. En el laboratorio una tarea que se emplea para evaluar la capacidad de aprender que un sabor o un alimento es potencialmente tóxico es a través del CAS. En este paradigma los animales aprenden a evitar un sabor, cuya valencia innata es apetitiva, pero que se combina con un malestar visceral, cuya valencia innata es aversiva, el evitar el consumo de este alimento protege a los animales contra el consumo de venenos o toxinas. La palatabilidad del sabor (EC) cambiará de valencia positiva a negativa debido a la asociación con un malestar visceral (Bermúdez-Rattoni, Ramírez-Lugo, Gutiérrez, & Miranda, 2004; Lin, Arthurs, & Reilly, 2017). En la naturaleza, este aprendizaje asociativo ocurre al ingerir alimentos venenosos que incluyen nutrientes con un sabor particular y contenido tóxico en el mismo artículo comestible; sin embargo, en el laboratorio, estos

componentes generalmente se presentan por separado para permitir el análisis experimental (Lin et al., 2017). Por lo tanto, el sabor (EC) puede presentarse horas después del malestar gástrico (EI), este **intervalo inter estímulo (IIE)** permite la disociación de la adquisición de EC de la asociación EC-EI y permite el análisis de fases de aprendizaje independientes, ofreciendo ventajas significativas para la investigación de mecanismos de aprendizaje asociativo (Schafe, Sollars, & Bernstein, 1995).

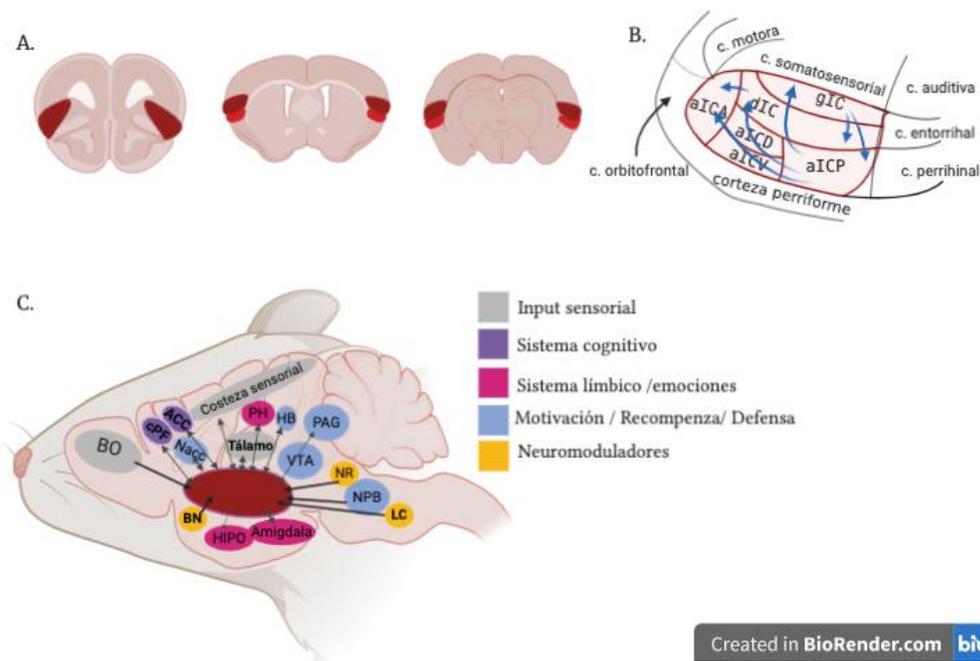
Otro modelo empleado para el estudio de la formación de memoria es la EIn, donde el animal aprende a inhibir la tendencia natural de explorar un contexto determinado, para evitar un estímulo aversivo (Izquierdo et al., 2006).

El aprendizaje apetitivo al sabor se ha estudiado utilizando en varios modelos, por ejemplo, la atenuación a la neofobia, donde la presentación repetida a un sabor novedoso incrementa el consumo observado inicialmente y por lo tanto incrementa la respuesta apetitiva después de un consumo disminuido por el miedo a lo nuevo (Domjan, 1976). Otro modelo empleado es la IL, que se define como una disminución en el rendimiento de aprendizaje que resulta de la preexposición no reforzada del estímulo que posteriormente será condicionado (Lubow & Moore, 1959). Como se mencionó en apartados anteriores, a través de la IL se puede evaluar la memoria incidental o memoria apetitiva de un estímulo no asociado de manera específica o identificable (Dudai, 1989). Una estructura que ha sido estudiada en aprendizajes tanto apetitivos como aversivos ha sido la CI (Bermúdez-Rattoni et al., 2004). La CI como se describirá en la sección siguiente tiene un papel de procesamiento de información visceral, interoceptiva, exteroceptiva y emocional (Bermudez-Rattoni, Okuda, Roozendaal, & McGaugh, 2005; Bures, Bermúdez-Rattoni, & Yamamoto, 1998; Yamamoto, Azuma, & Kawamura, 1984).

2.6. Corteza insular (CI)

2.6.1. Generalidades

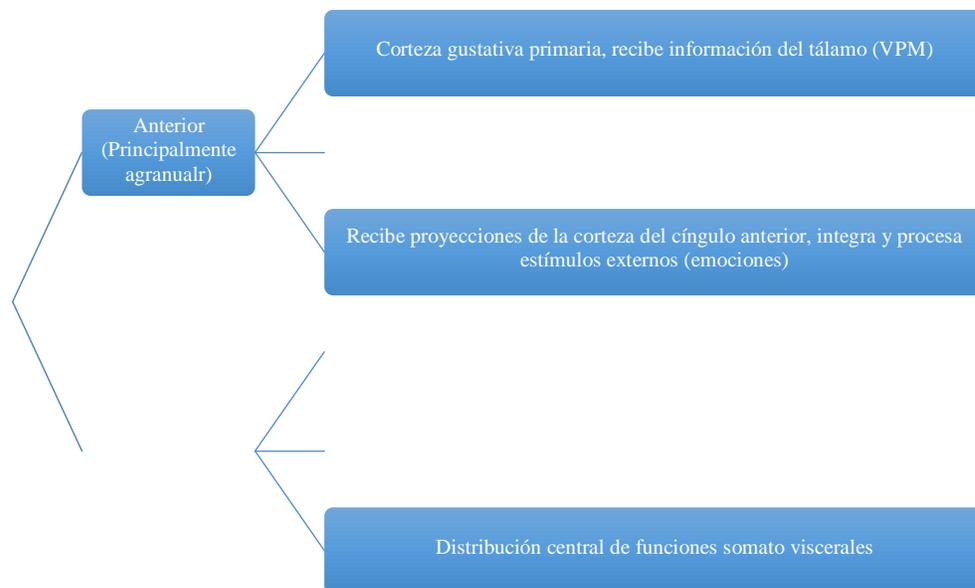
La CI se encuentra en primates, debajo del surco lateral de cada hemisferio, por lo que su nombre viene del latín “*isla*”. La CI también se considera como un lóbulo separado y ocupa el 2% del total de la superficie cortical. Es la primera área de la corteza cerebral en desarrollarse y comienza a la sexta semana del desarrollo fetal (Afif, Bouvier, Buenerd, Trouillas, & Mertens, 2007). Su ubicación en roedores, es por encima del surco rinal, expuesta en la superficie del hemisferio lateral (Aleksandrov & Fedorova, 2003). La CI es una neocorteza, a pesar de que la capa IV está casi ausente, y que las capas II y III no están diferenciadas. En cuanto a su extensión en dirección rostro-caudal abarca de la corteza frontal lateral a la corteza perirhinal, y en su dirección dorsoventral desde la corteza somatosensorial secundaria hasta la corteza piriforme (Paxinos & Watson, 2006). Se puede dividir de forma macroscópica en anterior y posterior utilizando la fisura rhinal (Uddin & Menon, 2009) (Figura 11).



Created in BioRender.com

Figura 11. A. Cortes coronales a diferentes niveles de la CI con respecto a bregma. B. Subdivisiones y comunicación interna de la CI, agranular (aIC), disgranular (dIC), granular (gIC), agranular anterior (aICA), agranular posterior (aICP), agranular dorsal (aICD), agranular ventral (aICV). C. Esquema simplificado de las conexiones de la CI: flechas grises conexiones recíprocas aferentes y eferentes; flechas negras conexiones aferentes. Las áreas sensoriales en color gris, en color morado áreas cognitivas, en color rosas áreas del sistema límbico, en color azul áreas del sistema recompensa, motivación o defensa y por último en amarillos áreas de modulación cortical (modificada de (Gogolla, 2017)).

En cuando a su formación citoarquitectónica la CI se divide en tres regiones por el tipo de neuronas, agranular, disgranular y granular (ventral-dorsal). La región agranular es la más grande en la parte anterior de la CI, ésta no cuenta con la capa IV y la capa II y III no están diferenciadas, sus neuronas tienen altos niveles de mielina. La región disgranular tiene menos niveles de mielina y contiene todas las capas. La región granular, (más dorsal) contiene mielina y todas las capas. Las tres capas reciben diferente información de diversas estructuras, aun así, las tres capas están en contaste comunicación, la región granular proyecta y recibe de región agranular; a su vez la región agranular a su vez proyecta y recibe a la región disgranular y ésta a la región granular (Maffei, Haley, & Fontanini, 2012; Mesulam & Mufson, 1982; Mufson & Mesulam, 1982). Las capas de la CI son un circuito donde reverbera la información. La región agranular posterior manda información a región agranular anterior y hacia las regiones granulares y disgranulares posteriores. Y las áreas posteriores de las regiones granulares y disgranulares proyectan a la región agranular anterior. La región disgranular posterior está relacionada con la modalidad gustativa, y la región granular está relacionada con la parte visceral, recibiendo la información del nervio vago (Shi & Cassell, 1998). La región agranular está conectada con el tallo cerebral, tálamo, así como con el sistema límbico. La parte posterior de la CI procesa información aversiva (Gehrlach et al., 2020) (**Figura 11-B**).



Esquema 1. Clasificación de las regiones de la CI, así como proyecciones.

La CI tiene conexiones recíprocas con la corteza orbitofrontal, corteza del cíngulo anterior, SI, SII, corteza somatosensorial, núcleos mediodorsal y ventroposteromedial del tálamo, amígdala, globo pálido, núcleo parabraquial y NTS (Flynn, 1999). Lesiones en la CI afectan la producción y comprensión del lenguaje (Ardila, 1999). La CI recibe proyecciones del **núcleo basolateral de la amígdala (BLA)**, núcleo basal magnocelular, del VTA, núcleo del raphé y locus ceruleus. Por otra parte, la CI proyecta al núcleo central de la amígdala, estriado, claustró, núcleo accumbens y corteza entorrinal. Estudios recientes han demostrado que durante una asociación aversiva al sabor, la CI manda proyecciones excitatoria que activan NMDAR en la capa CA1 del hipocampo (Chinnakkaruppan, Wintzer, McHugh, & Rosenblum, 2014; Gehrlach et al., 2020), demostrando que hay una relación entre el sabor y el contexto (**Esquema 1**).

La CI también recibe y procesa información a través de diversos neurotransmisores. Principalmente esta corteza tiene neuronas glutamatérgicas, que es el principal

neurotransmisor excitador eferente en la corteza cerebral; en la CI se han encontrado receptores glutamatergicas, en particular del NMDAR, cuya función se ha descrito durante la formación de memorias aversivas (Ferreira, Gutierrez, Cruz, & Bermúdez-Rattoni, 2002; Ferreira, Miranda, Cruz, Rodríguez-Ortiz, & Bermúdez-Rattoni, 2005). También hay otro tipo de receptores como AMPA, KA, y mGluR (Berman et al., 2000). Como en el caso de otras cortezas, recibe proyecciones GABAérgicas, principal neurotransmisor inhibitor, a través de receptores GABA_A (Cameron et al., 2007). De manera primordial se han descrito las proyecciones colinérgicas del **núcleo basal magnocelular (NBM)** hacia esta corteza, donde la acetilcolina opera a través de sus receptores muscarínicos y nicotínicos, siendo un área cortical con altos niveles de acetilcolinesterasa (Gatley et al., 1998; Ramírez-Lugo, Miranda, Escobar, Espinosa, & Bermúdez-Rattoni, 2003). Además de proyecciones colinérgicas recibe procesos dopaminérgicos del VTA, que actúan sobre los receptores a dopamina D1, D2 y D4 (Hurd, Suzuki, & Sedvall, 2001), así como proyecciones serotoninérgicas del núcleo de raphé, y adrenérgicas del locus coeruleus (Bermudez-Rattoni, 2014; Gogolla, 2017; López-García, Bermúdez-Rattoni, & Tapia, 1990; Miranda & Bermúdez-Rattoni, 1999). Recientemente, se han encontrado receptores histaminérgicos en la CI, que participan en tareas motivacionales aversivas (Purón-Sierra, Sabath, Nuñez-Jaramillo, & Miranda, 2010).

Durante muchos años la CI fue considerada primordialmente como corteza gustativa primaria. Sin embargo, diversos trabajos mostraron que contiene representaciones viscerales y puede integrar conductas emocionalmente motivadas. Actualmente se le considera como un centro integrador debido a las variadas conexiones que tiene con estructurales como subcorticales, conectando diferentes sistemas funcionales subyacentes al

procesamiento sensorial, emocional, motivacional y cognitivo (Gehrlach et al., 2020; Kullmann et al., 2013).

De tal forma, la IC integra señales interoceptivas de todo el cuerpo no solo con información gustativa (Frank, Kullmann, & Veit, 2013). Así la CI, contribuye a la toma de decisiones, ya que sopesa consecuencias interoceptivas asociadas a respuestas de señales contextuales, dependientes de necesidades fisiológicas (Huerta, Sarkar, Duong, Laird, & Fox, 2014; Livneh et al., 2017), asimismo, la CI podría modular la respuesta conductual entre una pista visual y las conductas de alimentación (Komano-Inoue et al., 2014; Quintero et al., 2014).

2.6.2. Participación de la CI en el CAS, EIn e IL

Como ya se ha mencionado la CI es una de las estructuras cerebrales relevantes para el CAS y la EIn, ya que su lesión impide la formación de la memoria de estas tareas (Bermudez-Rattoni & McGaugh, 1991; Moraga-Amaro, Cortés-Rojas, Simon, & Stehberg, 2014; Stehberg, Moraga-Amaro, & Simon, 2011). Extensa evidencia indica que la CI está involucrada en el aprendizaje del sabor; lesiones (Bermudez-Rattoni & McGaugh, 1991), inactivación funcional (Bermudez-Rattoni, Introini-Collison, & McGaugh, 1991; Gallo, Roldan, & Bureš, 1992) o inhibición de la síntesis de proteínas (Rosenblum, Meiri, & Dudai, 1993) en la CI perjudica la adquisición de CAS. Particularmente, la actividad glutamatérgica en esta corteza es crítica durante toda la formación de la memoria aversiva del sabor; por ejemplo, durante la adquisición de CAS hay un aumento extracelular de glutamato en el CI inmediatamente después de la inyección **intraperitoneal (ip)** del agente de malestar gástrico, **cloruro de litio (LiCl)** (Miranda, Ferreira, Ramírez-Lugo, & Bermúdez-Rattoni, 2002), así como después de 45 minutos de la inyección (Guzmán-Ramos, Osorio-Gómez, Moreno-Castilla, & Bermúdez-Rattoni, 2010). Además,

varias manipulaciones farmacológicas en la CI durante la adquisición de CAS indican una función relevante de los receptores glutamatérgicos en todo el IIE. Particularmente, hay evidencia de que los NMDAR participan en la formación de la memoria a largo plazo del CAS; por ejemplo, el bloqueo de los NMDAR con el agonista no competitivo **3 (-2 carboxipiperazin-4-il) -propil-1 ácido fosfónico (CPP)** inyectado 1 h antes de la presentación del EC en la CI interrumpe la formación de la memoria del CAS (Escobar, Fernandez, Guevara-Aguilar, & Bermúdez-Rattoni, 1989). De manera similar, un bloqueo de los NMDAR en la CI, con el antagonista competitivo AP5, durante el IIE (30 minutos después de EC y 20 minutos antes de EI), también interrumpió el CAS (Rosenblum, Berman, Hazvi, Lamprecht, & Dudai, 1997). Sin embargo, el mismo bloqueo inmediatamente antes de EI no tuvo ningún efecto (Ferreira et al., 2002). Además, el AP5 interrumpió la consolidación de memoria aversiva, ya que las inyecciones en la CI interrumpieron el CAS cuando se administró 30, 60 o 120 minutos después de LiCl (Ferreira et al., 2002; Gutierrez, Hernandez-Echeagaray, Ramirez-Amaya, & Bermudez-Rattoni, 1999), pero el AP5 no interrumpió la evocación del CAS (Osorio-Gómez, Guzmán-Ramos, & Bermúdez-Rattoni, 2017). Otra evidencia indica que los NMDAR en el CI está involucrado en la percepción de un sabor novedoso, porque el sabor novedoso promueve, mediante la actividad muscarínica cortical, la fosforilación de la subunidad NR2B-NMDA y la posterior activación de las proteínas cinasas reguladas por la señal extracelular, proteínas que son fundamentales para la formación de la memoria a largo plazo. Por lo tanto, esta evidencia muestra un vínculo importante entre los NMDAR y la cascada intracelular que tiene lugar en todo el IIE durante la adquisición de CAS (Rodríguez-Durán & Escobar, 2014).

Por otra parte, se ha demostrado que la CI es necesaria durante la formación de la memoria de la EIn (Bermudez-Rattoni et al., 1991). En concordancia, los NMDAR, en diferentes estructuras así como sistémicas son primordiales para la formación de la memoria al sabor y al contexto (Núñez-Jaramillo, Rangel-Hernández, Burgueño, & Miranda, 2012). Sin embargo, poco se ha estudiado la función específica de la activación de los NMDAR en la CI, durante la formación de la memoria durante la EIn.

La IL es una tarea que nos ayuda a evaluar la actualización de la memoria, ya que la preexposición produce una memoria incidental que afecta un aprendizaje futuro. A través de la IL del CAS se han evaluado cambios entre la novedad y la familiaridad al sabor (Parkes, De la Cruz, Bermúdez-Rattoni, Coutureau, & Ferreira, 2014). Particularmente, se ha demostrado que el bloqueo de los receptores glutamatérgicos, colinérgicos y adrenérgicos en la CI, después de la preexposición al sabor, reduce la IL del CAS, es decir interrumpe la formación de la memoria incidental al sabor (Berman et al., 2000; Traverso et al., 2003). De la misma forma, durante la IL de la EIn, antagonistas colinérgicos y adrenérgicos en la CI, administrados durante la preexposición al contexto, reduce la IL de la EIn (Miranda & Bermúdez-Rattoni, 2007; Miranda, Rodriguez, Reyes-López, Ferry, & Ferreira, 2008). Sin embargo, poco se ha descrito la participación glutamatérgica en la memoria incidental al contexto y/o de la inhibición latente de la EIn. Existe evidencia fisiológica que sugiere que la memoria es un proceso dinámico en continua reorganización en función de la experiencia continua del organismo y este proceso podría depender de los NMDAR (Przybylski & Sara, 1997; Ungerer, Mathis, & Melan, 1998).

2.6.3. Competencia de estímulos y CI

Los aprendizajes complejos o de competencia de estímulos, se definen como aquéllos en los que dos o más estímulos compiten por una asociación. Sin embargo, hay evidencia

que sugiere que para que haya una asociación entre un EC-EI, debe de haber una concordancia entre ambos estímulos. Cuando se presenta el EC-EI de diferente naturaleza o que se detectan por diferentes vías, no se asocian dichos estímulos. Esta falta de asociación entre estímulos EC-EI de diferente naturaleza es debida a que la información, en su caso gustativa y contextual, es procesada por diferentes vías; una interna o visceral y la otra externa o cutánea (Krane & Wagner, 1975). Algunos estudios acerca de la interacción de dos estímulos, como el sabor y el contexto, durante la competencia de estímulos, han mostrado que no es posible la asociación aversiva al sabor con un estímulo aversivo externo (p. e. choque eléctrico) (Garcia, Hankins, & Rusiniak, 1974; Garcia, Lasiter, Bermudez-Rattoni, & Deems, 1985; Rusiniak, Gustavson, Hankins, & Garcia, 1976). Al parecer, las consecuencias somato sensoriales se asocian más con una señal audiovisual. En cambio, las consecuencias provenientes de las vísceras se relacionan más con una señal gustativa (Garcia & Koelling, 1966); a este fenómeno se le denomina “efecto de señal consecuencia”.

En años más recientes, se han realizado estudios de estímulos con diferente naturaleza, donde se ha encontrado que, si bien, un choque eléctrico no produce un condicionamiento de aversión al sabor, sí puede alterar la palatabilidad del sabor (Lin, Arthurs, & Reilly, 2014). Así, la naturaleza de estímulos se ha estudiado a través de la IL del CAS y la atenuación a la neofobia, aprendidos bajo contextos similares o diferentes. Por ejemplo, se han estudiado los efectos de la preexposición y la evocación de la memoria del sabor a sacarina en dos diferentes contextos; encontrando que el cambio, en un estímulo del contexto impide la IL del CAS (De la Casa, Diaz, & Lubow, 2003; Quintero et al., 2014). Por otra parte, el papel que desempeña la CI en la IL del CAS ha sido estudiado a través de inmunohistoquímica de c-Fos, cuantificado después de la preexposición o no al sabor (sacarina) en condiciones de contexto similar y/o diferente. Los resultados mostraron que la

exposición a un nuevo sabor aumentó la expresión de c-Fos en la CI, así como cuando el CAS se presentó bajo contextos diferentes. Estos resultados sugieren que la CI podría integrar los diferentes aspectos necesarios para evaluar la respuesta al sabor, incluyendo el contexto asociado a los estímulos gustativos (Quintero et al., 2014).

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Evolutivamente es necesaria una respuesta conductual rápida ante las circunstancias cambiantes diarias, así la experiencia obliga a tomar decisiones durante conflictos entre circunstancias o estímulos opuestos, lo que requiere una valoración compleja para poder emitir una respuesta adecuada (Anderson & Adolphs, 2014). Debido a que estamos constantemente expuestos a ambientes complejos que incluyen diversos estímulos, es importante conocer cómo se procesa e integra a nivel del SNC los estímulos con valencias opuestas que compiten bajo una experiencia determinada (Tye, 2018). La capacidad de sopesar el valor de los estímulos es necesaria para la supervivencia, lo que nos permite responder rápida y adecuadamente a lo experimentado previamente. Un estímulo que es inherentemente apetitivo o agradable lleva valencia positiva; mientras que un estímulo inherentemente aversivo tiene valencia negativa, estos son suficientes para provocar respuestas apetitivas o aversivas una vez aprendidos (Namburi et al., 2016; Namburi et al., 2015). Cuando estos estímulos se emplean en un paradigma clásico de aprendizaje, el estímulo incondicionado (EI), es el que induce la respuesta positiva o negativa respectivamente y suele ser asociado con un estímulo condicionado (EC) (Burgos-Robles et al., 2017). Sin embargo, en la vida diaria estímulos diferentes con valencias opuestas suelen competir en un determinado contexto. Una estructura necesaria implicada en el procesamiento de diversos tipos de estímulos sensoriales, tanto apetitivos como aversivos, es la CI. Además, esta corteza es necesaria para la formación de memorias aversivas (Bermudez-Rattoni & McGaugh, 1991). Particularmente, la CI es vital en la integración del sabor bajo diferentes contextos (Quintero et al., 2014). Se ha demostrado que la actividad de los receptores a glutamato, tipo NMDA, en esta corteza es necesaria durante la formación de la memoria aversiva tanto del sabor (Berman et al., 2000; Gutierrez et al.,

1999; Rosenberg, Elkobi, Dieterich, & Rosenblum, 2016) como del contexto (Bermúdez-Rattoni, Introini-Collison, Coleman-Mesches, & McGaugh, 1997; Bermudez-Rattoni et al., 1991).

Debido a que la adquisición del CAS se desarrolla en una secuencia temporal amplia, es decir requiere de un IIE extendido entre el sabor y las consecuencias gástricas aversivas, ha facilitado el estudio de los diferentes procesos para la integración y asociación del EC y el EI durante la adquisición de la aversión al sabor. Particularmente, se ha mostrado que el tratamiento con diferentes antagonistas al NMDAR tiene efectos diferenciales dependiendo del momento de la administración durante el IIE (Ferreira et al., 2002; Rosenblum et al., 1997), sugiriendo que hay una activación puntual del NMDAR durante la adquisición del CAS. Asimismo, se ha mostrado que la liberación de glutamato en la CI presenta dos puntos de elevación significativos, uno durante la presentación del estímulo aversivo y otro durante las primeras horas de la consolidación del CAS; lo que sugiere que el glutamato podría tener una función primordial para modular la asociación aversiva.

Adicionalmente, se ha descrito la participación glutamatérgica en la CI durante la formación de la memoria *incidental o apetitiva, a través de pruebas como la IL de la EIn (contexto), y de la IL-CAS (sabor)* (Miranda & Bermúdez-Rattoni, 2007; Parkes et al., 2014). A través, del paradigma de IL, se puede estudiar la familiaridad hacia un estímulo, y por lo tanto, cómo se actualiza la memoria. Sin embargo, la participación exacta del NMDAR en la CI durante la adquisición del CAS y/o de la memoria apetitiva al sabor aún se desconoce. Debido a las características particulares que se dan durante la formación de la memoria del sabor, tanto aversiva como apetitiva, es relevante describir de manera puntual la participación que tiene el glutamato, a través de los NMDAR, ya que podría revelar la interacción dinámica que se da durante el tiempo IIE a través de este neurotransmisor y

otros previamente descritos. Trabajos previos aportan evidencia para sustentar la utilidad de usar concentraciones fisiológicas del agonista NMDA, ya que han demostrado la capacidad de “remedar/imitar” la acción del glutamato, mejorando la respuesta conductual y/o la liberación de otros neurotransmisores (Bast, Zhang, & Feldon, 2001; Núñez-Jaramillo et al., 2012; Peleg-Raibstein & Feldon, 2006; Peleg-Raibstein et al., 2005). El uso de un agonista, como el NMDA, puede ser una herramienta para develar las acciones directas del glutamato, evitando el bloqueo o enmascaramiento de la conducta que puede ser mucho más generalizado cuando se usa un antagonista.

En conjunto, la evidencia indica que los NMDAR en el IC tiene un papel importante durante la adquisición de CAS, y sugiere que estos receptores podrían tener una función específica durante la asociación del EC o del EI que se puede estudiar de forma precisa gracias al IIE de acondicionamiento. Sin embargo, no se ha realizado la comparación de la activación de los NMDAR durante diferentes momentos IIE de CAS, y su función exacta durante el aprendizaje del sabor aversivo sigue siendo sin ser descrita. Por lo tanto, uno de los objetivos principales de este trabajo fue evaluar los efectos de la activación temporal de los NMDAR en cuatro puntos temporales en todo el IIE del condicionamiento de aversión al azúcar. Con esa finalidad se realizaron inyecciones bilaterales de NMDA en el IC a una dosis fisiológica (1 μg / μl); 1) inmediatamente antes o 2) inmediatamente después de la presentación del azúcar, o 3) inmediatamente antes o 4) inmediatamente después de la inyección **intraperitoneal (i.p.)** de LiCl. Los efectos del agonismo del NMDAR se evaluaron durante la adquisición, recuperación de memoria y extinción de la memoria aversiva de sabor.

Por otro lado, sabemos que la memoria es un proceso dinámico (Lee, Nader, & Schiller, 2017), en este sentido, han sido poco explorados los mecanismos que subyacen a la actualización de una memoria de un contexto seguro/apetitivo tras un nuevo aprendizaje en un contexto similar, pero con la presencia de un estímulo aversivo. Particularmente queda la interrogante de cómo cambiará la memoria apetitiva hacia un contexto apetitivo tras la actualización del contexto a aversivo por una nueva asociación.

Debido a la evidencia previa que describe la participación del sistema glutamatérgico en particular a través de los NMDAR, durante la LTP, como consecuencia a su permeabilidad con el calcio, se ha demostrado que es vital la activación de este receptor para la formación de la memoria a largo plazo (Kentros et al., 1998). En particular se ha demostrado que los NMDAR en la CI son indispensables para la formación de la memoria aversiva al sabor, ya que si no hay dicha activación no hay una formación de memoria a largo plazo (Rodríguez-Durán & Escobar, 2014) es necesario conocer la participación de los NMDAR en la CI durante la competencia de dos estímulos con valencias opuestas, ya que su activación podría mejorar la asociación hacia el estímulo cuyo peso sea mayor para sobrevivencia.

Siguiendo este orden de ideas, el presente trabajo doctoral, tuvo como objetivo evaluar la participación del NMDAR, durante el aprendizaje de una tarea en una competencia con estímulos de valencias opuestas. Por último, se evaluó el efecto de la activación de los NMDAR en la CI, durante la actualización de una memoria apetitiva a una memoria aversiva.

4. HIPÓTESIS

1. Si los receptores tipo NMDA en la CI tienen una participación puntual durante el IIE de la adquisición del CAS, entonces, el agonismo de estos receptores tendrá un efecto diferencial en la formación de la memoria aversiva, dependiendo del momento de la inyección.

2. Si durante la adquisición de la EIn modificada, compiten estímulos con valencias opuestas, entonces se generará un incremento en la latencia de entrada y una disminución en la respuesta hacia el estímulo apetitivo y menor consumo durante la evocación.

2.1. Si durante la adquisición de una prueba de competencia de valencias (EIn modificada con estímulo apetitivo), hay un incremento en la actividad de los receptores tipo NMDA en la CI, entonces, dicha activación producirá un incremento en la EIn, incrementando la latencia (EIn) durante la evocación, es decir un incremento en la latencia de entrada y una disminución en la respuesta de consumo.

3. Si durante la adquisición de una prueba de competencia de valencias, hubo una preexposición a la valencia positiva, entonces dicha preexposición alterará la actualización a la memoria aversiva, provocando un decremento en la latencia de entrada y un incremento en la respuesta de consumo.

3.1. Si durante la actualización de la memoria de una prueba de competencia de valencias (EIn modificada con estímulo apetitivo), hay un incremento en la actividad de los receptores tipo NMDA en la CI, entonces, dicha activación producirá un incremento en la EIn, provocando un incremento en la latencia (EIn) durante la evocación y una disminución en la respuesta de consumo.

5. OBJETIVOS

1. Evaluar la participación de los receptores a glutamato tipo NMDA en la CI, durante diferentes momentos del IIE durante la adquisición del CAS, a través del agonismo (activación) de dichos receptores antes o después del EC (azúcar), así como antes o después del EI (LiCl i.p.).

2. Evaluar la competencia de estímulos con diferente valencia utilizando la EIn modificada:

2.1. Evaluar el efecto de la activación de los receptores a glutamato tipo NMDA en la CI durante la adquisición de la EIn modificada.

3. Analizar el efecto de la preexposición a un contexto altamente apetitivo, a través de la IL de la EIn modificada con un estímulo apetitivo (azúcar):

3.1. Evaluar el efecto la activación de los receptores tipo NMDA en la CI durante la IL de la EIn modificada.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

Todos los procedimientos experimentales siguieron las normas establecidas por el Comité de Ética y Cuidado Animal del Instituto de Neurobiología de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) y con la normativa internacional para el manejo y uso de animales de experimentación (*National Institutes of Health*).

6.1. Sujetos experimentales

Se usaron Ratas Wistar macho con un peso de entre 200 – 250 gr de peso (7 semanas de edad, peri-adolescentes) a su llegada a su laboratorio; fueron habituadas al ciclo invertido de luz 12:12 h, (7:00 pm a 7:00 am) y doce de obscuridad (7:00 am – 7:00 pm); durante 7 días, siendo mantenidas de forma individual en cajas de plástico (45 x 25 x 20 cm) con agua y alimento *ad libitum*, en un cuarto con temperatura controlada de 23 +/- 3 °C y con humedad de 60 +/- 5%. Posteriormente, las manipulaciones experimentales se realizaron en un horario de 10:00 am a 2:00 pm.

6.2. Tareas de aprendizaje

6.2.1. Condicionamiento de aversión al sabor (CAS)

Las ratas fueron privadas de agua durante 18 h; para posteriormente establecer el consumo de agua basal durante 3 días, teniendo acceso a una probeta graduada con agua durante 10 min/día (alrededor de las 12:00 y 14: 00 h). A lo largo de todo el protocolo del CAS, las ratas también tuvieron 10 minutos adicionales de acceso a agua (18: 00 h) para garantizar los requerimientos diarios de líquido y evitar deshidratación. El día 4, se realizó la adquisición del CAS teniendo acceso a una solución de azúcar al 10% (nuevo sabor; caña de azúcar comercial, Zulka®, compuesta de sacarosa al 99,9%) durante 10 minutos; 30 minutos después, las ratas fueron inyectadas i.p con LiCl 0.25 M (10 ml / kg), un agente que induce malestar general. Al día siguiente, durante la prueba de evocación de la

memoria de aversión, todas las ratas se expusieron nuevamente, los siguientes 2 días a la solución de azúcar durante 10 minutos, sin inyección posterior de LiCl, para evaluar la extinción de la memoria aversiva. La reducción del consumo de azúcar durante la prueba de evocación se comparó con el consumo durante la adquisición. El CAS se calculó como el porcentaje de consumo de azúcar durante la evocación con respecto al consumo durante la adquisición de CAS (**Figura 12**).



Figura 12. Protocolo del CAS, Grupos independientes de ratas recibieron inyección bilateral en la CI de NMDA (DOSIS), en cuatro diferentes tiempos de la adquisición del CAS. (flechas representan los 4 tiempo): 1) 5 min antes de la presentación de azúcar (S), 2) después de la presentación S, 3) inmediatamente antes de la inyección de LiCl (EI) 4) inmediatamente después de la presentación de EI. Así como los 3 días de extinción.

6.2.2. Evitación inhibitoria

6.2.2.1. Descripción del cuarto y equipo de evitación inhibitoria

El cuarto experimental con la cámara de **EIn**, se mantuvo en oscuridad durante todos los experimentos. Las dimensiones de la cámara de EIn, son: 90 cm largo, 12 cm profundidad, 18 cm ancho, toda la cámara está cubierta por una tapa de acrílico. Los dos compartimientos están separados por una compuerta tipo guillotina de metal; el **compartimento claro (LC)**, se encuentra iluminado por una lámpara exterior de 20W/12V y tiene una longitud de 30 cm, paredes de acrílico color blanco y el piso cubierto con plásticos suave color negro. El **compartimento oscuro (LO)**, no recibe iluminación externa tiene 60 cm longitud, paredes y piso de acero inoxidable que transmite la corriente eléctrica. La base metálica del LO está conectado a un transmisor de corriente eléctrica que emite cargas eléctricas, con precisión temporal a la placa (Lafayette Instrument Co. 58006

y 51013). Para estandarizar los protocolos de EIn modificada se alteró la cámara para poder colocar un bebedero graduado al final del LO, asimismo, el piso del LC y LO se modificó agregando un plástico suave negro.

6.2.2.2. Tarea de evitación inhibitoria

En la cámara previamente descrita se realizaron los siguientes procedimientos:

Adaptación al cuarto de EIn y al LC de la cámara: primero, las ratas fueron manipulada y adaptadas al cuarto de experimentación durante cuatro minutos. Los siguientes 2 días fueron expuestas sólo al LC de la cámara (con la compuerta al LO cerrada) por 4 minutos. La adaptación al LC de la cámara consistía en colocar al animal en el LC.

Adquisición y evocación de la EIn: en el día 4, se colocaron las ratas en el LC y se abrió inmediatamente la compuerta de la cámara de EIn y se registró la latencia de entrada al LO una vez que las ratas tuvieran las 4 patas en dicho compartimento. Una vez cerrada la compuerta, se aplicó un choque eléctrico (0.5 mA/1s) cuando las ratas llegaron a la mitad de compartimento (LO) y fueron retiradas de la caja y 5 segundos después de recibir el choque. Al día siguiente se evaluó la evocación, colocando nuevamente a las ratas en el LC de la cámara y cuantificando el tiempo de latencia de entrada al LO de la misma manera como en la adquisición. Se esperó a que las ratas cruzaran al LO como máximo de 300 s para ser retiradas de la cámara.

6.2.2.3. Tareas de EIn modificada

Para este experimento se utilizó la cámara de EIn modificada para que las ratas tuvieran consumo de azúcar o agua dentro del LO. Además, las ratas fueron previamente restringidas de agua (40 ml diarios) 3 días antes de la adquisición, hasta la evocación de la EIn. Durante la adquisición y la evocación de la EIn se realizó el mismo procedimiento

descrito anteriormente, con la diferencia de contar en el LO con bebedero y que las ratas fueron retiradas de la cámara 300 s después de haber cruzado al LO. Particularmente durante la EIn modificada se cuantificaron, tanto en la adquisición como en la evocación, los siguientes parámetros: 1) Latencia de entrada al LO (valores tradicionales de la EIn). 2) Latencia de inicio de consumo, a partir de que cruzaron al LO y el primer lengüeteo al bebedero, (respuesta apetitiva al contexto de la cámara); y 3) Consumo de líquido en ml (respuesta apetitiva al sabor). Veinticuatro horas después se realizó la prueba de evocación de la EIn cuantificando los 3 parámetros usados durante la adquisición (**Figura 13-A**).

Controles necesarios para los experimentos de EIn modificada: en grupos independientes se realizaron experimentos control, cuantificando los mismos tres parámetros mencionados, siguiendo exactamente los mismos procedimientos de la EIn, sin la aplicación de choque eléctrico.

6.2.2.4. *Inhibición latente de la evitación inhibitoria (IL-EIn) modificada*

La IL-EIn se realizó en la cámara de EIn, previamente descrita y de la misma manera las ratas fueron manipuladas días antes en el cuarto experimental; antes de la preexposición al LO. El día de la preexposición al LO sin choque eléctrico, se colocaron a las ratas en el LC y se registraron los tres parámetros antes mencionados. Tanto en la preexposición, la adquisición como en la evocación, las ratas fueron retiradas de la cámara 300s después de haber cruzado al LO (**Figura 13-B**).

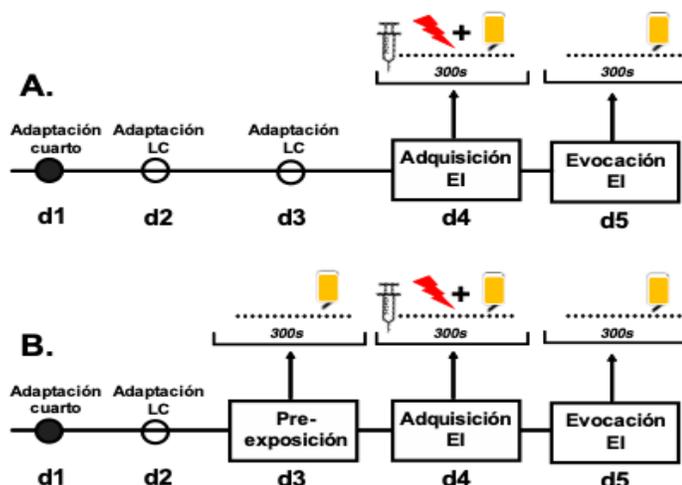


Figura 13. (A) Protocolo de la EI modificada con azúcar o agua al final del LO de la cámara. (B) Protocolo de la IL de la EIn modificada. Todas las ratas recibieron una inyección intracortical de NMDA, 5 min antes de la adquisición (jeringa en el esquema).

Controles “no choque” para los experimentos de la IL-EIn modificada: Como se describió anteriormente se usaron grupos independientes para evaluar los efectos de la variable “choque eléctrico”, cuantificando los mismos tres parámetros mencionados, siguiendo exactamente los mismos procedimientos de la IL-EIn, pero sin la aplicación de choque eléctrico en el LO.

6.3. Cirugía

Para la implantación bilateral de cánulas dirigidas a la CI, las ratas fueron anestesiadas con una inyección i.p. de 6 mg/kg de xilacina y 70 mg/kg de ketamina. Se usaron las siguientes coordenadas A.P: +1.2 mm, L: +/-5.5 mm; DV:-3 mm con respecto a bregma (Paxinos & Watson, 2006). Todas las ratas tuvieron una semana de recuperación antes de comenzar los protocolos conductuales. Una vez transcurrida la semana de recuperación de la cirugía los animales, se sometieron a los protocolos del CAS, EIn o IL-EIn.

6.4. *Inyecciones bilaterales en la Corteza Insular*

Las inyecciones en la CI de NMDA (6.8 μ M, disuelto en salina; 0.5 μ l/1 min; Grupos NMDA) o de salina isotónica (0.5 μ l/1 min; Grupos control) se realizaron con inyectores (agujas dentales) conectadas por mangueras a jeringas Hamilton de 10 μ l. Todas las inyecciones se realizaron 5 min antes de la adquisición de la EIn. La dosis de NMDA utilizada se basó en trabajos previos (Bast et al., 2001; Núñez-Jaramillo et al., 2012; Peleg-Raibstein & Feldon, 2006; Peleg-Raibstein et al., 2005). En las **tablas 2, 3 y 4** se muestran los grupos y el número de animales utilizados en todos los experimentos de la presente tesis:

Condicionamiento de Aversión al Sabor			
Tiempo de inyección		Grupo	
		Salina	NMDA
EC (azúcar)	Antes	8	8
EC (azúcar)	Después	10	14
EI (LiCl)	Antes	9	9
EI (LiCl)	Después	7	7

Tabla 2. Grupos, factores y número de animales durante el CAS.

EVITACIÓN INHIBITORIA MODIFICADA				
Condición	Fármaco	Tratamiento	Grupos	(n)
EI	Salina	Agua	EI-SAL-H	9
		Azúcar	EI-SAL-S	9
	NMDA	Agua	EI-NMDA-H	12
		Azúcar	EI-NMDA-S	11
No Choque	Salina	Agua	NZ-SAL-H	12
		Azúcar	NZ-SAL-S	11
	NMDA	Agua	NZ-NMDA-H	12
		Azúcar	NZ-NMDA-S	10

Tabla 3. Grupos, factores y número de animales durante el EI.

INIHIBICIÓN LATENTE DE LA EVITACIÓN INHIBITORIA MODIFICADA				
Condición	Fármaco	Tratamiento	Grupos	(n)
IL	Salina	Agua	IL-SAL-H	11
		Azúcar	IL-SAL-S	11
	NMDA	Agua	IL-NMDA-H	12
		Azúcar	IL-NMDA-S	10
No Choque	Salina	Agua	SZ-SAL-H	11
		Azúcar	SZ-SAL-S	8
	NMDA	Agua	SZ-NMDA-H	10
		Azúcar	SZ-NMDA-S	11

Tabla 4. Grupos, factores y número de animales durante el EI.

6.5. *Perfusiones e Histología*

Al término de los experimentos, las ratas fueron sacrificadas con una inyección i.p. de 115 mg/kg de pentobarbital sódico (Cheminova, México), y perfundidas de manera intracardiaca con una solución salina isotónica. Una vez concluida la perfusión, los cerebros fueron extraídos y conservados en una solución de formaldehído (Sigma, México) al 10% durante una semana. Los cerebros ya precipitados, se mantuvieron en una solución de sacarosa al 30 % (JT Baker, México) hasta su procesamiento histológico.

Cortes coronales de 40 μ m de los cerebros, fueron teñidos con violeta de cresilo, para determinar el lugar de los inyectores. Los animales cuyas cánulas no se encontraron en el sitio correcto, se excluyeron del análisis estadístico (**Figura 14**). Los criterios de exclusión también consideraron la conducta durante la preexposición o adquisición de la EI excluyendo las ratas cuya latencia de entrada fue mayor a 300 segundos.

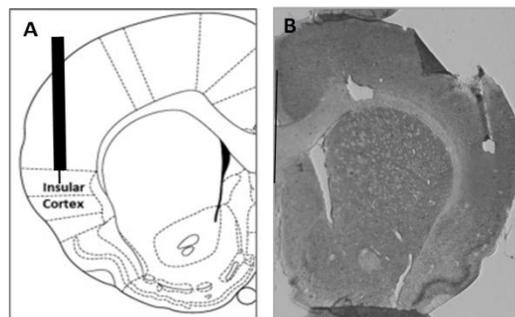


Figura 14. A. Esquema de un corte coronal en el área de la CI, donde se representa la adecuada ubicación del inyector en la CI. B. Histología representativa que muestra la localización del tracto de la cánula y la localización del inyector.

6.6. *Análisis estadístico*

Todas las pruebas estadísticas se realizaron con el software Statview 5.01 (California, USA). Los resultados están representados mediante gráficos de barras de la media +/- el error estándar, con el programa GraphPad Prism 6. Se utilizó una ANDEVA de medidas repetidas, de dos o de tres vías dependiendo de los datos, posteriormente se realizó una post-hoc de Fishers. Particularmente para la estadística de EIn-modificada y la IL-EIn modificada se utilizó el **Razón de Discriminación Aversiva (RDA)**.

$$DRA = \left[\left(\frac{\text{Latencia de entrada Evocación} - \text{Límite de aversión}}{\text{Latencia de entrada Adquisición}} \right) \times 0.01 \right]$$

Donde: Latencia de entrada durante evocación; es el tiempo que las ratas tardaron en cruzar del LC al LO durante la evocación.

Límite de aversión; tiempo máximo de duración en la cámara (300 s).

Latencia de entrada durante adquisición; es el tiempo que las ratas tardaron en cruzar del LC al LO durante la adquisición.

7. **RESULTADOS**

7.1. *Resultados histológicos*

La figura 14 muestra la micrografía representativa de la histología cerebral de un corte coronal que muestra la localización del tracto de las cánulas y de los inyectores dirigidos a la CI.

7.2. **RESULTADOS DEL OBJETIVO 1**

La activación del NMDAR inmediatamente después del consumo de azúcar, pero no antes o después del LiCl, mejora el CAS.

La tabla 5, muestra el consumo promedio durante la adquisición del CAS de los grupos inyectados durante los cuatro tiempos del IIE. Una ANDEVA de dos vía mostró que no hay diferencias en el consumo de azúcar entre grupos ($F_{(1,64)} = 0.10, P = 0.75$), tiempo de inyección ($F_{(3,64)} = 1.10, P = 0.356$) o interacción ($F_{(3,64)} = 0.21, P = 0.89$) ($P > 0.05$). Este resultado indica que las inyecciones en la CI no afectaron la motivación o la respuesta apetitiva durante la adquisición; asimismo, indica que la activación de los NMDAR no está implicada con el reconocimiento del sabor novedoso, ya que todos los grupos bebieron la misma cantidad de azúcar.

Consumo (ml)			
Tiempo de inyección		Salina	NMDA
EC (azúcar)	Antes	12.875 +/- 1.663 (n=8)	13.375 +/- 1.085 (n=8)
EC (azúcar)	Después	13.375 +/- 1.085 (n=10)	12.857 +/- 1.053 (n=14)
EI (LiCl)	Antes	14.556 +/- 1.749 (n=9)	13.556 +/- 1.733 (n=9)
EI (LiCl)	Después	10.286 +/- 1.728 (n=7)	11.857 +/- 2.703 (n=7)

Tabla 5. Promedio del consumo durante la adquisición del CAS (media +/- SEM). No se encontraron diferencias significativas.

Sin embargo, durante la prueba de evocación del CAS, una ANDEVA de dos vías del porcentaje de consumo de azúcar durante la evocación, de los grupos inyectados antes o después del EC, mostró diferencias significativas entre GRUPOS ($F_{(1,36)} = 4.32, P = 0.04$), pero ninguna diferencia entre el TIEMPO DE INYECCIÓN ($F_{(1,36)} = 1.21, P = 0.27$) o INTERACCIÓN ($F_{(1,36)} = 1.76, P = 0.19$). La prueba Post-hoc de Fisher arrojó diferencias entre los grupos SALINA y NMDA inyectados inmediatamente después del consumo de azúcar; es decir, el grupo NMDA mostró una disminución significativa en el consumo de azúcar en comparación con el grupo SALINA ($P < 0.02$) (**Figura 15-A**). Por otra parte, el mismo análisis de los datos de los grupos inyectados antes o después de la inyección LiCl (EIn; Fig. 4-B), mostró que no hay diferencias entre los grupos ($F_{(1,28)} = 0.40, P = 0.53$),

tiempo de inyección ($F_{(1,28)} = 0.11, P = 0.74$) o interacción ($F_{(1,28)} = 0.90, P = 0.36$) (Figura 15-B). En conjunto, estos resultados indican que la misma dosis de NMDA inyectada en la CI mejora la formación de memoria aversiva al sabor, solo cuando se inyecta justo después del consumo de azúcar (p.e.g., inmediatamente después de la EC).

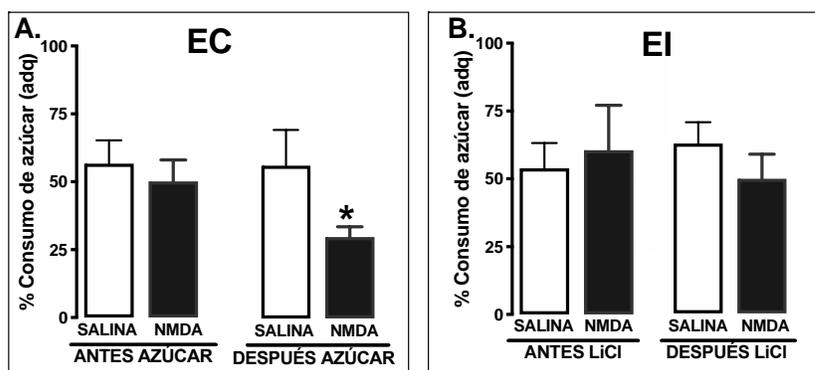


Figura 15. Porcentaje de consumo de azúcar durante la evocación del CAS con respecto al consumo de adquisición (A) Estímulo Condicionado (EC): Inyección antes de la presentación de azúcar; SALINA, NMDA. Inyecciones inmediatamente después de la presentación del azúcar; SALINA, NMDA. (B) Estímulo incondicionado (EI): Inyección inmediatamente antes de i.p. LiCl; SALINA, NMDA. Inyección después de i.p. LiCl; SALINA, NMDA (media \pm SEM). * $P < 0.5$ Salina vs NMDA.

La activación de los NMDAR en LA CI antes de la presentación del azúcar mejora la formación de la memoria aversiva al sabor y retrasa la extinción de la memoria aversiva

Para determinar posteriores efectos de las inyecciones de NMDA durante la adquisición, se evaluó la extinción de la memoria durante los 2 días posteriores a la evocación del CAS, presentando la solución de azúcar durante 10 minutos (sin inyección de LiCl). Una ANDEVA de dos vías del porcentaje de consumo de azúcar durante la primera extinción, de los grupos inyectados antes o después del consumo de azúcar (Figura 16-A), no reveló diferencias significativas entre GRUPOS ($F_{(1,36)} = 2.40, P = 0.13$), ni entre el TIEMPO DE INYECCIÓN ($F_{(1,36)} = 2.60, P = 0.14$), como tampoco INTERACCIÓN ($F_{(1,36)} = 0.16, P = 0.70$). Por otra parte, en grupos inyectados antes o después de i.p. LiCl, se encontró diferencias entre grupos ($F_{(1, 28)} = 4.53, P = 0.04$), pero no en el tiempo de

inyección ($F_{(1,28)} = 0,95, P = 0.34$) o interacción ($F_{(1,28)} = 0.05, P = 0.83$) (**Figura 16-B**). Durante la extinción 2, de los grupos inyectados antes o después del azúcar (**Figura 16-C**), se encontró diferencias significativas entre GRUPOS ($F_{(1,36)} = 8.23, P = 0.01$), pero ninguna por el TIEMPO DE INYECCIÓN ($F_{(1,36)} = 0.06, P = 0.80$) o INTERACCIÓN ($F_{(1,36)} = 1.40, P = 0.24$). La prueba post hoc reveló que el grupo NMDA inyectado después del EC tuvo una disminución significativa en el consumo de azúcar en comparación con el grupo SALINA ($P < 0.01$). Finalmente, en grupos inyectados antes o después de i.p. LiCl (**Figura 16-D**), no se encontraron diferencias entre los grupos ($F_{(1,28)} = 0.43, P = 0.52$), tiempo de inyección ($F_{(1,28)} = 1.47, P = 0.24$) o interacción ($F_{(1,28)} = 0.03, P = 0.87$). En general durante los ensayos de extinción de la memoria, las ratas aumentaron su consumo por encima del 50%, lo que indica una reducción en la aversión. Sin embargo, la prueba post-hoc reveló que las ratas con inyección de NMDA después de la presentación del azúcar (durante la adquisición de CAS) mostraron apenas un 50% de consumo durante la primera extinción y su incremento de consumo es significativamente más bajos durante la segunda prueba de extinción, lo que demuestra que la activación de los NMDAR en la CI, administrada justo después del EC, produjo una mayor asociación, que se refleja en el retraso de la extinción de la memoria aversiva.

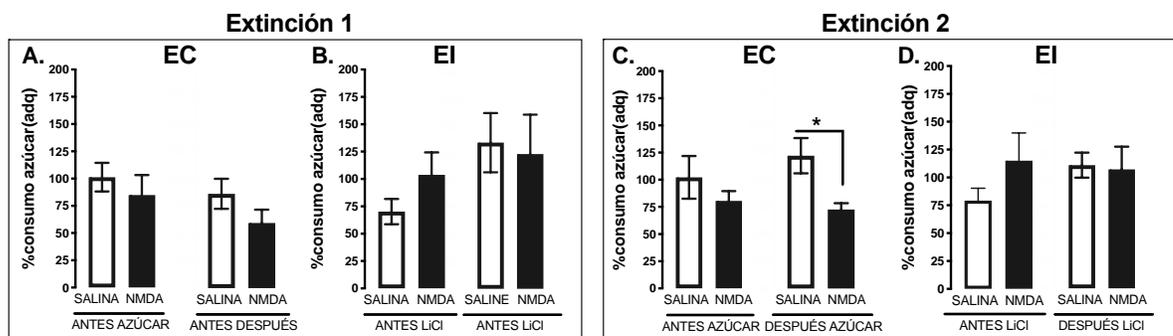


Figura 16. Porcentaje del consumo de azúcar durante la evocación del CAS con respecto al consumo de adquisición (A) Inyección antes de la presentación de azúcar; SALINA, NMDA. Inyecciones inmediatamente después de la

presentación del azúcar; SALINA, NMDA. (B) Inyección inmediatamente antes de i.p. LiCl; SALINA, NMDA. Inyección después de i.p. LiCl; SALINA, NMDA (media \pm SEM). * $P < 0.5$ Salina vs NMDA.

7.3. RESULTADOS DEL OBJETIVO 2

La **tabla 6**, muestra la latencia de entrada al LO de la cámara de EIn modificada el día de la adquisición. Una ANDEVA de tres vías entre los factores FÁRMACO (e.g., inyección intracortical de SALINA o NMDA), TRATAMIENTO (e.g., líquido AGUA o AZÚCAR en LO) y CONDICIÓN (EIn o control sin choque); demostró que no hubo INTERACCIÓN entre los tres factores (FÁRMACO X TRATAMIENTO X CONDICIÓN) ni efecto entre ninguno de los pares. Tampoco se encontró diferencias significativas entre FÁRMACO ($F_{(1,77)} = .558$, $P = .4574$), TRATAMIENTO ($F_{(1,77)} = .329$, $P = .5679$) o CONDICIÓN ($F_{(1,77)} = 2.295$, $P = .1339$). Esto indica, particularmente, que la inyección de NMDA en la corteza insular no afecta ni la motivación ni la movilidad de los animales.

Latencias de entrada (s) Adquisición				
Condición	Fármaco	Tratamiento	Grupos	
EIn	Salina	Agua	EI-SAL-H	12.7 \pm 1.3 (n=9)
		Azúcar	EI-SAL-S	13.2 \pm 1.7 (n=9)
	NMDA	Agua	EI-NMDA-H	11.6 \pm 1.6 (n=12)
		Azúcar	EI-NMDA-S	13.6 \pm 2.0 (n=11)
No Choque	Salina	Agua	NZ-SAL-H	11.2 \pm 1.3 (n=12)
		Azúcar	NZ-SAL-S	9.4 \pm 0.7 (n=11)
	NMDA	Agua	NZ-NMDA-H	13.0 \pm 1.5 (n=12)
		Azúcar	NZ-NMDA-S	10.6 \pm 0.8 (n=10)

Tabla 6. Promedio de la latencia de entrada al LO de la cámara durante la adquisición de la EIn (media \pm SEM). No se encontraron diferencias significativas.

En la **figura 17**, se muestra el RDA = porcentaje de la evocación con respecto a la adquisición, por lo tanto, a mayor RDA mayor aprendizaje aversivo. La ANDEVA de tres vías del RDA no encontró INTERACCIÓN entre los tres factores (FÁRMACO X TRATAMIENTO X CONDICIÓN), no se encontró efecto entre pares de FÁRMACO y TRATAMIENTO, ni entre TRATAMIENTO y CONDICIÓN; pero se encontró entre

FÁRMACO y CONDICIÓN ($F_{(1,77)} = 11.687, P = .0010$); así como diferencias significativas debidas a FÁRMACO ($F_{(1,77)} = 8.621, P = .004$), sin embargo, no se encontró diferencias por CONDICIÓN ($F_{(1,77)} = 2.295, P = .134$), o por TRATAMIENTO ($F_{(1,77)} = 2.903, P = .093$). La prueba post-hoc de Fisher arrojó que no hay diferencias entre los grupos EIn-SAL-H vs EIn-SAL-S ($p > .05$), demostrando que ambos grupos tienen un RDA elevado y que la presencia de azúcar o agua no altera la memoria aversiva. De igual forma, no hubo diferencias entre los grupos control de no choque, NZ-SAL-H vs NZ-SAL-S, ($p > .05$), lo que demuestra que la presencia de azúcar o de agua en la cámara de EIn no altera *per se* la entrada al LO y por lo tanto no son variables que cambian el aprendizaje de la EIn modificada. Adicionalmente, como era lo esperado, se encontraron diferencias entre los grupos EIn-SAL-H y EIn-SAL-S ($^+p < .05$) en comparación con los grupos control que no recibieron choque (NZ-SAL-H y vs NZ-SAL-S ($^+p < .05$), indicando que la formación de la memoria aversiva (disminución de la latencia de entrada al LO) se genera únicamente en el protocolo de la EIn, independiente de la presencia de agua o de azúcar. Por otra parte y de manera interesante en los animales entrenados en la EIn, se encontraron diferencias entre los grupos EIn-SAL-H vs EIn-NMDA-H ($*p < .05$) así como entre los grupos EIn-SAL-S vs. EIn-NMDA-S ($*p > .05$), demostrando que la inyección de NMDA decreta significativamente el RDA de la EIn modificada, independientemente de la presencia de agua o de azúcar en el LO. Este efecto del NMDA no se observó en los grupos control (NZ) ya que no se encontraron diferencias en la RDA entre ninguno de estos, indicando que la activación de NMDA en la CI no altera la respuesta apetitiva hacia el LO de la cámara. En conjunto, estos resultados muestran que la inyección de NMDA en la CI antes de la adquisición, decreta el RDA de la EIn modificada y que este decremento, en la formación de la memoria, es independiente de la presencia de agua o azúcar al final del LO.

Por otro lado, la misma inyección de NMDA no altera la formación de la memoria apetitiva al LO.

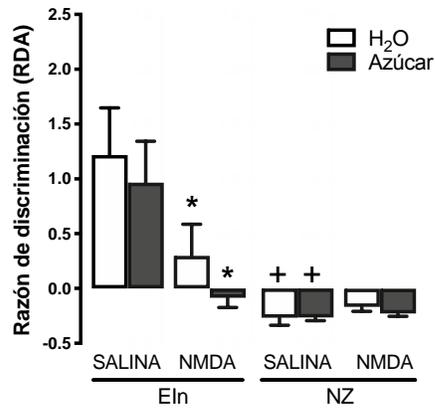


Figura 17. Se muestra la razón de discriminación aversiva (media +/- SEM). * $p < 0.05$ Salina vs NMDA, & $p < 0.05$ Agua vs Azúcar + $p < 0.05$ EIn modificada vs. No choque (NZ).

La **figura 18-A**, muestra la latencia de inicio de consumo (en el bebedero al final del LO) durante la adquisición de la EIn modificada, a menor latencia de consumo, mayor respuesta apetitiva hacia el contexto. La ANDEVA de tres vías durante la adquisición no mostró INTERRACIÓN entre los tres factores (FÁRMACO X TRATAMIENTO X CONDICIÓN), ni se encontró efecto entre pares de FÁRMACO X TRATAMIENTO, ni entre TRATAMIENTO X CONDICIÓN, sin embargo se encontró INTERRACIÓN entre el FÁRMACO X CONDICIÓN ($F_{(1,77)} = 4.429$, $P = .039$); también arrojó diferencias debidas a la CONDICIÓN ($F_{(1,77)} = 36.402$, $P = .001$). Sin embargo, no hubo diferencias por FÁRMACO ($F_{(1,77)} = 2.905$, $P = .092$), TRATAMIENTO ($F_{(1,77)} = .666$, $P = .417$). La post-hoc de Fisher, como era de esperarse, mostró diferencias entre los grupos EIn con sus respectivos grupo control (EIn-SAL-H vs NZ-SAL-H, EIn-SAL-S vs NZ-SAL-S Y EIn-NMDA-H vs NZ-NMDA-H) ($^+p < .05$), corroborando que durante el protocolo de EIn modificada, la latencia de inicio de consumo, decrementa la respuesta apetitiva. Por otra parte, se encontraron diferencias entre los grupos controles de no choque, NZ-SAL-S vs.

NZ-NMDA-S ($*p < .05$), lo que muestra que la inyección de NMDA aumenta la latencia de consumo al azúcar, decrementando la respuesta al contexto de la cámara, EIn modificada con azúcar, cuando se expone el LO sin choque. Por otra parte, la prueba post-hoc no mostró diferencias entre ninguno de los grupos entrenados en la EIn modificada (v.g., EIn-SAL-H vs EIn-SAL-S y EIn-NMDA-H vs EIn-NMDA-S ($p > .05$)); sin embargo con los controles de no choque se encontraron diferencias entre los grupos NZ-SAL-S vs NZ-NMDA-S ($*p < .05$), indicando que el NMDA intracortical altera la latencia de consumo, únicamente de azúcar, durante la adquisición de la EIn modificada. Estos resultados indican que, en un protocolo de EIn modificado, el choque eléctrico produce un incremento en la latencia de inicio de consumo independiente del agua o del azúcar. También, de manera interesante subrayan que cuando se aprende el contexto de la EIn modificada pero no se aplica estímulo aversivo (no choque eléctrico), la activación de los NMDAR en la CI decrementa la apetencia al contexto (respuesta apetitiva) sólo en presencia de azúcar.

La **figura 18-B**, muestra la latencia de inicio de consumo durante la evocación de la EIn modificada; a menor latencia de consumo, mayor memoria apetitiva hacia el contexto. La ANDEVA de tres vías no mostró INTERRACIÓN entre los tres factores (FÁRMACO X TRATAMIENTO X CONDICIÓN), ni se encontró INTERRACCIÓN entre los pares TRATAMIENTO X CONDICIÓN, pero se encontró INTERACCIÓN entre el FÁRMACO X CONDICIÓN ($F_{(1,76)} = 9.331$, $P = .003$), y TRATAMIENTO X CONDICIÓN ($F_{(1,76)} = 5.822$, $P = .018$). También se encontró diferencia por CONDICIÓN ($F_{(1,76)} = 21.808$, $P < .001$), pero no arrojó diferencias por FÁRMACO ($F_{(1,76)} = 3.060$, $P = .0843$), TRATAMIENTO ($F_{(1,76)} = .896$, $P = .3469$). La post-hoc de Fisher no dio diferencias entre los grupos con agua y azúcar en la EIn modificada, EIn-SAL-H vs EIn-SAL-S ($p > .05$), ni tampoco entre EIn-NMDA-H vs EIn-NMDA-S ($p > .05$), mostrando que la latencia de inicio

de consumo de agua o de azúcar es la misma independientemente de la inyección de salina o NMDA. Sin embargo, la post-hoc mostró diferencias significativas entre los grupos EIn-SAL-S vs EIn-NMDA-S ($*p < .05$), indicando que la activación de los receptores NMDA, durante la adquisición, mejora la formación de la memoria apetitiva al contexto en presencia de azúcar y por lo tanto aumenta la respuesta apetitiva durante la evocación (e.g., la latencia de inicio de consumo) durante la evocación de la EIn modificada. Por otra parte, la post-hoc encontró diferencias entre los grupos control de no choque, NZ-SAL-H vs NZ-SAL-S ($& p < .05$), indicando que la presencia de azúcar en el LO induce un decremento en el inicio de consumo, aumentando la memoria apetitiva al contexto en presencia de un estímulo apetitivo. No obstante, no hubo diferencias entre los grupos control de no choque, NZ-NMDA-H vs NZ-NMDA-S ($p > .05$) o entre NZ-SAL-S vs NZ-NMDA-S ($p > .05$), indicando que la inyección de NMDA decreta la memoria apetitiva del contexto inducida por la presencia de azúcar en el LO. En general estos resultados muestran que, durante la EIn modificada, donde en la competencia de estímulos (choque vs. agua o azúcar), prevalece la asociación hacia al estímulo aversivo, es decir se genera una evitación/aversión por el LO. La inyección de NMDA en la CI altera la formación de la EIn modificada, incrementando la memoria apetitiva, es decir la latencia de inicio de consumo; por otra parte, cuando se aprende bajo un contexto apetitivo (control sin choque), la estimulación de los NMDAR decreta la latencia de inicio de consumo.

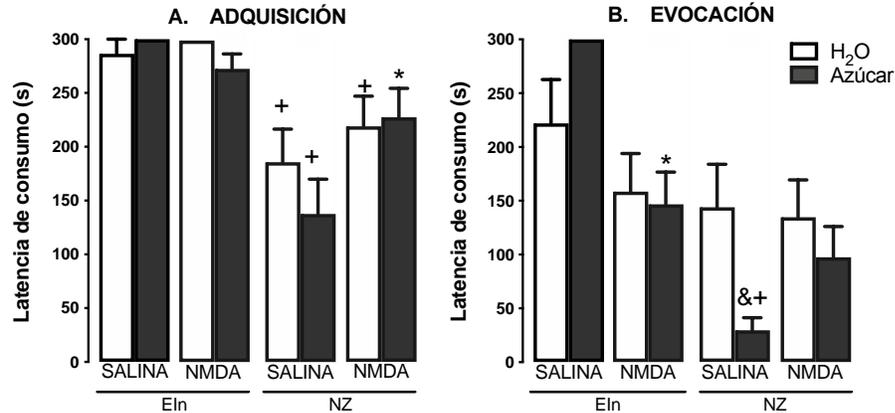


Figura 18. Latencia de inicio de consumo durante la EIn modificada, (A) durante adquisición (B) durante la evocación (media +/- SEM). * $p < 0.05$ Salina vs NMDA, & $p < 0.05$ Agua vs Azúcar + $p < 0.05$ EIn modificada vs No choque (NZ).

La **figura 19-A**, muestra el consumo de líquido (agua o azúcar) durante la adquisición de la EIn modificada, a mayor consumo se observa una mayor respuesta apetitiva al sabor. La ANDEVA de tres vías no mostró INTERACCIÓN DE LOS TRES FACTORES (FÁRMACO X TRATAMIENTO X CONDICIÓN), así como tampoco INTERRACCIÓN entre los pares. Pero si se encontró diferencias significativas por CONDICIÓN ($F_{(1,77)} = 25.597, P < .001$), pero no por FÁRMACO ($F_{(1,77)} = .241, P = .625$), TRATAMIENTO ($F_{(1,77)} = 2.302, P = .133$). La post-hoc de Fisher no encontró diferencias entre los grupos de EIn modificada, EIn-SAL-H vs EIn-SAL-S, EIn-NMDA-H vs EIn-NMDA-S, EIn-SAL-H vs EIn-NMDA-H y EIn-SAL-S vs EIn-NMDA-S ($p > .05$), demostrando el consumo de agua o azúcar no es afectado por la activación de los NMDAR durante la adquisición de la tarea. De igual forma no se encontraron diferencias entre los grupos EIn-SAL-H vs. EIn-SAL-S ($p > 0.05$), indicando que no hay un aumento en el consumo de azúcar. No obstante, la prueba post-hoc arrojó diferencias entre los grupos EIn con sus respectivos controles sin choque, EIn-SAL-S vs NZ-SAL-S vs. EIn-NMDA-H vs NZ-NMDA-H ($^+p < .05$), indicando que, como era de esperarse, la aplicación del choque eléctrico durante el protocolo de EIn

modificada, decreta significativamente el consumo tanto del agua como de azúcar. Por otra parte, el consumo de azúcar fue significativamente mayor en comparación del consumo de agua entre los grupos control sin choque los grupos NZ-SAL-H vs. NZ-SAL-S ($p < .05$), confirmando que la respuesta apetitiva por azúcar es mayor que por agua en condiciones no aversivas. Globalmente, estos resultados indican que durante la adquisición de la EIn modificada, se produce un decremento en el consumo tanto de agua como de azúcar presente al final del LO, y demuestran que la inyección de NMDA en la CI no afecta la respuesta apetitiva. De igual manera, demuestran que la respuesta apetitiva es mayor por azúcar que por el agua en este contexto complejo.

La **figura 19-B** muestra el consumo durante la evocación de la EIn modificada, la ANDEVA de tres vías de la latencia de inicio de consumo arrojó INTERACCIÓN DE LOS TRES FACTORES (FÁRMACO X TRATAMIENTO X CONDICIÓN) ($F_{(1,76)} = 6.915, P = .010$), INTERACCIÓN entre los pares FÁRMACO X CONDICIÓN ($F_{(1,76)} = 9.146, P = .003$), no se encontró INTERACCIÓN entre FÁRMACO X TRATAMIENTO, así como TRATAMIENTO X CONDICIÓN. También se encontró diferencia significativa debida a FÁRMACO ($F_{(1,76)} = 6.915, P = .010$), TRATAMIENTO ($F_{(1,76)} = 3.865, P = .053$), sin embargo, no mostró diferencias significativas por CONDICIÓN ($F_{(1,76)} = 22.352, P < .001$). La prueba post-hoc mostró diferencias entre los grupos EIn-SAL-S vs. EIn-NMDA-S ($p < .05$), pero ninguna entre los grupos que consumieron agua (EI-SAL-H vs. EIn-NMDA-H; $p > .05$), indicando que la inyección de NMDA, durante la adquisición, incrementa la formación de la memoria apetitiva por el azúcar, pero no para agua. Como se mostró en la adquisición, también se encontró diferencias entre EIn-SAL-S vs. NZ-SAL-S ($p < .05$), mostrando que el choque eléctrico decreta la memoria apetitiva hacia el azúcar. Así mismo, la prueba post-hoc arrojó diferencias entre los grupos control NZ-SAL-

H vs. NZ-SAL-S ($&p<.05$), corroborando que, en ausencia de choque, se produce un incremento en la formación de la memoria apetitiva al azúcar, y que éste consumo es mayor que para el agua, el incremento en el consumo fue de azúcar sobre el agua. Por otra parte, los consumos durante la evocación fueron alterados (por la activación de los receptores NMDA durante la adquisición) NZ-SAL-S vs. NZ-NMDA-S ($* p<.05$); teniendo un efecto diferencial dependiendo de las condiciones en que se experimentó el contexto donde se dio el consumo por primera vez, ya que la inyección de NMDA provocó un decremento en el consumo de azúcar (sin alterar el consumo hacia el agua) sólo bajo condiciones de no choque, indicando que el balance de activación de los receptores NMDA es relevante durante respuestas apetitivas (v.g., sin conflicto de estímulos).

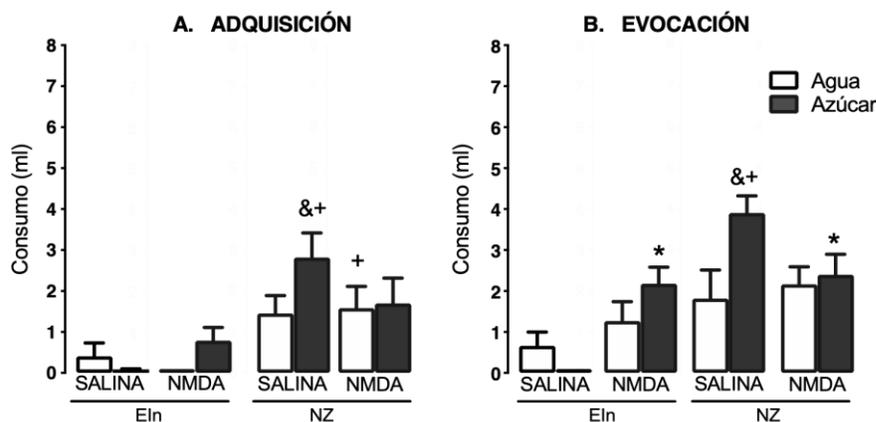


Figura 19. Consumo en ml durante la tarea de EIn modificada. (A) Durante la adquisición. (B) Durante la evocación (media +/- SEM)* $p < 0.05$ Salina vs NMDA, & $p < 0.05$ Agua vs. Azúcar + $p < 0.05$ Choque vs No choque.

7.4. RESULTADOS DEL OBJETIVO 3

La **tabla 7**, muestra la latencia de entrada a LO de la cámara de EIn modificada durante la preexposición y la adquisición en presencia de azúcar o agua de la EIn modificada. Una ANDEVA de tres vías de la preexposición reveló que no hubo INTERACCIÓN DE LOS TRES FACTORES (FÁRMACO X TRATAMIENTO X CONDICIÓN), así como tampoco INTERRACCIÓN entre los pares; tampoco se

encontraron diferencias significativas por el FÁRMACO ($F_{(1,76)} = .101, P = .751$) el TRATAMIENTO ($F_{(1,76)} = .169, P = .682$), o CONDICIÓN ($F_{(1,76)} = 1.097, P = .2982$). Así mismo, una ANDEVA de tres vías de la latencia de entrada durante la ADQUISICIÓN reveló que no hay INTERACCIÓN DE LOS TRE FACTORES (FÁRMACO X TRATAMIENTO X CONDICIÓN), así como tampoco INTERRACCIÓN entre los pares, como tampoco se mostró diferencias significativas por FÁRMACO ($F_{(1,76)} = 2.008, P = .153$) TRATAMIENTO ($F_{(1,76)} = .094, P = .760$), CONDICIÓN ($F_{(1,76)} = .772, P = .382$). Además, este resultado muestra que las inyecciones de NMDA antes de la adquisición no afecta la movilidad o la motivación de la rata. Por otro lado, también ANDEVA de medidas repetidas (DÍAS X GRUPO) aplicada entre las latencias de preexposición y adquisición reveló que no hay INTERRACCIÓN, como tampoco diferencias entre los ocho grupos ($F_{(7,76)} = .585, P = .766$), sin embargo, se encontró diferencias entre los días ($F_{(1,76)} = 47.985, P < .001$). Una prueba *T-student* pareada reveló diferencias entre la preexposición y adquisición de la EIn modificada en los grupos IL-SAL-H2O, IL-SAL-S, IL-NMDA-H2O, SZ-SAL-H2O, SZ-SAL-S y SZ-NMDA-H2O. Esto afirma, que la preexposición produce una memoria apetitiva, que se observa por un decremento significativo el día de la adquisición.

Latencias de entrada (s)					
Condición	Fármaco	Tratamiento	Grupos	Pre-exposición	Adquisición
IL	Salina	Agua	IL-SAL-H	8.9+/-0.8	6.4+/-0.9 *
		Azúcar	IL-SAL-S	8.7+/- 0.8	5.3+/-0.9 *
	NMDA	Agua	IL-NMDA-H	10.8+/-1.6	6.0+/-0.7 *
		Azúcar	IL-NMDA-S	9.4+/-1.8	6.0+/-1.3
No Choque	Salina	Agua	SZ-SAL-H	8.4+/-0.7	5.8+/- 0.6
		Azúcar	SZ-SAL-S	12.3+/- 2.3	5.6+/- 0.6 *
	NMDA	Agua	SZ-NMDA-H	10.5+/-1.4	7.0+/-0.7
		Azúcar	SZ-NMDA-S	9.8+/-1.1	7.9+/-1.5

TABLA 7. Promedio de la latencia de entrada al LO durante la preexposición y adquisición de la EIn modificada (media +/- SEM) * $p < 0.05$ preexposición vs adquisición.

En la **figura 20**, se muestra el RDA durante la evocación de la memoria de la EIn modificada tras la preexposición a la cámara. La ANDEVA de tres vías determinó que no hubo INTERACCIÓN DE LOS TRES FACTORES (FÁRMACO X TRATAMIENTO X CONDICIÓN), así como tampoco INTERRACCIÓN entre los pares FÁRMACO X TRATAMIENTO, y FÁRMACO X CONDICIÓN pero se encontró INTERACCIÓN entre TRATAMIENTO X CONDICIÓN ($F_{(1,76)} = 5.351, P = .023$). También se encontró diferencias entre TRATAMIENTO ($F_{(1,76)} = 5.932, P = .017$) y CONDICIÓN ($F_{(1,76)} = 5.015, P = .028$), sin embargo, no hubo diferencia por FÁRMACO ($F_{(1,76)} = .004, P = .952$). Particularmente, la prueba post-hoc reveló diferencias entre los grupos IL-SAL-H vs. IL-SAL-S ($&p < .05$) y IL-NMDA-H vs. IL-NMDA-S ($&p < .05$), lo que indica que la preexposición al LO en presencia de azúcar induce una mayor IL de la EIn modificada; asimismo, indicó que la inyección intracortical de NMDA no altera el RDA independientemente de la presencia de azúcar o agua. La prueba post-hoc también, reveló diferencias entre los grupos IL-SAL-H vs. SZ-SAL-H ($^{\dagger}p > .05$), corroborando que el choque eléctrico incrementa el RDA. Estos resultados indican que la preexposición al LO en presencia de azúcar incrementa la memoria apetitiva por el contexto y impide la actualización a una memoria aversiva, es decir aumenta la IL de la EIn. Por otra parte, la inyección de NMDA no afectó de manera significativa el RDA en ninguno de los grupos, indicando que la activación de estos receptores no altera significativamente la IL de EIn modificada.

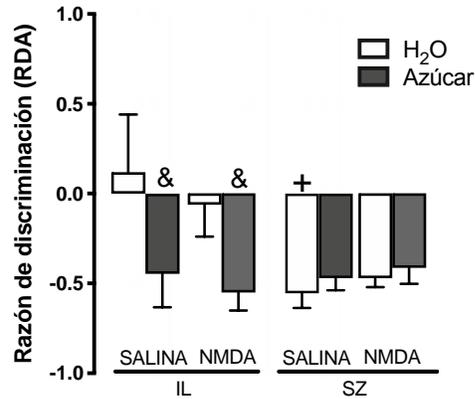


Figura 20. $RDA = [((\text{Latencia de entrada Evocación} - \text{Límite de aversión}) / (\text{Latencia de entrada Adquisición})) \times 0.01]$ (media \pm SEM). * $p < 0.05$ Salina vs NMDA, & $p < 0.05$ Agua vs Azúcar + $p < 0.05$ IL-EIn modificada vs No choque (SZ).

La figura 21-A, muestra la latencia de inicio de consumo de agua o azúcar, durante la preexposición a la cámara de EIn; a menor latencia de consumo, mayor respuesta apetitiva por el contexto con agua o azúcar. Una ANDEVA de tres vías durante la preexposición no reveló INTERACCIÓN DE LOS TRES FACTORES (FÁRMACO X TRATAMIENTO X CONDICIÓN), así como tampoco INTERRACCIÓN entre los pares. Se encontraron diferencias significativas por TRATAMIENTO ($F_{(1,76)} = 6.297, P = .014$), pero no por FÁRMACO ($F_{(1,76)} = .409, P = .525$), CONDICIÓN ($F_{(1,76)} = 3.090, P = .089$). Este resultado indica que durante preexposición al LO, no hay diferencias en las latencias de consumo entre los grupos expuestos a agua o entre los expuestos al azúcar. La Post-hoc de Fisher tampoco reveló diferencias significativas.

La figura 21-B, muestra la latencia de inicio de consumo durante la adquisición EIn modificada; a menor latencia de inicio de consumo, mayor memoria apetitiva al contexto en presencia de agua o de azúcar al final LO. La ANDEVA de tres vías no encontró INTERACCIÓN DE LOS TRES FACTORES (FÁRMACO X TRATAMIENTO X CONDICIÓN), así como tampoco INTERRACCIÓN entre los pares FARMACÓ X

TRATAMIENTO y TRATAMIENTO X CONDICIÓN, pero se encontró INTERACCIÓN entre FÁRMACO X CONDICIÓN ($F_{(1,76)} = 6.624, P = .012$). También se encontró diferencias por TRATAMIENTO ($F_{(1,76)} = 26.653, P < .001$), CONDICIÓN ($F_{(1,76)} = 8.401, P = .005$), pero *no* arrojó diferencia significativa debidas a FÁRMACO ($F_{(1,76)} = 644, P = .425$). La prueba post-hoc de Fisher mostró un aumento significativo de la latencia de consumo de los grupos con azúcar en comparación a los con agua (IL-SAL-H vs IL-SAL-S, IL-NMDA-H vs. IL-NMDA-S, SZ-SAL-H vs. SZ-SAL-S y SZ-NMDA-H vs. SZ-NMDA-S (& $p < .05$), demostrando que la preexposición en el LO a la azúcar pero no al agua, induce una preferencia al contexto, decrementando la latencia de inicio de consumo al día siguiente, durante la adquisición de la EIn modificada. Por otra parte, se encontraron diferencias entre los grupos IL-SAL-H vs. IL-NMDA-H ($*p < .05$) pero ninguna entre los grupos IL-SAL-S vs. IL-NMDA-S ($p > .05$), señalando que la inyección de NMDA incrementa la latencia de consumo durante la adquisición de la EIn modificada, solamente en presencia de agua. La prueba post hoc también arrojó diferencias entre los grupos IL-SAL-H vs. SZ-SAL-H y IL-SAL-S vs. SZ-SAL-S ($+p > .05$), mostrando las diferencias esperadas por la presencia de choque. Estos resultados demuestran que la preexposición al contexto en presencia de azúcar aumenta la respuesta apetitiva al contexto y que la rapidez con la que se inicia el consumo durante la adquisición se debe únicamente a la presencia azúcar, pero no de agua en el LO. Además, los resultados muestran que el NMDA no altera la latencia inicio de consumo al azúcar en presencia o no de choque eléctrico, sin embargo, el NMDA induce un decremento en la latencia de consumo de agua durante la adquisición de la EIn-modificada, en otras palabras, aumenta la memoria apetitiva del contexto asociado al agua.

La latencia de inicio de consumo durante la evocación se muestra en la **figura 21-C**. La ANDEVA de tres vías no mostró INTERACCIÓN DE LOS TRES FACTORES (FÁRMACO X TRATAMIENTO X CONDICIÓN), así como tampoco INTERRACCIÓN entre los pares, sin embargo, encontró diferencia debido al TRATAMIENTO ($F_{(1,76)} = 24.323, P < .001$), pero no arrojó diferencias por FÁRMACO ($F_{(1,76)} = 2.064, P = .155$), CONDICIÓN ($F_{(1,76)} = .186, P = .668$). La Post-hoc de Fisher mostró diferencias entre los grupos IL-SAL-H vs IL-SAL-S ($p < .05$), indicando que la presencia de azúcar en el LO produce un decremento en la latencia de entrada e inhibe latentemente la asociación aversiva por el contexto (en presencia de choque). De igual manera, reveló diferencias entre los grupos control sin choque, SZ-SAL-H vs. SZ-SAL-S ($p < .05$), corroborando que el azúcar al final del LO induce mayor respuesta apetitiva por el contexto en comparación del agua. De forma contrastante, no encontró diferencias entre los grupos IL-NMDA-H vs. IL-NMDA-S ($p < .05$), indicando que la inyección de NMDA produce un decremento en la latencia de consumo hacia el agua (similar al observado en presencia de azúcar), lo que indica un aumento en la formación de la memoria apetitiva por el contexto en presencia de agua. Si bien todos los grupos con agua al final del LO presentan una latencia de inicio de consumo similar, únicamente el grupo IL-NMDA-H decrementó su latencia de inicio de consumo, la prueba post-hoc mostró diferencias entre los grupos IL-SAL-H vs IL-NMDA-H ($*p < 0.05$), estableciendo que la inyección de NMDA mejora la memoria apetitiva al contexto en presencia de agua. Globalmente estos resultados indican que la preexposición al contexto global de la cámara de la EIn solamente con azúcar mejora la memoria apetitiva al contexto, y que dicha memoria no se altera al recibir un choque eléctrico durante la adquisición. Por otra parte, esta memoria apetitiva por el contexto con azúcar, no se ve

alterada por la inyección de NMDA en la CI; contrariamente, la inyección de NMDA mejoró la memoria apetitiva al contexto con agua en la IL modificada.

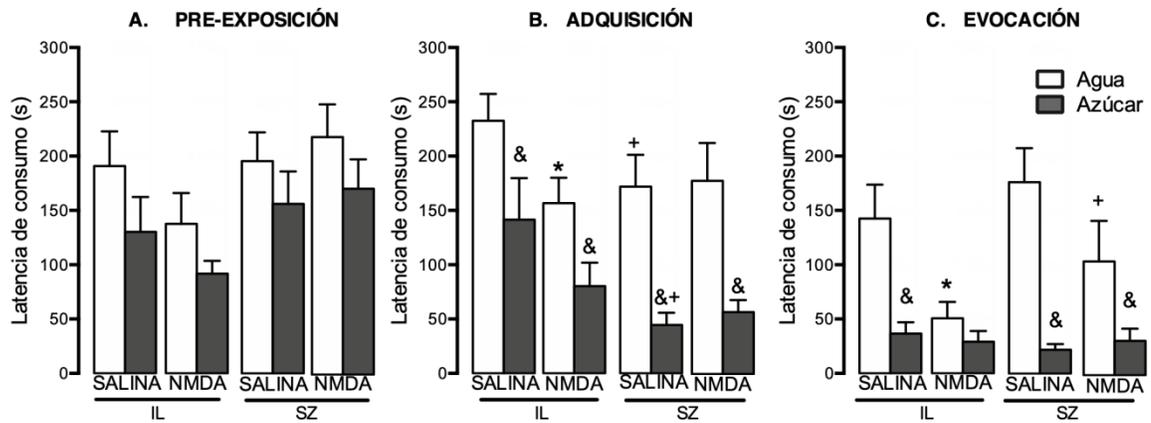


Figura 21. Latencia de inicio de consumo en la tarea de IL modificada (A) durante la preexposición (B) durante la adquisición (C) evocación (media +/- SEM). * $p < 0.05$ Salina vs NMDA, & $p < 0.05$ Agua vs Azúcar + $p < 0.05$ IL-ElIn modificada vs No choque (SZ).

En la figura 22-A, se muestra el consumo de agua o azúcar durante la preexposición al LO de la cámara; a mayor consumo, mayor respuesta apetitiva por agua o azúcar. La ANDEVA de tres vías no arrojó INTERACCIÓN DE LOS TRES FACTORES (FÁRMACO X TRATAMIENTO X CONDICIÓN), así como tampoco INTERRACCIÓN entre los pares. Sin embargo se encontró diferencia significativa por TRATAMIENTO ($F_{(1,76)} = 24.323$, $P < .001$), pero no debidas a FÁRMACO ($F_{(1, 76)} = 2.064$, $P = .155$) o CONDICIÓN ($F_{(1,76)} = .186$, $P = .668$). La prueba post-hoc de Fisher, mostró diferencias significativas entre los grupos con agua al final del LO, en comparación con los grupos con azúcar (IL-SAL-H vs. IL-SAL-S, IL-NMDA-H vs. IL-NMDA-S, NZ-SAL-H vs. SZ-SAL-S y SZ-NMDA-H vs. SZ-NMDA-S ($p < .05$)), estableciendo que durante la preexposición hay un mayor consumo de azúcar por ser un estímulo más apetitivo en comparación del agua.

El consumo de agua o azúcar de la adquisición de la EIn modificada se muestra en la **figura 22-B**. La ANDEVA de tres vías no mostró INTERACCIÓN DE LOS TRES FACTORES (FÁRMACO X TRATAMIENTO X CONDICIÓN), así como tampoco INTERACCIÓN entre los pares TRATAMIENTO X CONDICIÓN, y FÁRMACO X TRATAMIENTO pero se encontró INTERACCIÓN entre FÁRMACO Y CONDICIÓN ($F_{(1,74)} = 4.134, P = .046$), así como diferencia por TRATAMIENTO ($F_{(1,74)} = 21.486, P < .001$) y CONDICIÓN ($F_{(1,74)} = 8.027, P = .006$), pero ninguna diferencia debida a FÁRMACO ($F_{(1,74)} = .018, P = .893$). La prueba Post-hoc de Fisher mostró que en ausencia del choque hay un aumento en el consumo de azúcar, ya que los grupos con choque eléctrico disminuyeron el consumo de azúcar IL-SAL-S vs. SZ-SAL-S ($^+p < .05$), pero los grupos de agua IL-SAL-H vs. SZ-SAL-H mostraron un consumo similar. Por otro lado, también hubo diferencias entre los grupos control SZ-SAL-H vs. SZ-SAL-S y SZ-NMDA-H vs. SZ-NMDA-S ($^{\&}p < .05$), mostrando que en ausencia del choque hay un aumento en el consumo de azúcar en comparación con el consumo de agua. Globalmente estos resultados indican que hay un incremento en la memoria apetitiva por el sabor dulce debido a la preexposición, pero no para el agua; esta memoria apetitiva por el azúcar decreta debido a la aplicación del choque eléctrico durante la adquisición de la EIn modificada, sin alterarse en ninguno de los grupos (con agua o azúcar) por la inyección de NMDA en la CI.

La **figura 22-C** muestra el consumo en ml durante la evocación de la EIn modificada tras la preexposición, la ANDEVA de tres vías no mostró INTERACCIÓN factores (FÁRMACO X TRATAMIENTO X CONDICIÓN), ni se encontró efecto entre pares. Sin embargo, se encontró diferencia por TRATAMIENTO ($F_{(1,76)} = 7.894, P = .006$), ninguna debida a FÁRMACO ($F_{(1,76)} = .125, P = .724$), o CONDICIÓN ($F_{(1,76)} = 3.95, P = .531$).

Lo que demuestra que, la presencia de azúcar o de agua al final del LO, la inyección de NMDA o el choque eléctrico administrados el día anterior, no afectan el consumo de agua o azúcar durante la evocación. Globalmente, estos resultados indican, si bien la preexposición induce una mayor respuesta apetitiva hacia el azúcar durante la adquisición de la EIn modificada los grupos que no recibieron choque presentaron una mayor memoria apetitiva al azúcar.

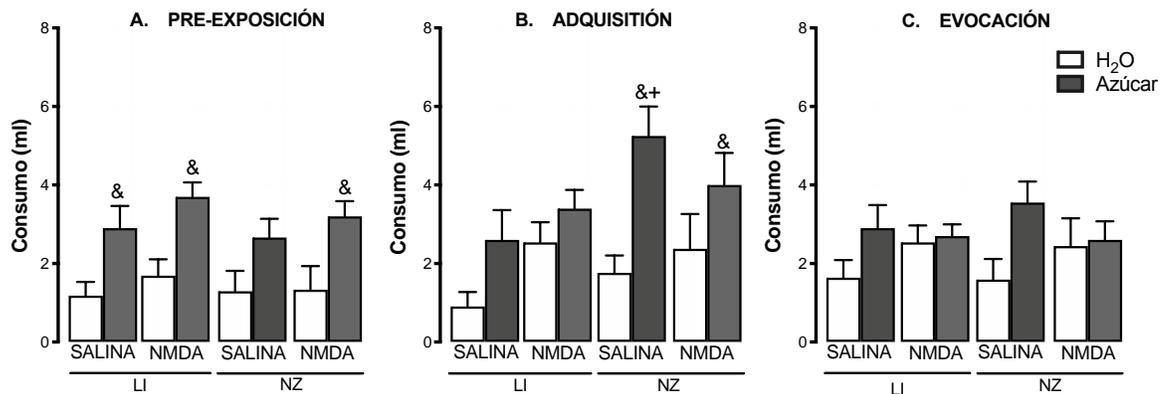


Figura 22. Consumo de agua o azúcar en la tarea de EIn-IL modificada (A) durante la preexposición (B) adquisición (C) evocación (media +/- SEM). * $p < 0.05$ Salina vs. NMDA, & $p < 0.05$ Agua vs. Azúcar + $p < 0.05$ IL-EIn modificada vs. No choque (SZ).

Efectos diferenciales de la activación de los NMDAR en la CI durante la EIn modificada y durante la IL-EIn.

Para poder evaluar el efecto de la preexposición al contexto durante la actualización de la memoria, es decir la IL de la EIn modificada, se procedió a realizar el análisis estadístico entre los resultados obtenidos en la evocación de la EIn modificada contra los resultados de la evocación de EIn después de la preexposición a la cámara modificada con agua o azúcar. La **figura 23-A** muestra, por lo tanto, la comparación del RDA entre los grupos de EIn modificada contra los grupos de IL-EI modificada (grupos que recibieron la preexposición al LO con agua o azúcar). A mayor RDA mayor EIn (aprendizaje aversivo) y menor IL de

la EIn. Una ANDEVA de tres vías no mostró INTERRACCIÓN entre LOS TRES FACTORES (FÁRMACO X TRATAMIENTO X CONDICIÓN (EIn vs IL)), ni se encontró efecto entre pares de FÁRMACO X TRATAMIENTO y TRATAMIENTO X CONDICIÓN, pero se encontró INTERACCIÓN ENTRE FÁRMACO Y CONDICIÓN ($F_{(1,78)} = 4.896, P=.030$). También, se encontró diferencias entre FÁRMACO ($F_{(1,78)} = 9.000, P = .003$), TRATAMIENTO ($F_{(1,78)} = 7.285, P = .008$) y CONDICIÓN (EI o IL) ($F_{(1,78)} = 19.819, P<.001$). La prueba post-hoc de Fisher que reveló diferencia significativa entre los grupos EIn-SAL-H vs IL-SAL-H, EIn-SAL-H vs IL-SAL-H y EIn-NMDA-H vs IL-NMDA-H ($*p<.05$). Dichas diferencias demuestran que, independientemente de la presencia de agua o del azúcar en el LO durante la preexposición, se observa un decremento en la EIn modificada (v.g., memoria aversiva), en otras palabras, la preexposición al LO indujo una IL de la EIn modificada con agua o azúcar. La prueba post-hoc también arrojó diferencias entre los grupos EIn-SAL-H vs. EIn-NMDA-H y EIn-SAL-S vs. EIn-NMDA-S ($*p<.05$), demostrando, como ya se había mencionado que el NMDA en la CI durante la adquisición, decrementa la formación de la memoria aversiva (EIn modificada). De manera contraria, la inyección de NMDA no alteró la IL-EI modificada. Globalmente, estos resultados demuestran que la preexposición al LO, aumentan la IL-EIn modificada independientemente de la presencia de agua o azúcar. Sin embargo, la activación de los NMDAR en la CI decrementa significativa la formación de la memoria aversiva (choque) asociada al estímulo agua o azúcar.

La figura **23-B**, muestra latencia de inicio de consumo durante la evocación de la EIn modificada, así como en la evocación de la EIn tras la preexposición a la cámara (IL-EI modificada). A menor latencia de consumo, mayor memoria apetitiva hacia el contexto con agua o azúcar. La ANDEVA de tres vías mostró INTERACCIÓN entre LOS TRES

FACTORES ($F_{(1,78)} = 4.341, P = .040$), así como INTERACCIÓN entre la CONDICIÓN X TRATAMIENTO ($F_{(1,78)} = 5.502, P = .022$), pero no hubo efecto entre pares de FÁRMACO X CONDICIÓN o FÁRMACO X TRATAMIENTO. Se encontraron diferencias por FÁRMACO ($F_{(1,78)} = 16.160, P = .0001$), por CONDICIÓN ($F_{(1,78)} = 54.792, P < .001$), pero no por el TRATAMIENTO ($F_{(1,78)} = 1.157, P = .285$). La prueba post-hoc de Fisher mostró diferencias entre los grupos EIn-SAL-H vs IL-SAL-H, EIn-SAL-H vs IL-SAL-H, EIn-NMDA-H vs IL-NMDA-H y EIn-NMDA-S vs IL-NMDA-S ($*p < .05$), señalando que la preexposición aumenta la memoria apetitiva al contexto independientemente de la presencia de agua o azúcar. De igual forma, la prueba post-hoc reveló un aumento significativo en la latencia de consumo del grupo EIn-NMDA-S vs. el grupo EIn-SAL-S ($&p < .05$), pero ninguna diferencia entre los grupos EIn-NMDA-H vs. el grupo EIn-SAL-H, demostrando, como se mencionó anteriormente, que el NMDA incrementa la formación de la memoria apetitiva al contexto en la EIn modificada en presencia únicamente de azúcar. Por otro lado, el grupo IL-NMDA-H mostró un incremento significativo en la latencia de entrada en comparación con el grupo IL-SAL-H ($&p < .05$), indicando que la inyección de NMDA aumenta la formación de la memoria apetitiva al contexto en presencia de agua cuando hay una preexposición a ese contexto. El grupo IL-SAL-H aumento latencia de entrada en comparación con IL-SAL-S ($^+p < .05$), indicando que la preexposición al contexto decrementa la latencia de inicio de consumo de azúcar solamente. De manera general, estos resultados muestran que la preexposición aumenta la memoria apetitiva al contexto, en particular en presencia de azúcar. También indican que la inyección de NMDA tiene un efecto diferente en la EIn y en la IL-EI, ya que aumento la formación de la memoria apetitiva hacia el azúcar durante la prueba de EIn por un lado, por el otro lado la

inyección de NMDA disminuye la actualización en una prueba de IL-EI modificada, decrementando la latencia de inicio de consumo.

La figura **23-C**, muestra el consumo (en ml) durante la evocación de la EIn modificada y tras la preexposición al LO. La ANDEVA de tres vías mostró INTERACCIÓN entre LOS TRES FACTORES ($F_{(1,77)} = 4.310, P = .041$), pero no se encontró INTERACCIÓN entre pares; también se encontró diferencia por FÁRMACO ($F_{(1,77)} = 7.598, P = .007$), y CONDICIÓN (EIn o IL) ($F_{(1,77)} = 20.877, P < .001$), pero no por TRATAMIENTO ($F_{(1,77)} = 2.448, P = .121$). La prueba post-hoc de Fisher mostró diferencias entre los grupos EIn-SAL-S vs IL-SAL-S y EIn-NMDA-H vs IL-NMDA-H ($*p < .05$), indicando que los grupos preexpuestos a agua o azúcar aumentan el consumo y por lo tanto la memoria apetitiva (por agua o azúcar) se ve incrementada durante la evocación de la EIn modificada, sólo tras la preexposición. Asimismo, el grupo preexpuesto IL-SAL-S mostró un consumo significativamente mayor que el grupo IL-SAL-H ($^+p < .05$), mostrando que la preexposición produce un aumento mucho mayor en el consumo de azúcar en comparación de agua. Por otra parte, como ya se mencionó, la inyección de NMDA aumentó el consumo únicamente de azúcar durante una EIn-modificada (EI-SAL-S vs EIn-NMDA-S; $^{\&}p < .05$), indicando que un aumento en la actividad de los NMDAR en la CI mejora la formación de la memoria asociada a un estímulo apetitivo (azúcar).

En conjunto los resultados señalan que la preexposición a la cámara con agua o azúcar incrementa la memoria apetitiva por ambos sabores, sin embargo, el incremento en el consumo de azúcar es mayor durante la evocación. De manera relevante, los resultados demuestran efectos diferenciales de la activación de los NMDAR en la CI, durante la adquisición de EIn modificada (donde el contexto y el sabor son novedosos) no altera la formación de la memoria apetitiva del agua o del azúcar; pero durante la IL-EI modificada

(donde el contexto y el sabor son familiares), la misma activación aumenta la formación de la memoria apetitiva solo al agua, ya que la preexposición al LO más azúcar aumenta la respuesta apetitiva hacia el azúcar, y dicha respuesta no se altera por la inyección de NMDA.

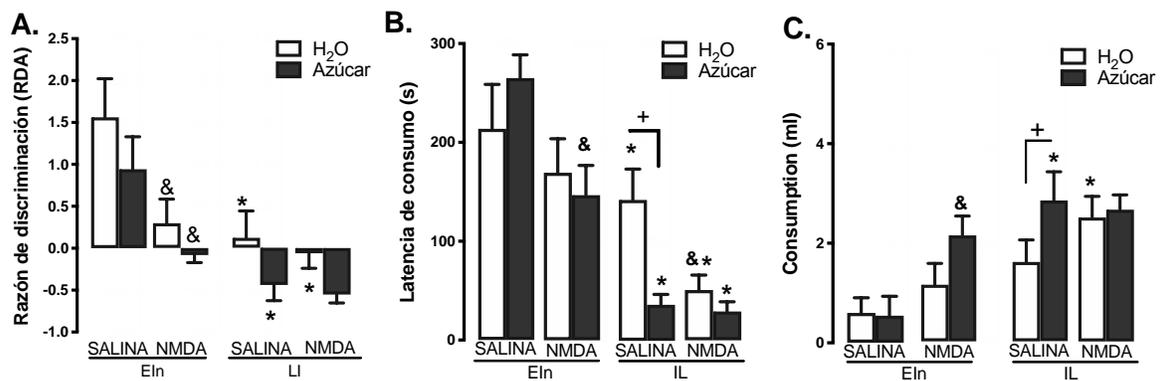


Figura 23. (A) $RDA = [(Latencia\ de\ entrada\ Evocación - Límite\ de\ aversión) / (Latencia\ de\ entrada\ Adquisición)] \times 0.01$ (B) Latencia de inicio de consumo durante las tareas de EIn modificada y IL modificada (C) Figura 22C. Efecto de la inyección de NMDA-IC para el consumo en la EI modificada y IL modificada durante la evocación (media \pm SEM). * $p < 0.05$ EIn modificada vs. IL-EIn modificada, & $p < 0.05$ NMDA o SALINA + $p < 0.05$ AGUA vs. AZÚCAR.

8. DISCUSIÓN

Este trabajo doctoral estuvo encaminado a resolver tres grandes preguntas: 1) ¿Cuándo ocurre la activación precisa de los receptores tipo NMDA en la CI durante la adquisición del CAS? De tal forma, se estudió el tiempo de activación del NMDAR en la CI durante la adquisición del CAS, particularmente por tener un IIE prolongado que permite estudiar de forma separada e independiente los mecanismos neurobiológicos desencadenados tras la presentación del EC y del EI durante el condicionamiento. 2) En una tarea compleja, donde se presenta un “conflicto emocional” por una competencia de estímulos con valencia opuesta ¿predominará la asociación aversiva o la apetitiva?, ¿cuál es la función de los

receptores tipo NMDA en la CI cuando se asocian de manera simultánea estímulos con valencia opuesta en este tipo de tarea compleja? Por lo tanto, se evaluó el efecto de la activación del receptor tipo NMDA en la CI, durante una tarea de EIn donde compiten estímulos con valor opuesto durante la asociación y la evocación de la memoria. Esta pregunta implicó desarrollar un modelo de aprendizaje de “*conflicto emocional*” (estímulos con valor opuesto) basado en la EIn tradicional. Esta tarea fue modificada para que, durante la asociación compleja inherente en la EIn, dos estímulos de valencia opuesta compitieran (ver descripción en métodos, **pág. 62**). De tal forma, durante la EIn modificada se propició la competencia entre un estímulo aversivo (e.g., choque eléctrico) y otro apetitivo (e.g., bebida azucarada), tanto en la adquisición como en la evocación de la tarea. 3) Durante la actualización de la memoria, cuando se asocia algo nuevo a un contexto apetitivo previamente aprendido ¿predominará la memoria apetitiva sobre la aversiva?, ¿cuál es la función de los receptores tipo NMDA en la CI durante la actualización de la memoria apetitiva a una aversiva? Así, se exploró el efecto de la activación de los receptores tipo NMDA en la CI, durante la actualización de la memoria, utilizando la IL de la IE modificada, por lo que se evaluó la actualización de la memoria asociada a un contexto altamente apetitivo tras un aprendizaje aversivo.

El primer hallazgo fue que la activación de los NMDAR en la CI tiene un efecto específico durante el IEE (e.g. inmediatamente después del EC) durante la adquisición de CAS, ya que la inyección de NMDA aumentó la formación de memoria aversiva solo después de la presentación del EC, pero no antes o después del EI. Este efecto de activación de los NMDAR después del EC tiene una acción robusta, ya que la inyección bilateral de una dosis fisiológica del agonista NMDA en la CI, indujo un fortalecimiento significativo del CAS cuando se administró únicamente después del EC, pero no antes o después del EI.

Este resultado indica que esta dosis mimetiza la actividad glutamatérgica fisiológica durante el momento puntual del IEE del CAS, que al parecer es requerida para un fortalecimiento del aprendizaje. Este efecto puntual en el IEE no se superpone con las probables acciones de glutamato que podrían estar relacionadas a la percepción del azúcar durante la ingesta, así como tampoco por la inyección y/o las consecuencias del inductor de malestar gástrico (p. ej., LiCl). Este resultado es relevante porque el efecto máximo del agonismo de NMDA es de aproximadamente 30 min después de su inyección cortical; por lo tanto, la activación de los NMDAR en la CI podría ser el resultado de la coincidencia con un incremento glutamatérgico, justo después de la presentación del sabor (p. ej., EC), ya que las inyecciones similares de NMDA, realizadas 15 min antes del EC, no mejoraron la formación de la memoria aversiva (CAS). Es importante mencionar que el agonista NMDA tiene una alta afinidad por el receptor ionotrópico a glutamato tipo NMDA, mostrando efectos de unión y regulación específicos que imitan las acciones de glutamato en estos receptores (Grimwood, Foster, & Kemp, 1991). Por otra parte, los resultados también demuestran que el NMDA en la CI no afecta la motivación, la respuesta motora o la percepción del gusto durante la adquisición del CAS, ya que las ratas presentaron una ingesta de azúcar similar independientemente del momento de la inyección del NMDA.

Evidencias previas han descrito la importancia de los NMDAR durante el CAS (usando principalmente sacarina, 0.1% y LiCl; 0.3 M a 0.4 M), señalando algunos mecanismos neuroquímicos en la CI involucrados a lo largo del IIE del CAS (Bermudez-Rattoni, 2014). Por ejemplo, el bloqueo de los NMDAR con AP5 en la CI, 20 a 30 min antes de la presentación de sacarina, interrumpió la adquisición del CAS (Berman et al., 2000; Ferreira et al., 2002; Rosenblum et al., 1997). Además, el bloqueo de los NMDAR con AP5 (5 μ g / 0.5 μ L), 30 o 120 min después de la inyección de LiCl, impidió la

consolidación del CAS (Ferreira et al., 2002; Gutierrez et al., 1999). Sin embargo, otras evidencias muestran que el AP5 (5 μg / 0.5 μl), inyectado en el CI, 20 min después de sacarina y 30 min antes de LiCl interrumpió el CAS (Rosenblum et al., 1997). Por otro lado, una dosis AP5 similar (5 μg / 0.5 μl) justo antes de LiCl no tuvo ningún efecto sobre el CAS (G. Ferreira, Gutierrez, De La Cruz, & Bermudez-Rattoni, 2002), a pesar de que ambos experimentos utilizaron el mismo antagonista a la misma dosis. Esta discrepancia podría estar relacionada con los diferentes procedimientos experimentales, ya que las inyecciones de antagonista se realizaron 20 min después de la presentación de sacarina, 30 min antes de la inyección de LiCl o justo antes de la inyección de LiCl. También, reportes previos indican que una dosis mayor de NMDA (10 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) en la CI induce excitotoxicidad a causa de una lesión permanente que altera la adquisición del CAS (Bermúdez-Rattoni et al., 1997; Bermudez-Rattoni et al., 1991). Los resultados de esta tesis demuestran que la activación de los NMDAR usando NMDA como agonista a una dosis subconvulsiva y fisiológica (1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) puede potenciar el CAS, sólo cuando se administra inmediatamente después del EC. En este sentido, usando esta dosis fisiológica de NMDA, previamente se han demostrado diferentes efectos conductuales potenciadores; por ejemplo, el NMDA en el hipocampo ventral induce actividad locomotora al aumentar la liberación dopaminérgica en la corteza prefrontal medial (Peleg-Raibstein et al., 2005). Además, la activación del receptor NMDA en el núcleo accumbens aumenta la memoria aversiva del sabor al retrasar su extinción (Núñez-Jaramillo et al., 2012). En general, la evidencia indica que la activación del NMDAR (dosis fisiológica), en algunas áreas del cerebro, puede mejorar el aprendizaje.

Conocimiento previo indica que el sabor novedoso (p. ej., sacarina) durante la adquisición del CAS induce una activación colinérgica significativa en la CI (Miranda,

Ramírez-Lugo, & Bermúdez-Rattoni, 2000). La acetil colina, a través de los receptores muscarínicos corticales, activa la proteína cinasa que conduce a la fosforilación de la subunidad NR2B del receptor NMDA, que desencadena un cambio intracelular crucial que permite la formación de la memoria del sabor (Rosenblum et al., 1997). De tal forma, estos eventos de activación glutamatérgica están relacionados con cambios intracelulares que podrían promover la activación de factores de transcripción nuclear que median la formación de memoria a largo plazo (Berman et al., 2000; Jiménez & Tapia, 2004). En otras palabras, la activación de los NMDAR podría mejorar la cascada intracelular que facilita la coincidencia de estímulos durante un periodo preciso del IIE, que se correlaciona con la activación del receptor muscarínico inducida por el EC y con la fosforilación posterior de la subunidad NR2B-NMDA, hasta una hora después de la presencia del EI (Rosenblum et al., 1993) y con el hecho de que la fosforilación de la subunidad induce un retraso en el decaimiento de la actividad del receptor (Cull-Candy, Brickley, & Farrant, 2001).

Los presentes resultados respaldan evidencias previas que demostraron que los niveles de glutamato en la CI aumentan significativamente después de la presentación del EI (Guzmán-Ramos et al., 2010; Miranda et al., 2002; Osorio-Gómez et al., 2017); así como la hipótesis de la activación del receptor muscarínico y la fosforilación de la subunidad NR2B-NMDAR, iniciada por el EC durante la asociación del sabor; indicando que el proceso de fosforilación “*prepara*” al sistema para integrar las consecuencias aversivas post-ingesta. Por lo tanto, el NMDA en la CI justo después del EC (p.ej. azúcar) al parecer potencia la actividad de los NMDAR mediada por un sabor novedoso, justo en el intervalo de coincidencia preciso entre el EC y el EI durante la adquisición de CAS, y por lo tanto aumentando la asociación aversiva. Si bien, se ha mostrado que la inducción de

malestar visceral con LiCl también provoca un aumento significativo de glutamato en el CI (Guzmán-Ramos et al., 2010; Miranda et al., 2002), este aumento podría activar todos los receptores de glutamato en concurrencia con aquellos ya fosforilados en la subunidad NR2B en consecuencia del EC. Los resultados de este trabajo demuestran que la inyección de NMDA justo después del EC aumentó el CAS, indicando que la actividad de los NMDAR, acrecentada por el agonista, podría estar imitando y mejorando los procesos de glutamato inducidos después del EC hasta el arribo de la señal inducida por el EI, que aumenta aún más los niveles de glutamato en la CI. Por lo tanto, la coincidencia del agonismo de los NMDAR, justo después de EC, podría ser esencial para lograr un CAS más robusto, ya que no se observó un decremento significativo en el consumo cuando se inyectó antes o después de EI, lo que indica los NMDAR no tienen una participación puntual durante la presentación del EI. Estas evidencias subrayan la necesidad de evaluar aspectos relacionados con la coincidencia de la cascada intracelular a lo largo del IIE. Asimismo, los presentes resultados deben interpretarse con cautela ya que, al usar azúcar como EC para el CAS, en contraste con la mayoría de los reportes anteriores que han usado sacarina, debe considerarse los procesos relacionados, no sólo con el reconocimiento del sabor dulce, sino también con el valor hedónico asociado al azúcar y su contenido calórico, que podrían estar activando diferentes neurotransmisores y estructuras cerebrales. En este sentido se sabe que el azúcar, en comparación con la sacarina, produce diferentes resultados de aprendizaje apetitivos y aversivos (Vera-Rivera et al., 2018), que podrían estar mediados por una actividad glutamatérgica cortical diferente. Por lo tanto, es importante evaluar en estudios futuros las diferencias neuroquímicas durante el condicionamiento aversivo con sacarina o azúcar, así como evaluar su relación con la activación glutamatérgica en la CI.

Si bien, los presentes resultados demuestran que la activación de los NMDAR ayuda a integrar la asociación del EC-EI durante el IIE, quedó abierta la pregunta: ¿Cómo participan los NMDAR en la adquisición de una tarea compleja? La información visceral-gustativa y sensorial-contextual, son procesadas por diferentes vías; una interna o visceral y otra externa o cutánea (Krane & Wagner, 1975). Se ha demostrado que no es posible la asociación aversiva al sabor con un estímulo aversivo externo (p. e. choque eléctrico) (Garcia et al., 1974; Garcia et al., 1985; Rusiniak et al., 1976). Se ha encontrado que, si bien, un choque eléctrico no produce una aversión al sabor, si puede alterar la palatabilidad al sabor (Lin et al., 2017). De igual manera se ha encontrado que la CI participa durante la competencia de estímulos (Quintero et al., 2014). Por lo tanto, la segunda pregunta de esta tesis doctoral incluyó desarrollar una tarea de aprendizaje complejo donde estuviera presente la competencia de estímulos. Una vez validada esta tarea, se estudió el efecto de los NMDAR en la CI, durante la adquisición y evocación de la EIn modificada donde compiten estímulos con diferente valencia; es decir se induce la competencia entre un estímulo aversivo, choque eléctrico, y otro apetitivo, bebida azucarada.

Diversas teorías sugerían que el cambio del contexto podía afectar la adquisición y evocación de la memoria (Wagner, Mazur, Donegan, & Pfautz, 1980), evidencias previas indican que el cambio en el contexto produce retardo en la formación de la memoria apetitiva al sabor; cuando a las ratas se les presenta por primera vez sacarina en un contexto A, y la segunda presentación se presentaba en un contexto B, las ratas no aumentan el consumo de sacarina, es decir presentaban menor respuesta apetitiva al sabor dulce dependiente del lugar (De la Casa et al., 2013; Honey, Pye, Lightbown, Rey, & Hall, 1992). Particularmente, siguiendo esta evidencia y evitar que el cambio de contexto, durante el entrenamiento de la EIn modificada, produjera un decremento en la formación de la

memoria apetitiva, en los experimentos reportados aquí se realizó una evaluación previa para evaluar los efectos de 3 exposiciones al contexto, previas a la adquisición (e.g. 3 días al LC y LO de la cámara de EIn modificada (**Apéndice 1, Figura 25**). Durante estas 3 exposiciones, se encontró, un decremento al segundo día en la latencia de entrada, un decremento en la latencia de inicio de consumo, así como un incremento de consumo de azúcar presente al final del LO, lo que confirmó que el cambio de contexto no es un distractor para el consumo de azúcar ya que desde la primera presentación, se observó un incremento en la respuesta; asimismo estos resultados indicaron que la presencia de azúcar al parecer aumenta la respuesta apetitiva del LO de la cámara (oscuro y seguro), ya que decreta cada día de manera significativa la latencia de entrada. De tal forma, con este ensayo preliminar corroboramos que el LO, modificada con azúcar, es suficiente para incrementar la respuesta apetitiva, y por lo tanto poder implementar la EIn bajo la presencia de azúcar que es un estímulo con una carga positiva robusta, que produce un incremento desde el segundo día de su presentación y decremento en la latencia de inicio de consumo desde el primer día. Por otra parte, durante la estandarización de la EIn modificada, encontramos que el orden en el que se presentan los estímulos, es decir el momento de presentación del choque eléctrico es fundamental; las ratas que, durante la adquisición, recibieron el choque eléctrico después de consumir el azúcar, presente al final del LO, no fueron capaces de adquirir la EIn. Por el contrario, las ratas que recibieron inmediatamente el choque eléctrico al cruzar al LO desarrollaron una EIn significativa (**Apéndice 2; Figura 26**); esto significa que el orden de presentación del choque eléctrico y el consumo de azúcar es determinante durante la EIn. La nula asociación aversiva al LO de la cámara cuando el choque es administrado después del consumo, podría explicarse como resultado del efecto “*relevante*” del azúcar al final del LO y por el tiempo que transcurrió tras haber cruzado

(más de 5 min). Así, estos experimentos indicaron que la competencia de estímulos con valencias opuestas depende tanto del orden como de la separación temporal entre ellos. Con base en lo anterior, se decidió entonces aplicar el choque eléctrico después de que la rata cruzaba al LO y una vez que ya había llegado el final del LO; debido a que 10 min era un tiempo muy prolongado para estar en presencia del estímulo apetitivo también se decidió que la tarea tuviera una duración total de 5 min y no de 10 min, como se venía usando durante la estandarización.

Los resultados obtenidos a través de la tarea de EIn modificada, demuestra en primer lugar que el azúcar al final del LO no tiene un componente olfativo que pudiera “*acelerar*” la latencia de entrada durante la primera sesión (p. ej. adquisición), ya que las latencias de entrada fueron similares cuando hubo azúcar o agua al final del LO de la cámara (**Tabla 6**). Como era de esperarse, el día de la adquisición tras la administración del choque eléctrico, la respuesta apetitiva (latencia de inicio de consumo y consumo de azúcar o agua) se vio significativamente disminuida en comparación con las ratas expuestas bajo las mismas condiciones de la adquisición de la EIn modificada pero que no recibieron choque eléctrico. Si bien todas las ratas de todos los grupos cruzaron al lado oscuro con similares latencias (**Tabla 6**), aquellas que no recibieron choque eléctrico tuvieron una menor latencia de inicio de consumo (Grupos Salina; **Figura 17-A**), así como consumo significativamente mayor de azúcar, pero de manera interesante sólo una tendencia de mayor consumo de agua en comparación de las ratas que recibieron choque eléctrico (Grupos Salina; **Figura 18-A**). Este resultado indica que la presencia de un estímulo aversivo durante una tarea de “*conflicto emocional*”, impacta de manera preponderante la respuesta apetitiva hacia un estímulo novedoso y altamente hedónico como es el azúcar. Es importante mencionar que un mayor consumo, una menor latencia de consumo, así como

bajo RDA en las ratas que **no** recibieron choque eléctrico, son respuestas inherentes a las condiciones propias de un contexto altamente positivo, ya que el LO de la cámara de EIn es un contexto atractor “*innato*” para las ratas que, dicho contexto fue modificado con azúcar, induce *per se* una alta respuesta apetitiva cuando es experimentado por primera vez sin presencia de estímulos aversivos asociados a éste.

Por otra parte, tras la asociación de los estímulos, durante la evocación de la EIn modificada observamos que el aprendizaje de esta tarea no se ve alterado de manera diferencial por la presencia de azúcar o agua al final del LO; ya que todas las ratas mostraron un RDA similar el día de la evocación, el cual fue significativamente mayor que el RDA de las ratas que no recibieron choque eléctrico (Grupos Salina; **Figura 16**). De tal forma, estos datos demuestran que no es suficiente la presencia de un estímulo apetitivo durante la EIn modificada para disminuir la memoria aversiva por el LO de la cámara (e.g. evitación inhibitoria), ya que las latencias de entrada al LO son equivalentes a las observadas en una EIn clásica (**Apéndice 3; Figura 27**). Por otra parte, y similar a lo observado durante la adquisición, la latencia de inicio del consumo de azúcar, pero no del agua, fue significativamente mayor durante la evocación de la EIn modificada, en comparación con las ratas que no recibieron choque eléctrico (Grupos Salina; **Figura 17-B**); indicando que el estímulo aversivo (es decir, el choque eléctrico) decreta de manera significativa la formación de la memoria apetitiva hacia el contexto modificado con un estímulo hedónico como el azúcar, pero no altera de manera significativa la formación de la memoria al contexto modificado con un estímulo neutral o no tan relevante como el agua. Asimismo, durante la evocación esta interacción también se observó en los consumos ya que sólo el consumo de azúcar, pero no de agua, fue significativamente menor en

comparación con el de las ratas que no recibieron choque eléctrico (Grupos Salina; **Figura 18-B**).

En conjunto estos resultados demuestran que la competencia de estímulos durante la EIn modificada, no altera la formación de la memoria o evocación de la EIn; igualmente, la competencia de estímulos no afecta la respuesta apetitiva, si el estímulo positivo es familiar y/o relativamente neutral (e.g. agua). Sin embargo, la competencia de estímulos, durante la EIn modificada, disminuye de manera significativa la respuesta apetitiva si el estímulo positivo, es novedoso y altamente relevante (e.g. azúcar). En otras palabras, la respuesta al estímulo positivo, y al contexto asociado, es significativamente disminuida durante la competencia de estímulos con valencia opuesta, así como tras la formación de la memoria de una tarea de “*conflicto emocional*”, sólo cuando el estímulo positivo es novedoso y hedónicamente relevante.

Hay evidencia que indica que existe la capacidad de disociar las consecuencias provenientes de estímulos externos (e.g. choque eléctrico) con respecto a estímulos internos (e.g. consecuencias gástricas) durante su asociación a contextos determinados (Hankins, Garcia, & Rusiniak, 1974; Rusiniak, Hankins, Garcia, & Brett, 1979). De tal forma, aunque se ha demostrado que las consecuencias aversivas producidas por un choque eléctrico no pueden ser asociadas a un sabor (CAS), existe evidencia que demuestra la importancia del contexto en la respuesta apetitiva donde se experimenta el “*sabor*” (De la Casa et al., 2013). Los resultados de esta tesis muestran que, durante asociaciones complejas, como es el caso de la EIn modificada, un estímulo externo aversivo es en primer lugar capaz de decrementar la respuesta y la formación de la memoria apetitiva asociada a un sabor novedoso/relevante. Durante la tarea de la EIn modificada, la asociación aversiva al contexto prevalece sobre la apetitiva. La mayor asociación hacia el estímulo aversivo (e.g.,

mayor EIn) puede interpretarse en términos evolutivos donde “*debe recordar*” de manera más robusta las consecuencias aversivas para la sobrevivencia inmediata. En este sentido, es importante mencionar que el componente motivacional, derivado de la restricción parcial de líquidos (40% del consumo total diario) implementada durante la EIn modificada, no fue suficiente para evitar la EIn, o los efectos de disminución de la respuesta apetitiva hacia el contexto (e.g. latencia de inicio de consumo) o de consumo del sabor dulce.

Globalmente, los datos de EIn modificada responden a la primera pregunta señalando que, en una tarea compleja de “*conflicto emocional*” por la competencia de estímulos con valencia opuesta, la asociación aversiva al contexto prevalecerá sobre la apetitiva, asimismo provocará una disminución de la respuesta hacia estímulos apetitivos que son novedosos y relevantes, pero no aquellos que son familiares y relativamente neutros. De tal forma, se puede especular que el aprendizaje de evitación a un contexto aversivo debilita el componente novedoso, positivo y hedónico de un estímulo (p.e. sabor dulce), a pesar de la motivación inherente mediada por sed.

Continuando con la segunda parte del objetivo, planteado a través de evidencias previas de que la CI y particularmente los NMDAR en esta corteza, son necesarios para la formación de memorias aversivas (Berman et al., 2000; Ferreira et al., 2002); Nosotros obtuvimos resultados que demuestran una participación diferente de los NMDAR en la CI durante la EIn tradicional y la EIn modificada para la competencia de estímulos con valencias opuestas (**Apéndice 3; figura 27**). Particularmente, durante la adquisición de la EIn modificada la activación de estos receptores no alteró la respuesta apetitiva hacia el agua o el azúcar (Grupos Salina; **Figura 17-A**) o el consumo de estos (Grupos Salina; **Figura 18-A y Tabla 6**), indicando que la activación de los NMDAR en la CI no altera procesos motores o motivacionales. Sin embargo, los datos mostraron diferencias

significativas cuando no hubo estímulo aversivo durante la “adquisición”, ya que, si bien la latencia de entrada al LO de la cámara fue el mismo en presencia de agua o azúcar, la latencia para consumir azúcar aumentó, así como el volumen de azúcar consumido fue significativamente menor en ratas inyectadas con el agonista de los NMDAR. De manera sorprendente, este efecto no se observó en presencia de agua, ya que la latencia de inicio y su consumo no se vieron alterados por el agonista NMDA. En otras palabras, la activación de los NMDAR disminuyó la apetencia y el consumo de azúcar, pero no de agua, sólo cuando se aprende el contexto apetitivo.

Por otra parte, los resultados de la evocación de la EIn modificada muestran que la activación de los NMDAR en la CI (durante la adquisición) disminuyó significativamente la formación de la memoria aversiva (e.g. menor evitación) (**Figura 16**). Esta disminución en el aprendizaje de la EIn modificada se observó tanto en presencia de agua como de azúcar, indicando que la activación de los NMDAR en la CI bloquea la adquisición de la EIn cuando hay competencia de estímulos. Si bien estos resultados podrían interpretarse como un efecto amnésico del NMDA, resultados obtenidos en un experimento adicional (**Apéndice 3; Figura 25**), mostraron que este no es el caso. La inyección de NMDA en la CI antes de la adquisición, no afectó la formación de la memoria de la EIn “tradicional” (**Apéndice 3; Figura 25**), indicando que la dosis de NMDA no produce un bloqueo o lesión temporal que impida la EIn. Asimismo, este experimento muestra que la dosis usada del agonista NMDA no interfiere con procesos de nocicepción, que han sido relacionados con la función de la CI (Nieuwenhuys, 2012), como tampoco produce efecto de analgesia durante la adquisición de la tarea de EIn.

Con este experimento adicional, se corroboró que la activación de los NMDAR no tiene efecto alguno durante la EIn tradicional. Sin embargo, la activación de estos

receptores durante la EIn modificada, donde compiten estímulos de valencia opuestas, produce una alteración en la asociación aversiva y en consecuencia mejora la respuesta apetitiva “*global*” al contexto. En este orden de ideas, podemos argumentar que la activación de los NMDAR favorece la formación de la memoria apetitiva sobre la aversiva durante la EIn modificada. Por otra parte, esta misma activación en un contexto con estímulos únicamente apetitivos, reduce la formación de la memoria de un estímulo apetitivo sólo cuando es novedoso y relevante (e.g. azúcar, pero no agua).

En general, estos resultados indican que los NMDAR en la CI tienen un efecto diferencial durante la formación de la memoria, dependiendo del **tipo de valencia de los estímulos que compiten y el contexto** en que se aprenden. Esto concuerda con evidencia previa de que la CI procesa información tanto aversiva como apetitiva (Peng et al., 2015), lo que permitiría integrar de manera simultánea los estímulos de valencia opuesta durante tareas complejas con “*conflicto emocional*” (Maffei et al., 2012).

Nuestros resultados sugieren que el estímulo aversivo, durante la adquisición de la EIn modificada, podría formar una representación aversiva robusta mediada por la actividad balanceada de los NMDAR durante la formación de la memoria, de tal forma que un incremento en la actividad de estos receptores ocasiona una distorsión en dicha representación, provocando pérdidas en la formación de la memoria del contexto aversivo y alteraciones simultáneas en la memoria del estímulo opuesto que compite durante la asociación; sólo si el estímulo positivo, que compite con el aversivo, es novedoso y relevante entonces se aumentará la asociación por este si se hay una “*sobre-activación*” de estos receptores. Asimismo, cuando **no** existe competencia de estímulos opuestos durante la asociación, el balance de la activación de los NMDAR es fundamental para lograr la formación de la memoria apetitiva sólo cuando el aprendizaje incluye estímulos novedosos

y relevantes (e.g. hedónicos). En términos generales, basándonos en los presentes resultados, se puede sugerir que al aprender de manera simultánea estímulo con valencias opuestas en un nuevo contexto, el estímulo aversivo será el que predominará en la asociación, observándose posteriormente una mayor evitación por el contexto, así como una menor respuesta hacia el estímulo apetitivo *per se*, esta disminución será evidente sólo si el estímulo apetitivo que compite durante la asociación es novedoso y altamente relevante. El balance de la actividad glutamatérgica, mediada por los NMDAR, es clave durante este aprendizaje de “conflicto emocional”, ya que la sobre-activación por NMDA facilita la formación de la memoria apetitiva sobre la aversiva, cambiando el balance durante la asociación. Por otra parte, esta misma sobre-activación de los NMDAR durante el aprendizaje complejo con estímulos exclusivamente apetitivos, no altera la formación de la memoria por el contexto “*global*” y sólo afecta la respuesta apetitiva por el estímulo novedoso y relevante. Estos efectos son contrastantes, ya que la misma sobre-activación de los receptores NMDA, disminuye la formación de la memoria aversiva durante una tarea de “*conflicto emocional*” y, por el contrario, disminuye la formación de la memoria apetitiva durante un aprendizaje de estímulos novedosos y relevantes (**Figura 23**).

Evidencias previas sugieren que la CI reciben proyecciones glutamatérgicas del BLA (Gehrlach, Gaitanos, Klein, et al., 2020). También se conoce que durante una prueba de EIn tradicional hay participación de glucocorticoides (corticosterona), sugiriendo que el choque eléctrico incrementa el estrés en las ratas (Fornari, Wichmann, Atucha, et al., 2012). De igual manera, se ha demostrado que el consumo de sacarosa decreta los niveles de glucocorticoide en particular en el BLA (Ulrich-Lai, Christiansen, Ostrander, et al., 2010). Una vez que analizado el efecto de la activación de los NMDAR en la CI durante una tarea de competencias de estímulos con valencias opuestas; la siguiente pregunta de este trabajo

fue buscar como los NMDAR participan durante la actualización de la memoria, es decir, cuando se asocia algo nuevo a un contexto ya aprendido; este fenómeno puede estudiarse a través de la IL de la EIn. Basándonos en los resultados antes descritos con la EIn modificada, planteamos que durante la actualización de la memoria de un contexto apetitivo en presencia de un estímulo aversivo (e.g. choque eléctrico), la activación de los NMDAR en la CI facilitaría la actualización hacia una memoria aversiva, es decir disminuiría la IL de la EIn modificada. Debido que, la intensidad de IL depende del número y tipo de preexposiciones al estímulo que será asociado, fue necesario determinar si era suficiente una sola preexposición al contexto del a EIn modificada con azúcar para observar la inhibición, es decir la disminución en la nueva asociación aversiva cuando se presenta el choque eléctrico, y por lo tanto tener un parámetro del “*nivel*” la actualización de la memoria apetitiva a una aversiva. Por lo tanto, utilizando el primer experimento de la estandarización (**Apéndice 1 Figura 25**). En grupos independientes de ratas se evaluó los efectos de 1 a 3 preexposiciones, una por día, a la cámara de EIn modificada con azúcar (LC y LO). Los datos indicaron que una sola exposición a ambos lados de la cámara de EIn es suficiente para formar una memoria apetitiva, que puede cuantificarse por un decremento en la latencia de entrada al LO, así como incrementos en la latencia de inicio del consumo y del consumo de azúcar (**Apéndice 1, Figura 25**).

Una vez establecido lo anterior, los resultados obtenidos a través del procedimiento de IL de la EIn modificada demostraron que, durante la preexposición a la cámara, la latencia de entrada al LO, así como la latencia para iniciar el consumo, fue similar para azúcar o agua (grupos IL-Salina, **Tabla 7, Figura 21-A**); sin embargo, el volumen consumido de azúcar fue mayor en comparación con el observado para agua (Grupos SALINA, **Figura 22-A**). Este dato concuerda con la diversidad de evidencia que demuestra

el alto componente apetitivo y relevante del azúcar en comparación de otros sabores o sustancias “*neutras*”, como podría ser el agua (Fonseca, de Lafuente, Simon, & Gutierrez, 2018; Spector & Smith, 1984). Una vez establecida las latencias y consumos al contexto novedoso de la cámara, los datos obtenidos el día siguiente, durante la adquisición de la EIn modificada, mostraron que la preexposición a la cámara, tanto modificada con agua o azúcar, produjo un decremento significativo en el tiempo para entrar al LO, lo que puede ser considerado como una memoria apetitiva al contexto global de la cámara. Sin embargo, se observó un decremento no significativo en el inicio de consumo de las ratas con azúcar, y un aumento significativo en el consumo de azúcar en comparación con el observado en las ratas expuestas a agua en el LO, indicando que el contexto modificado con azúcar produce una mayor respuesta apetitiva global (Grupos SALINA, **Figura 21-A y figura 22-A**). Más aun, durante la adquisición, cuando se compara el consumo entre ratas que reciben o no el choque eléctrico, sólo hay una disminución significativa en el consumo de azúcar en aquellas que recibieron el choque, sin observar cambios en el consumo de agua. Este dato indica, nuevamente, que un estímulo aversivo (e.g. choque eléctrico) afecta de manera particular la expresión de la memoria apetitiva sólo para estímulos novedosos y relevantes (Grupos SALINA, **Figura 21-B y figura 22-B**), que se correlaciona con el efecto altamente aversivo producido por el choque eléctrico (Atsak et al., 2016).

Los efectos de la IL de la EIn modificada, fueron revelados durante la sesión de evocación de la memoria; al analizar el RDA observamos que la preexposición ocasionó una disminución significativa de la EIn modificada con agua o azúcar; en otras palabras, durante la prueba de evocación, las ratas entraron más rápido al LO, pero particularmente aquellas que fueron preexpuestas al LO modificado con azúcar (**Figura 20**). Este dato indica que la preexposición a un contexto altamente apetitivo y novedoso induce una mayor

IL de la EIn, también sugiere que la actualización de una la memoria apetitiva a una aversiva se ve disminuida cuando los estímulos aprendidos inicialmente son novedosos, relevantes y/o con carga hedónica, como es el caso del azúcar. Adicionalmente, el cambio significativo observado en la latencia de inicio de consumo de azúcar, en comparación de agua, demuestra el impacto de la preexposición del sabor dulce sobre la IL de la EIn modificada (**Figura 21-C**). En conjunto, estos datos indican que una vez formada la memoria en un contexto altamente apetitivo (preexposición LO + azúcar), la actualización de la memoria a través de una nueva asociación con un estímulo aversivo es poco probable. Los resultados obtenidos durante la IL-EIn modificada, a su vez mostraron el poco efecto de la activación de los NMDAR en la CI sobre la actualización de la memoria. Durante la adquisición, el decremento en la latencia de entrada al LO no se vio afectado por la activación de los NMDAR, lo que indica que hay un incremento en la memoria apetitiva global del contexto, producida por el azúcar. Sin embargo, provocó una disminución en la latencia de inicio de consumo de agua (**Figura 21-B**) sin cambiar el volumen consumido de agua o de azúcar. Por otra parte, el agonista NMDA no afectó la latencia de consumo de agua o azúcar cuando no hubo choque eléctrico, indicando que estos receptores podrían modular la respuesta apetitiva hacia un estímulo neutro solo durante una tarea de conflicto emocional. De manera similar, durante la evocación de las ratas inyectadas con NMDA se observó una disminución significativa de la latencia de consumo de agua, pero no de azúcar, únicamente en las ratas sometidas a la adquisición de la EIn (choque eléctrico) (**Figura 21-C**). Este dato indica una interacción significativa entre la inyección de NMDA y la aplicación del choque eléctrico. En conjunto estos datos muestran que durante la actualización de una memoria de un contexto global apetitivo a uno asociado aversivamente, la participación de los NMDAR no es indispensable. Estos resultados

muestran que en la tarea de IL de EIn modificada, la pre exposición al contexto apetitivo crea una representación de memoria robusta que no se afecta por una nueva asociación con un estímulo aversivo; además, muestran que el balance de activación de los NMDAR en la CI no interviene de manera significativa en la respuesta apetitiva a un estímulo novedoso y relevante (**Figura 20 y figura 21-C**); sin embargo su balance puede alterar la respuesta hacia estímulos neutros y familiares durante una tarea de conflicto de valencias. Por otra parte, el decremento en el consumo durante la evocación podría deberse al cambio en el acceso o **no** a ambos compartimentos (LC y LO) durante las diferentes sesiones, ya que podría ser una manifestación de las diferencias en la conducta “*natural*” de exploración de los animales. Futuros estudios son necesarios para interpretar el cambio producido por la posibilidad de explorar diferencialmente los compartimentos de la cámara de EIn (**figura 22-A y 22-B**).

Trabajos previos reportan que la CI recibe proyección de áreas de atención y estados homeostáticos negativos (sed / hambre) (Damasio & Carvalho, 2013; Livneh et al., 2017). Por lo tanto, la CI guía la conducta anticipatoria de los alimentos necesaria para impulsar comportamientos orientados a los alimentos (Frank et al., 2013). Esta evidencia sugiere que los NMDAR en el CI podrían estar implicados en procesos motivacionales implicados en la sed / hambre. Debido a que las ratas presentaron una restricción de líquido del 40%, la activación de los NMDAR en la CI más el estímulo aversivo, pudieron haber cambiado la carga de la valencia, de neutra del agua, por una valencia apetitiva debido al desbalance homeostático, aumentando la respuesta hacia la ingesta.

9. CONCLUSIONES

Se conoce que la participación de los receptores NMDA en el SNC es necesaria para la formación de la memoria aversiva al contexto y al sabor (Riedel, Platt, & Micheau, 2003). Globalmente encontramos tres efectos diferenciales de la activación de los NMDAR en la CI. Primero, la activación de los NMDAR en la CI durante una tarea de aprendizaje aversivo (CAS) mejora la memoria aversiva. Los resultados de esta tesis aportan conocimiento importante que demuestra la participación de los NMDAR en la CI, destacando su función específica entre EI y EC durante el IIE del CAS. Además, estos resultados sugieren que existe una coincidencia precisa en los eventos neuroquímicos en la CI que se correlaciona con la asociación de diferentes estímulos y que la actividad de glutamato se ajusta con precisión la presentación del EC y no con el EI durante la adquisición del CAS.

Se conoce que la CI recibe información apetitiva y aversiva (Peng et al., 2015), así como información de estados homeostáticos provenientes del hipotálamo y con sistemas de atención y conductas motivadas (Damasio & Carvalho, 2013; Gehrlach et al., 2020; Gogolla, 2017; Livneh et al., 2017); lo que sugiere fuertemente que la CI procesa e integra información apetitiva y aversiva simultáneamente (Maffei et al., 2012). En la presente tesis se encontró que un estímulo aversivo durante una tarea de “*conflicto emocional*”, impacta de manera preponderante la respuesta apetitiva hacia un estímulo novedoso y altamente hedónico como es el azúcar. Mostrando que no es suficiente la presencia de un estímulo apetitivo durante la EI modificada para disminuir la formación de la memoria aversiva. La presencia de un estímulo aversivo (e.g. un choque eléctrico) decreta de manera significativa la formación de la memoria apetitiva hacia el contexto modificado con un estímulo hedónico como el azúcar, pero no altera de manera significativa la formación de la

memoria al contexto modificado con un estímulo neutral o no tan relevante como el agua. Sin embargo, la alteración del equilibrio en la actividad de los NMDAR favorece la formación de la memoria apetitiva sobre la aversiva durante dichas condiciones. Por otra parte, esta misma activación de los NMDAR, en un contexto asociado a estímulos únicamente apetitivos, reduce la formación de la memoria de un estímulo apetitivo sólo cuando este es novedoso y relevante (e.v. azúcar) pero no neutral como el agua. Así, la activación de los NMDAR en una tarea con componentes únicamente apetitivos disminuye la respuesta apetitiva hacia el azúcar, incrementando el tiempo de inicio de consumo, y decrementando el volumen de consumo. Por otra parte, la activación de los NMDAR favorece la formación de la memoria apetitiva sobre la aversiva durante la EIn modificada. Estos efectos son contrastantes, ya que la misma sobre-activación de los receptores NMDA en la CI, disminuye la formación de la memoria aversiva durante una tarea de “*conflicto emocional*” y, por el contrario, disminuye la formación de la memoria apetitiva durante un aprendizaje de estímulos novedosos y relevantes. En general, estos resultados indican que los NMDAR en la CI tienen un efecto diferencial durante la formación de la memoria, que depende del tipo de valencia de los estímulos que compiten y el contexto en que se aprenden (**Figura 23**).

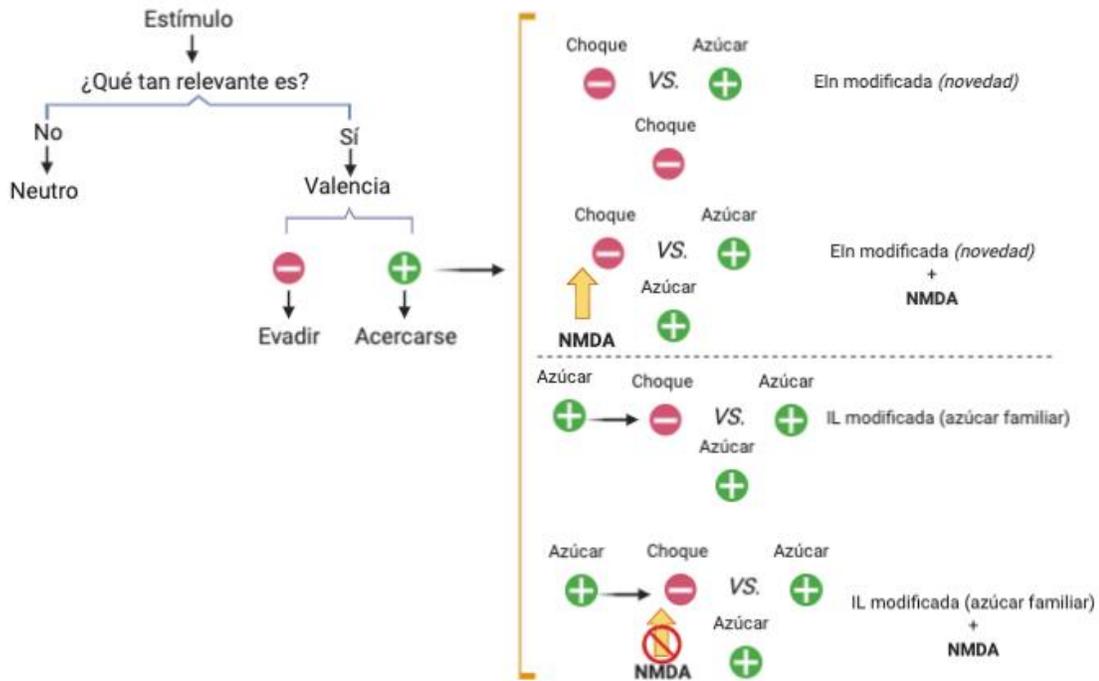


Figura 23. Efecto durante la competencia de estímulos durante la EIn modificada, así como la competencia de estímulos con inyección de NMDA en la CI. Efecto durante la actualización de la memoria IL-EIn modificada, así como la actualización de memoria con inyección de NMDA en la CI.

Por último, en concordancia con la evidencia de que la actividad de los NMDAR es fundamental para la formación de la memoria, pero no durante su actualización (Parkes et al., 2014; Poo et al., 2016); los presentes resultados, muestran la poca participación de los NMDAR en la CI durante la actualización de la memoria, es decir durante la IL-EIn modificada. Si bien, en un experimento previos demostramos que el desbalance en los NMDAR mejora la IL-EIn tradicional (**Apéndice 4, Figura 28**), durante la IL-EIn modificada no se vieron efectos debidos a la sobre estimulación de los NMDAR. Futuros estudios son necesarios para evaluar a mayor profundidad la participación de estos receptores durante la actualización de la memoria usando otros modelos y diseños experimentales.

10. PERSPECTIVAS

- Explorar los cambios a nivel molecular tras la activación de los NMDAR que mejora la memoria aversiva del sabor.
- Evaluar el efecto del antagonismo de los NMDAR en la CI durante la tarea de competencia de estímulos implementada en esta tesis.
- Evaluar las diferencias en el proceso de extinción de la memoria aversiva entre la EIn y de IL-EIn modificadas con azúcar.
- La edad y sexo de las ratas se utilizaron con base en trabajos que se han realizado en el laboratorio y con respecto a la literatura previa. Sería valioso conocer si existen diferencias entre hembras y macho, así como, entre adolescentes, adultas jóvenes y adultas, reportes indican que tanto la edad como el sexo son diferentes en aprendizajes relacionados con el sabor.

11. BIBLIOGRAFÍA

- Abe, T., Sugihara, H., Nawa, H., Shigemoto, R., Mizuno, N., & Nakanishi, S. (1992). Molecular characterization of a novel metabotropic glutamate receptor mGluR5 coupled to inositol phosphate/Ca²⁺ signal transduction. *Journal of Biological Chemistry*, 267(19), 13361-13368.
- Ackil, J. E., & Mellgren, R. L. (1968). Stimulus pre-exposure and instrumental learning. *Psychonomic science*, 11(9), 339-339.
- Afif, A., Bouvier, R., Buenerd, A., Trouillas, J., & Mertens, P. (2007). Development of the human fetal insular cortex: study of the gyration from 13 to 28 gestational weeks. *Brain Structure and Function*, 212(3-4), 335-346.
- Albert, M., & Ayres, J. J. (1989). With number of preexposures constant latent inhibition increases with preexposure CS duration or total CS exposure. *Learning and Motivation*, 20(3), 278-294.
- Aleksandrov, V., & Fedorova, K. (2003). Structure of the insular region of the rat neocortex. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, 33(3), 199.
- Anderson, D. J., & Adolphs, R. (2014). A framework for studying emotions across species. *Cell*, 157(1), 187-200.
- Aniksztejn, L., Otani, S., & Ben-Ari, Y. (1992). Quisqualate metabotropic receptors modulate NMDA currents and facilitate induction of long-term potentiation through protein kinase C. *European Journal of Neuroscience*, 4(6), 500-505.
- Ardila, A. (1999). The role of insula in language: an unsettled question. *Aphasiology*, 13(1), 79-87.
- Asok, A., Leroy, F., Rayman, J. B., & Kandel, E. R. (2019). Molecular mechanisms of the memory trace. *Trends in neurosciences*, 42(1), 14-22.
- Atsak, P., Guenzel, F. M., Kantar-Gok, D., Zalachoras, I., Yargicoglu, P., Meijer, O. C., . . . Roozendaal, B. (2016). Glucocorticoids mediate stress-induced impairment of retrieval of stimulus-response memory. *Psychoneuroendocrinology*, 67, 207-215.
- Bach-y-Rita, P. (1994). The brain beyond the synapse: a review. *Neuroreport*, 5(13), 1553-1557.
- Baruch, I., Hemsley, D. R., & Gray, J. A. (1988a). Differential performance of acute and chronic schizophrenics in a latent inhibition task. *Journal of Nervous and Mental Disease*.
- Baruch, I., Hemsley, D. R., & Gray, J. A. (1988b). Latent inhibition and “psychotic proneness” in normal subjects. *Personality and Individual Differences*, 9(4), 777-783.
- Bast, Zhang, & Feldon. (2001). The ventral hippocampus and fear conditioning in rats. *Experimental brain research*, 139(1), 39-52.
- Baxter, M. G., Bucci, D. J., Holland, P. C., & Gallagher, M. (1999). Impairments in conditioned stimulus processing and conditioned responding after combined selective removal of hippocampal and neocortical cholinergic input. *Behavioral neuroscience*, 113(3), 486.
- Baxter, M. G., Gallagher, M., & Holland, P. C. (1999). Blocking can occur without losses in attention in rats with selective removal of hippocampal cholinergic input. *Behavioral neuroscience*, 113(5), 881.
- Baxter, M. G., Holland, P. C., & Gallagher, M. (1997). Disruption of decrements in conditioned stimulus processing by selective removal of hippocampal cholinergic input. *Journal of Neuroscience*, 17(13), 5230-5236.

- Bazzari, A. H., & Parri, H. R. (2019). Neuromodulators and Long-Term Synaptic Plasticity in Learning and Memory: A Steered-Glutamatergic Perspective. *Brain sciences*, 9(11), 300.
- Bechara, A., Damasio, H., & Damasio, A. R. (2000). Emotion, decision making and the orbitofrontal cortex. *Cerebral cortex*, 10(3), 295-307.
- Bechara, A., Tranel, D., & Damasio, H. (2000). Characterization of the decision-making deficit of patients with ventromedial prefrontal cortex lesions. *Brain*, 123(11), 2189-2202.
- Berman, Hazvi, Neduva, & Dudai. (2000). The role of identified neurotransmitter systems in the response of insular cortex to unfamiliar taste: activation of ERK1–2 and formation of a memory trace. *Journal of Neuroscience*, 20(18), 7017-7023.
- Bermudez-Rattoni. (2014). The forgotten insular cortex: its role on recognition memory formation. *Neurobiology of learning and memory*, 109, 207-216.
- Bermúdez-Rattoni, Introini-Collison, Coleman-Mesches, & McGaugh. (1997). Insular cortex and amygdala lesions induced after aversive training impair retention: effects of degree of training. *Neurobiology of learning and memory*, 67(1), 57-63.
- Bermudez-Rattoni, Introini-Collison, & McGaugh. (1991). Reversible inactivation of the insular cortex by tetrodotoxin produces retrograde and anterograde amnesia for inhibitory avoidance and spatial learning. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 88(12), 5379-5382.
- Bermudez-Rattoni, & McGaugh. (1991). Insular cortex and amygdala lesions differentially affect acquisition on inhibitory avoidance and conditioned taste aversion. *Brain research*, 549(1), 165-170.
- Bermúdez-Rattoni, & McGaugh. (2017). Memory reconsolidation and memory updating: Two sides of the same coin? *Neurobiology of learning and memory*, 142(Pt A), 1.
- Bermudez-Rattoni, Okuda, Roozendaal, & McGaugh. (2005). Insular cortex is involved in consolidation of object recognition memory. *Learning & Memory*, 12(5), 447-449.
- Bermúdez-Rattoni, & Prado-Alcalá. (2001). *Memoria: dónde reside y cómo se forma*: Trillas.
- Bermúdez-Rattoni, Ramírez-Lugo, Gutiérrez, & Miranda. (2004). Molecular signals into the insular cortex and amygdala during aversive gustatory memory formation. *Cellular and molecular neurobiology*, 24(1), 25-36.
- Berridge, K. C. (1999). Pleasure, pain, desire, and dread: Hidden core processes of emotion.
- Beyeler, A., Chang, C.-J., Silvestre, M., Lévêque, C., Namburi, P., Wildes, C. P., & Tye, K. M. (2018). Organization of valence-encoding and projection-defined neurons in the basolateral amygdala. *Cell reports*, 22(4), 905-918.
- Boggiano, Dorsey, Thomas, & Murdaugh. (2009). The Pavlovian power of palatable food: lessons for weight-loss adherence from a new rodent model of cue-induced overeating. *International Journal of Obesity*, 33(6), 693-701.
- Borges, J. L. (2004). Funes, el memorioso. *Petrotecnica*, 1, 95.
- Bouton, M. E. (1993). Context, time, and memory retrieval in the interference paradigms of Pavlovian learning. *Psychological bulletin*, 114(1), 80.
- Bradley, S. R., Levey, A. I., Hersch, S. M., & Conn, P. J. (1996). Immunocytochemical localization of group III metabotropic glutamate receptors in the hippocampus with subtype-specific antibodies. *Journal of Neuroscience*, 16(6), 2044-2056.

- Broersen, L. M., Heinsbroek, R. P., de Bruin, J. P., & Olivier, B. (1996). Effects of local application of dopaminergic drugs into the medial prefrontal cortex of rats on latent inhibition. *Biological psychiatry*, *40*(11), 1083-1090.
- Bruno, V., Copani, A., Knöpfel, T., Kuhn, R., Casabona, G., Dell'Albani, P., . . . Nicoletti, F. (1995). Activation of metabotropic glutamate receptors coupled to inositol phospholipid hydrolysis amplifies NMDA-induced neuronal degeneration in cultured cortical cells. *Neuropharmacology*, *34*(8), 1089-1098.
- Bures, Bermúdez-Rattoni, & Yamamoto. (1998). *Conditioned taste aversion: Memory of a special kind*: Oxford University Press.
- Burgos-Robles, A., Kimchi, E., Izadmehr, E., Porzenheim, M., Ramos-Guasp, W., Nieh, E., . . . Presbrey, K. (2017). Anahtar M., Beyeler A., Tye KM. *Amygdala inputs to prefrontal cortex guide behavior amid conflicting cues of reward and punishment. Nat. Neurosci*, *20*, 824-835.
- Cameron, O. G., Huang, G. C., Nichols, T., Koeppe, R. A., Minoshima, S., Rose, D., & Frey, K. A. (2007). Reduced γ -Aminobutyric AcidA–Benzodiazepine Binding Sites in Insular Cortex of Individuals With Panic Disorder. *Archives of general psychiatry*, *64*(7), 793-800.
- Craig, A. D., & Craig, A. (2009). How do you feel--now? The anterior insula and human awareness. *Nature reviews neuroscience*, *10*(1).
- Cull-Candy, Brickley, & Farrant. (2001). NMDA receptor subunits: diversity, development and disease. *Current opinion in neurobiology*, *11*(3), 327-335.
- Curtis, D., & Watkins, J. (1960). The excitation and depression of spinal neurones by structurally related amino acids. *Journal of neurochemistry*, *6*(2), 117-141.
- Chen, L., & Huang, L.-Y. M. (1992). Protein kinase C reduces Mg²⁺ block of NMDA-receptor channels as a mechanism of modulation. *Nature*, *356*(6369), 521.
- Chinnakkaruppan, A., Wintzer, M. E., McHugh, T. J., & Rosenblum, K. (2014). Differential contribution of hippocampal subfields to components of associative taste learning. *Journal of Neuroscience*, *34*(33), 11007-11015.
- Damasio. (2000). A second chance for emotion. *Cognitive neuroscience of emotion*, 12-23.
- Damasio, & Carvalho. (2013). The nature of feelings: evolutionary and neurobiological origins. *Nature reviews neuroscience*, *14*(2), 143.
- Damasio, Grabowsk, Bechara, Damasio, Ponto, Parvizi, & Hichwa. (2000). Subcortical and cortical brain activity during the feeling of self-generated emotions. *Nature neuroscience*, *3*(10), 1049.
- Darwin, C. (1872). The expression of emotions in animals and man. *London: Murray*.
- De la Casa, L., Diaz, E., & Lubow, R. (2003). Effects of post-treatment retention interval and context on neophobia and conditioned taste aversion. *Behavioural processes*, *63*(3), 159-170.
- De la Casa, L., Mena, A., Orgaz, A., & Fernandez, A. (2013). Disentangling the effects of context change and context familiarity on Latent Inhibition with a Conditioned Taste Aversion procedure. *Learning and Motivation*, *44*(2), 127-136.
- Dingledine, R., Borges, K., Bowie, D., & Traynelis, S. F. (1999). The glutamate receptor ion channels. *Pharmacological reviews*, *51*(1), 7-62.
- Domjan, M. (1976). Determinants of the enhancement of flavored-water intake by prior exposure. *J Exp Psychol Anim Behav Process*, *2*(1), 17-27.

- Duan, S., Farrell, K., Guenza, J., Stein, B., & Swanson, R. (1998). *Glutamate induces a rapid increase in glutamate uptake activity in mouse astrocyte cultures*. Paper presented at the Soc Neurosci Abstr.
- Dudai. (1989). *The neurobiology of memory: concepts, findings, trends*: Oxford University Press.
- Dudai. (2004). *Memory from A to Z: Keywords, concepts, and beyond*: Oxford University Press, USA.
- Dudai, Nader, & Born. (2015). The consolidation and transformation of memory. *Neuron*, 88(1), 20-32.
- Escobar, Arcediano, & Miller. (2002). Latent inhibition and contextual associations. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 28(2), 123.
- Escobar, Chao, & Bermúdez-Rattoni. (1998). In vivo long-term potentiation in the insular cortex: NMDA receptor dependence. *Brain research*, 779(1-2), 314-319.
- Escobar, Fernandez, Guevara-Aguilar, & Bermúdez-Rattoni. (1989). Fetal brain grafts induce recovery of learning deficits and connectivity in rats with gustatory neocortex lesion. *Brain research*, 478(2), 368-374.
- Ferreira, Gutierrez, Cruz, D. L., & Bermúdez-Rattoni. (2002). Differential involvement of cortical muscarinic and NMDA receptors in short-and long-term taste aversion memory. *European Journal of Neuroscience*, 16(6), 1139-1145.
- Ferreira, Miranda, Cruz, D. l., Rodríguez-Ortiz, & Bermúdez-Rattoni. (2005). Basolateral amygdala glutamatergic activation enhances taste aversion through NMDA receptor activation in the insular cortex. *European Journal of Neuroscience*, 22(10), 2596-2604.
- Ferreira, G., Gutierrez, R., De La Cruz, V., & Bermudez-Rattoni, F. (2002). Differential involvement of cortical muscarinic and NMDA receptors in short- and long-term taste aversion memory. *Eur J Neurosci*, 16(6), 1139-1145.
- Flynn, F. G. (1999). Anatomy of the insula functional and clinical correlates. *Aphasiology*, 13(1), 55-78.
- Fonnum, F. (1984). Glutamate: a neurotransmitter in mammalian brain. *Journal of neurochemistry*, 42(1), 1-11.
- Fonseca, E., de Lafuente, V., Simon, S. A., & Gutierrez, R. (2018). Sucrose Intensity coding and decision-making in taste cortices. *BioRxiv*, 391342.
- Frank, S., Kullmann, S., & Veit, R. (2013). Food related processes in the insular cortex. *Frontiers in human neuroscience*, 7, 499.
- Gallo, Roldan, & Bureš. (1992). Differential involvement of gustatory insular cortex and amygdala in the acquisition and retrieval of conditioned taste aversion in rats. *Behavioural brain research*, 52(1), 91-97.
- Garcia, Hankins, & Rusiniak. (1974). Behavioral regulation of the milieu interne in man and rat. *Science*, 185(4154), 824-831.
- Garcia, & Koelling. (1966). Relation of cue to consequence in avoidance learning. *Psychonomic science*, 4(1), 123-124.
- Garcia, Lasiter, Bermudez-Rattoni, & Deems. (1985). A General Theory of Aversion Learning a. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 443(1), 8-21.
- Gatley, S. J., Ding, Y.-S., Brady, D., Gifford, A. N., Dewey, S. L., Carroll, F. I., . . . Volkow, N. D. (1998). In vitro and ex vivo autoradiographic studies of nicotinic acetylcholine receptors using [18F] fluoronorchloroepibatidine in rodent and human brain. *Nuclear medicine and biology*, 25(5), 449-454.

- Gehrlach, D. A., Gaitanos, T. N., Klein, A. S., Weiland, C., Hennrich, A. A., Conzelmann, K.-K., & Gogolla, N. (2020). A whole-brain connectivity map of mouse insular cortex. *BioRxiv*.
- Gill, R. (1994). The pharmacology of alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionate (AMPA)/kainate antagonists and their role in cerebral ischaemia. *Cerebrovascular and brain metabolism reviews*, 6(3), 225-256.
- Gogolla, N. (2017). The insular cortex. *Current Biology*, 27(12), R580-R586.
- Grimwood, S., Foster, A. C., & Kemp, J. A. (1991). The pharmacological specificity of N-methyl-d-aspartate receptors in rat cerebral cortex: correspondence between radioligand binding and electrophysiological measurements. *British journal of pharmacology*, 103(2), 1385-1392.
- Gutierrez, Hernandez-Echeagaray, Ramirez-Amaya, & Bermudez-Rattoni. (1999). Blockade of N-methyl-D-aspartate receptors in the insular cortex disrupts taste aversion and spatial memory formation. *Neuroscience*, 89(3), 751-758.
- Guzmán-Ramos, Osorio-Gómez, Moreno-Castilla, & Bermúdez-Rattoni. (2010). Off-line concomitant release of dopamine and glutamate involvement in taste memory consolidation. *Journal of neurochemistry*, 114(1), 226-236.
- Halgren. (1974). Latent inhibition in rats: Associative or nonassociative? *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 86(1), 74.
- Hankins, Garcia, & Rusiniak. (1974). Cortical lesions: Flavor illness and noise-shock conditioning. *Behavioral biology*, 10(2), 173-181.
- Hebb, D. O., & Hebb, D. (1949). *The organization of behavior* (Vol. 65): Wiley New York.
- Heuss, C., Scanziani, M., Gähwiler, B. H., & Gerber, U. (1999). G-protein-independent signaling mediated by metabotropic glutamate receptors. *Nature neuroscience*, 2(12), 1070.
- Hoffmann, J., & Charles, A. (2018). Glutamate and its receptors as therapeutic targets for migraine. *Neurotherapeutics*, 15(2), 361-370.
- Honey, R. C., Pye, C., Lightbown, Y., Rey, V., & Hall, G. (1992). Contextual factors in neophobia and its habituation: The role of absolute and relative novelty. *The Quarterly Journal of Experimental Psychology*, 45(4), 327-347.
- Huerta, C. I., Sarkar, P. R., Duong, T. Q., Laird, A. R., & Fox, P. T. (2014). Neural bases of food perception: Coordinate-based meta-analyses of neuroimaging studies in multiple modalities. *Obesity*, 22(6), 1439-1446.
- Hurd, Y. L., Suzuki, M., & Sedvall, G. C. (2001). D1 and D2 dopamine receptor mRNA expression in whole hemisphere sections of the human brain. *Journal of chemical neuroanatomy*, 22(1-2), 127-137.
- Izquierdo, I., Bevilaqua, L. R., Rossato, J. I., Bonini, J. S., Da Silva, W. C., Medina, J. H., & Cammarota, M. (2006). The connection between the hippocampal and the striatal memory systems of the brain: a review of recent findings. *Neurotoxicity Research*, 10(2), 113-121.
- James. (1884). What Is an Emotion? Mind IX.
- James. (1894). Discussion: The physical basis of emotion. *Psychological review*, 1(5), 516.
- Jessell, T. M., Kandel, E. R., & Schwartz, J. H. (2000). *Principles of neural science*.
- Jiménez, B., & Tapia, R. (2004). Biochemical modulation of NMDA receptors: role in conditioned taste aversion. *Neurochemical research*, 29(1), 161-168.
- Kandel, Dudai, & Mayford. (2014). The molecular and systems biology of memory. *Cell*, 157(1), 163-186.

- Kandel, & Squire. (2000). Neuroscience: Breaking down scientific barriers to the study of brain and mind. *Science*, 290(5494), 1113-1120.
- Kentros, C., Hargreaves, E., Hawkins, R. D., Kandel, E. R., Shapiro, M., & Muller, R. V. (1998). Abolition of long-term stability of new hippocampal place cell maps by NMDA receptor blockade. *Science*, 280(5372), 2121-2126.
- Kimble, G. A., Hilgard, & Marquis. (1969). *Condicionamiento y aprendizaje [de] Hilgard y Marquis*: Trillas.
- Komano-Inoue, S., Manabe, H., Ota, M., Kusumoto-Yoshida, I., Yokoyama, T. K., Mori, K., & Yamaguchi, M. (2014). Top-down inputs from the olfactory cortex in the postprandial period promote elimination of granule cells in the olfactory bulb. *European Journal of Neuroscience*, 40(5), 2724-2733.
- Krane, & Wagner. (1975). Taste aversion learning with a delayed shock US: Implications for the "generality of the laws of learning." *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 88(2), 882.
- Kullmann, S., Frank, S., Heni, M., Ketterer, C., Veit, R., Häring, H.-U., . . . Preissl, H. (2013). Intranasal insulin modulates intrinsic reward and prefrontal circuitry of the human brain in lean women. *Neuroendocrinology*, 97(2), 176-182.
- Lashley, K. S. (1930). Basic neural mechanisms in behavior. *Psychological review*, 37(1), 1.
- Lau, A., & Tymianski, M. (2010). Glutamate receptors, neurotoxicity and neurodegeneration. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*, 460(2), 525-542.
- Lee, J. L., Nader, K., & Schiller, D. (2017). An update on memory reconsolidation updating. *Trends in cognitive sciences*, 21(7), 531-545.
- Levy, L. M., Warr, O., & Attwell, D. (1998). Stoichiometry of the glial glutamate transporter GLT-1 expressed inducibly in a Chinese hamster ovary cell line selected for low endogenous Na⁺-dependent glutamate uptake. *Journal of Neuroscience*, 18(23), 9620-9628.
- Lin, J.-Y., Arthurs, J., & Reilly, S. (2014). Conditioned taste aversion, drugs of abuse and palatability. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 45, 28-45.
- Lin, J.-Y., Arthurs, J., & Reilly, S. (2017). Conditioned taste aversions: From poisons to pain to drugs of abuse. *Psychonomic bulletin & review*, 24(2), 335-351.
- Livneh, Y., Ramesh, R. N., Burgess, C. R., Levandowski, K. M., Madara, J. C., Fenselau, H., . . . Resch, J. M. (2017). Homeostatic circuits selectively gate food cue responses in insular cortex. *Nature*, 546(7660), 611.
- López-García, J. C., Bermúdez-Rattoni, F., & Tapia, R. (1990). Release of acetylcholine, γ -aminobutyrate, dopamine and glutamate, and activity of some related enzymes, in rat gustatory neocortex. *Brain research*, 523(1), 100-104.
- Lubow. (1965). Latent inhibition: Effects of frequency of nonreinforced pre-exposure of the CS. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 60(3), 454.
- Lubow. (1973). Latent inhibition. *Psychological bulletin*, 79(6), 398.
- Lubow. (1989). *Latent inhibition and conditioned attention theory* (Vol. 9): Cambridge University Press.
- Lubow, & Gewirtz. (1995). Latent inhibition in humans: data, theory, and implications for schizophrenia. *Psychological bulletin*, 117(1), 87.

- Lubow, & Moore. (1959). Latent inhibition: the effect of nonreinforced pre-exposure to the conditional stimulus. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 52(4), 415.
- Lubow, Rifkin, & Alek. (1976). The context effect: The relationship between stimulus preexposure and environmental preexposure determines subsequent learning. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 2(1), 38.
- Lubow, & Siebart. (1969). Latent inhibition within the CER paradigm. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 68(1p1), 136.
- Lubow, Weiner, Schlossberg, & Baruch. (1987). Latent inhibition and schizophrenia. *Bulletin of the Psychonomic Society*, 25(6), 464-467.
- Lubow, Weiner, & Schnur. (1981). Conditioned attention theory *Psychology of learning and motivation* (Vol. 15, pp. 1-49): Elsevier.
- Luján, R., Roberts, J. D. B., Shigemoto, R., Ohishi, H., & Somogyi, P. (1997). Differential plasma membrane distribution of metabotropic glutamate receptors mGluR1 α , mGluR2 and mGluR5, relative to neurotransmitter release sites. *Journal of chemical neuroanatomy*, 13(4), 219-241.
- Mackintosh. (1971). An analysis of overshadowing and blocking. *Quarterly Journal of Experimental Psychology*, 23(1), 118-125.
- Mackintosh. (1975). A theory of attention: variations in the associability of stimuli with reinforcement. *Psychological review*, 82(4), 276.
- Maffei, A., Haley, M., & Fontanini, A. (2012). Neural processing of gustatory information in insular circuits. *Current opinion in neurobiology*, 22(4), 709-716.
- Markram, H., & Segal, M. (1990). Long-lasting facilitation of excitatory postsynaptic potentials in the rat hippocampus by acetylcholine. *The Journal of physiology*, 427(1), 381-393.
- Mason, S. T., & Fibiger, H. C. (1979). Noradrenaline and selective attention. *Life Sciences*, 25(23), 1949-1956.
- Mayer, M. L., Westbrook, G. L., & Guthrie, P. B. (1984). Voltage-dependent block by Mg²⁺ of NMDA responses in spinal cord neurones. *Nature*, 309(5965), 261.
- Meldrum, B., Akbar, M., & Chapman, A. (1999). Glutamate receptors and transporters in genetic and acquired models of epilepsy. *Epilepsy research*, 36(2-3), 189-204.
- Menon, V., & Uddin, L. Q. (2010). Saliency, switching, attention and control: a network model of insula function. *Brain Structure and Function*, 214(5-6), 655-667.
- Mesulam, M. M., & Mufson, E. J. (1982). Insula of the old world monkey. III: Efferent cortical output and comments on function. *Journal of Comparative Neurology*, 212(1), 38-52.
- Metzger, M. M., & Riccio, D. C. (2009). The forgetting of stimulus attributes in latent inhibition. *Physiology & behavior*, 96(1), 194-198.
- Miranda, & Bermúdez-Rattoni. (1999). Reversible inactivation of the nucleus basalis magnocellularis induces disruption of cortical acetylcholine release and acquisition, but not retrieval, of aversive memories. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(11), 6478-6482.
- Miranda, & Bermúdez-Rattoni. (2007). Cholinergic activity in the insular cortex is necessary for acquisition and consolidation of contextual memory. *Neurobiology of learning and memory*, 87(3), 343-351.

- Miranda, Ferreira, Ramírez-Lugo, & Bermúdez-Rattoni. (2002). Glutamatergic activity in the amygdala signals visceral input during taste memory formation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(17), 11417-11422.
- Miranda, Ramírez-Lugo, & Bermúdez-Rattoni. (2000). Cortical cholinergic activity is related to the novelty of the stimulus. *Brain research*, 882(1-2), 230-235.
- Miranda, Rodríguez, Reyes-López, Ferry, & Ferreira. (2008). Differential effects of β -adrenergic receptor blockade in basolateral amygdala or insular cortex on incidental and associative taste learning. *Neurobiology of learning and memory*, 90(1), 54-61.
- Molero-Chamizo, A., & Rivera-Urbina, G. N. (2017). Effects of temporal contexts and contextual habituation on latent inhibition. *Psicothema*, 29(3), 346-351.
- Moore, J. W., Goodell, N. A., & Solomon, P. R. (1976). Central cholinergic blockade by scopolamine and habituation, classical conditioning, and latent inhibition of the rabbit's nictitating membrane response. *Physiological Psychology*, 4(3), 395-399.
- Moore, J. W., & Stickney, K. J. (1980). Formation of attentional-associative networks in real time: Role of the hippocampus and implications for conditioning. *Physiological Psychology*, 8(2), 207-217.
- Moraga-Amaro, R., Cortés-Rojas, A., Simon, F., & Stehberg, J. (2014). Role of the insular cortex in taste familiarity. *Neurobiology of learning and memory*, 109, 37-45.
- Mufson, E. J., & Mesulam, M. M. (1982). Insula of the old world monkey. II: Afferent cortical input and comments on the claustrum. *Journal of Comparative Neurology*, 212(1), 23-37.
- Myers, D. G. (2007). Psychology. Eight Edition. *Modules. sl: Worth Publishers*, 978-0716779278.
- Namburi, P., Al-Hasani, R., Calhoon, G. G., Bruchas, M. R., & Tye, K. M. (2016). Architectural representation of valence in the limbic system. *Neuropsychopharmacology*, 41(7), 1697.
- Namburi, P., Beyeler, A., Yorozu, S., Calhoon, G. G., Halbert, S. A., Wichmann, R., . . . Felix-Ortiz, A. C. (2015). A circuit mechanism for differentiating positive and negative associations. *Nature*, 520(7549), 675.
- Naqvi, N. H., Gaznick, N., Tranel, D., & Bechara, A. (2014). The insula: a critical neural substrate for craving and drug seeking under conflict and risk. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1316, 53.
- Naqvi, N. H., Rudrauf, D., Damasio, H., & Bechara, A. (2007). Damage to the insula disrupts addiction to cigarette smoking. *Science*, 315(5811), 531-534.
- Nestler, E. J., Hyman, S. E., & Malenka, R. C. (2001). *Molecular neuropharmacology: a foundation for clinical neuroscience*: McGraw-Hill Medical.
- Nieuwenhuys, R. (2012). The insular cortex: a review *Progress in brain research* (Vol. 195, pp. 123-163): Elsevier.
- Núñez-Jaramillo, Rangel-Hernández, Burgueño, & Miranda. (2012). Activation of nucleus accumbens NMDA receptors differentially affects appetitive or aversive taste learning and memory. *Frontiers in behavioral neuroscience*, 6, 13.
- Obrenovitch, T. P., & Urenjak, J. (1997a). Altered glutamatergic transmission in neurological disorders: from high extracellular glutamate to excessive synaptic efficacy. *Progress in neurobiology*, 51(1), 39-87.
- Obrenovitch, T. P., & Urenjak, J. (1997b). Is high extracellular glutamate the key to excitotoxicity in traumatic brain injury? *Journal of neurotrauma*, 14(10), 677-698.

- Osorio-Gómez, Guzmán-Ramos, & Bermúdez-Rattoni. (2017). Memory trace reactivation and behavioral response during retrieval are differentially modulated by amygdalar glutamate receptors activity: interaction between amygdala and insular cortex. *Learning & Memory*, 24(1), 14-23.
- Panksepp, J. (1998). The periconscious substrates of consciousness: Affective states and the evolutionary origins of the SELF. *Journal of consciousness studies*, 5(5-6), 566-582.
- Parkes, S. L., De la Cruz, V., Bermúdez-Rattoni, F., Coutureau, E., & Ferreira, G. (2014). Differential role of insular cortex muscarinic and NMDA receptors in one-trial appetitive taste learning. *Neurobiology of learning and memory*, 116, 112-116.
- Parvizi, J., & Damasio, A. (2001). Consciousness and the brainstem. *Cognition*, 79(1-2), 135-160.
- Pavlov, I. P. (1927). Conditional reflexes: an investigation of the physiological activity of the cerebral cortex.
- Paxinos, G., & Watson, C. (2006). *The rat brain in stereotaxic coordinates: hard cover edition*: Elsevier.
- Pearce, J. M., & Hall, G. (1980). A model for Pavlovian learning: variations in the effectiveness of conditioned but not of unconditioned stimuli. *Psychological review*, 87(6), 532.
- Pearce, J. M., & Mackintosh, N. J. (2010). Two theories of attention: A review and a possible integration. *Attention and associative learning: From brain to behaviour*, 11-39.
- Peleg-Raibstein, & Feldon. (2006). Effects of dorsal and ventral hippocampal NMDA stimulation on nucleus accumbens core and shell dopamine release. *Neuropharmacology*, 51(5), 947-957.
- Peleg-Raibstein, Pezze, Ferger, Zhang, Murphy, Feldon, & Bast. (2005). Activation of dopaminergic neurotransmission in the medial prefrontal cortex by N-methyl-d-aspartate stimulation of the ventral hippocampus in rats. *Neuroscience*, 132(1), 219-232.
- Peng, Y., Gillis-Smith, S., Jin, H., Tränkner, D., Ryba, N. J. P., & Zuker, C. S. (2015). Sweet and bitter taste in the brain of awake behaving animals. *Nature*, 527(7579), 512-515. doi:10.1038/nature15763
- Petralia, R., Wang, Y.-X., Niedzielski, A., & Wenthold, R. (1996). The metabotropic glutamate receptors, mGluR2 and mGluR3, show unique postsynaptic, presynaptic and glial localizations. *Neuroscience*, 71(4), 949-976.
- Pin, J.-P., & Duvoisin, R. (1995). The metabotropic glutamate receptors: structure and functions. *Neuropharmacology*, 34(1), 1-26.
- Plato, T. (1921). *Sophist*, trans. Harold North Fowler: Cambridge, MA: Harvard University Press, Loeb Classical Library.
- Poo, M.-m., Pignatelli, M., Ryan, T. J., Tonegawa, S., Bonhoeffer, T., Martin, K. C., . . . Fishell, G. (2016). What is memory? The present state of the engram. *BMC biology*, 14(1), 40.
- Przybylski, J., & Sara, S. J. (1997). Reconsolidation of memory after its reactivation. *Behavioural brain research*, 84(1-2), 241-246.
- Purón-Sierra, L., Sabath, E., Nuñez-Jaramillo, L., & Miranda, M. I. (2010). Blockade of nucleus basalis magnocellularis or activation of insular cortex histamine receptors

- disrupts formation but not retrieval of aversive taste memory. *Neurobiology of learning and memory*, 93(2), 216-220.
- Purves, D., Augustine, G. J., Fitzpatrick, D., Hall, W. C., LaMantia, A.-S., & White, L. E. (2008). *Neuroscience fifth*: Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts, USA.
- Quintero, E., Vargas, J. P., Diaz, E., Escarabajal, M. D., Carrasco, M., & López, J. C. (2014). c-Fos positive nucleus reveals that contextual specificity of latent inhibition is dependent of insular cortex. *Brain research bulletin*, 108, 74-79.
- Rainville, P., Duncan, G. H., Price, D. D., Carrier, B., & Bushnell, M. C. (1997). Pain affect encoded in human anterior cingulate but not somatosensory cortex. *Science*, 277(5328), 968-971.
- Ramírez-Lugo, L., Miranda, M. I., Escobar, M. L., Espinosa, E., & Bermúdez-Rattoni, F. (2003). The role of cortical cholinergic pre-and post-synaptic receptors in taste memory formation. *Neurobiology of learning and memory*, 79(2), 184-193.
- Ramón y Cajal, S. (1894). The Croonian lecture.—La fine structure des centres nerveux. *Proceedings of the Royal Society of London*, 55(331-335), 444-468.
- Reiss, S., & Wagner, A. R. (1972). CS habituation produces a “latent inhibition effect” but no active “conditioned inhibition”. *Learning and Motivation*, 3(3), 237-245.
- Rescorla, R. A. (1971a). Summation and retardation tests of latent inhibition. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 75(1), 77.
- Rescorla, R. A. (1971b). Variation in the effectiveness of reinforcement and nonreinforcement following prior inhibitory conditioning. *Learning and Motivation*, 2(2), 113-123.
- Riedel, G., Platt, B., & Micheau, J. (2003). Glutamate receptor function in learning and memory. *Behavioural brain research*, 140(1-2), 1-47.
- Robinson, T. E., & Becker, J. B. (1986). Enduring changes in brain and behavior produced by chronic amphetamine administration: a review and evaluation of animal models of amphetamine psychosis. *Brain research reviews*, 11(2), 157-198.
- Rodríguez-Durán, L. F., & Escobar, M. L. (2014). NMDA receptor activation and PKC but not PKA lead to the modification of the long-term potentiation in the insular cortex induced by conditioned taste aversion: Differential role of kinases in metaplasticity. *Behavioural brain research*, 266, 58-62.
- Rodríguez-Durán, L. F., Martínez-Moreno, A., & Escobar, M. L. (2017). Bidirectional modulation of taste aversion extinction by insular cortex LTP and LTD. *Neurobiology of learning and memory*, 142, 85-90.
- Roediger III, H., Dudai, & Fitzpatrick. (2007). *Science of memory: Concepts*: Oxford University Press.
- Rosenberg, T., Elkobi, A., Dieterich, D. C., & Rosenblum, K. (2016). NMDAR-dependent proteasome activity in the gustatory cortex is necessary for conditioned taste aversion. *Neurobiology of learning and memory*, 130, 7-16.
- Rosenblum, Berman, Hazvi, Lamprecht, & Dudai. (1997). NMDA receptor and the tyrosine phosphorylation of its 2B subunit in taste learning in the rat insular cortex. *Journal of Neuroscience*, 17(13), 5129-5135.
- Rosenblum, Meiri, & Dudai. (1993). Taste memory: the role of protein synthesis in gustatory cortex. *Behavioral and neural biology*, 59(1), 49-56.
- Rusiniak, Gustavson, Hankins, & Garcia. (1976). Prey-lithium aversions. II: laboratory rats and ferrets. *Behavioral biology*, 17(1), 73-85.

- Rusiniak, Hankins, Garcia, & Brett. (1979). Flavor-illness aversions: Potentiation of odor by taste in rats. *Behavioral and neural biology*, 25(1), 1-17.
- Scoville, W. B., & Milner, B. (1957). Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, 20(1), 11.
- Schafe, G. E., Sollars, S. I., & Bernstein, I. L. (1995). The CS-US interval and taste aversion learning: A brief look. *Behavioral neuroscience*, 109(4), 799.
- Semendeferi, K., Lu, A., Schenker, N., & Damásio, H. (2002). Humans and great apes share a large frontal cortex. *Nature neuroscience*, 5(3), 272.
- Shackman, A. J., Salomons, T. V., Slagter, H. A., Fox, A. S., Winter, J. J., & Davidson, R. J. (2011). The integration of negative affect, pain and cognitive control in the cingulate cortex. *Nature reviews neuroscience*, 12(3), 154.
- Shi, C. J., & Cassell, M. (1998). Cortical, thalamic, and amygdaloid connections of the anterior and posterior insular cortices. *Journal of Comparative Neurology*, 399(4), 440-468.
- Shigemoto, R., Kinoshita, A., Wada, E., Nomura, S., Ohishi, H., Takada, M., . . . Nakanishi, S. (1997). Differential presynaptic localization of metabotropic glutamate receptor subtypes in the rat hippocampus. *Journal of Neuroscience*, 17(19), 7503-7522.
- Siegel. (1974). Flavor preexposure and "learned safety.". *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 87(6), 1073.
- Siegel. (1999). *Basic neurochemistry: molecular, cellular and medical aspects*.
- Siegel, Agranoff, Albers, Molinoff, & Wolf. (1996). Basic Neurochemistry. *Integrative Physiological and Behavioral Science*, 31(3), 261-261.
- Sihra, T. S., & Rodríguez-Moreno, A. (2013). Presynaptic kainate receptor-mediated bidirectional modulatory actions: mechanisms. *Neurochemistry international*, 62(7), 982-987.
- Solomon, P. R., Crider, A., Winkelman, J., Turi, A., Kamer, R., & Kaplan, L. (1981). Disrupted latent inhibition in the rat with chronic amphetamine or haloperidol-induced supersensitivity: relationship to schizophrenic attention disorder. *Biological psychiatry*.
- Solomon, P. R., & Moore, J. W. (1975). Latent inhibition and stimulus generalization of the classically conditioned nictitating membrane response in rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) following hippocampal ablation. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 89(10), 1192.
- Spector, A. C., & Smith, J. C. (1984). A detailed analysis of sucrose drinking in the rat. *Physiology & behavior*, 33(1), 127-136.
- Stehberg, J., Moraga-Amaro, R., & Simon, F. (2011). The role of the insular cortex in taste function. *Neurobiology of learning and memory*, 96(2), 130-135.
- Stein, B. E., Spencer, R. F., & Edwards, S. B. (1984). Efferent projections of the neonatal cat superior colliculus: Facial and cerebellum-related brainstem structures. *Journal of Comparative Neurology*, 230(1), 47-54.
- Suboski, M. D., Di Lollo, V., & Gormezano, I. (1964). Effects of unpaired pre-acquisition exposure of CS and UCS on classical conditioning of the nictitating membrane response of the albino rabbit. *Psychological Reports*, 15(2), 571-576.
- Swanson, R. A., Liu, J., Miller, J. W., Rothstein, J. D., Farrell, K., Stein, B. A., & Longuemare, M. C. (1997). Neuronal regulation of glutamate transporter subtype expression in astrocytes. *Journal of Neuroscience*, 17(3), 932-940.

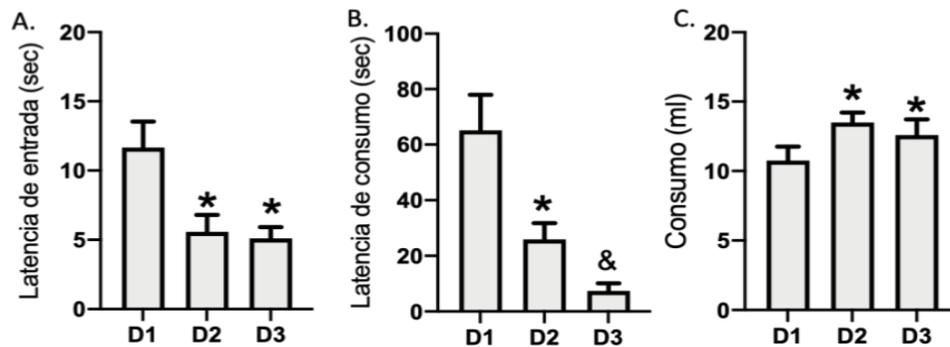
- Swerdlow, N. R., Braff, D. L., Hartston, H., Perry, W., & Geyer, M. A. (1996). Latent inhibition in schizophrenia. *Schizophrenia research*, 20(1-2), 91-103.
- Tolman, E. (1948). (1948), 'Cognitive maps in rats and men,' *Psychological Review*, 55: 189-208.
- Tonegawa, S., Pignatelli, M., Roy, D. S., & Ryan, T. J. (2015). Memory engram storage and retrieval. *Current opinion in neurobiology*, 35, 101-109.
- Traverso, L., Ruiz, G., & De la Casa, L. (2003). Latent inhibition disruption by MK-801 in a conditioned taste-aversion paradigm. *Neurobiology of learning and memory*, 80(2), 140-146.
- Tye, K. M. (2018). Neural circuit motifs in valence processing. *Neuron*, 100(2), 436-452.
- U'Prichard, D. C., Reisine, T. D., Mason, S. T., Fibiger, H. C., & Yamamura, H. I. (1980). Modulation of rat brain α - and β -adrenergic receptor populations by lesions of the dorsal noradrenergic bundle. *Brain research*, 187(1), 143-154.
- Uddin, L. Q., & Menon, V. (2009). The anterior insula in autism: under-connected and under-examined. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 33(8), 1198-1203.
- Ungerer, A., Mathis, C., & Melan, C. (1998). Are glutamate receptors specifically implicated in some forms of memory processes? *Experimental brain research*, 123(1-2), 45-51.
- Vera-Rivera, G., Miranda, M.-I., Rangel-Hernández, J. A., Badillo-Juárez, D., Fregoso-Urrutia, D., & Caynas-Rojas, S. (2018). Effects of caloric or non-caloric sweetener long-term consumption on taste preferences and new aversive learning. *Nutritional neuroscience*, 1-11.
- Vincent, K., Wang, S. F., Laferrière, A., Kumar, N., & Coderre, T. J. (2017). Spinal intracellular metabotropic glutamate receptor 5 (mGluR5) contributes to pain and c-fos expression in a rat model of inflammatory pain. *Pain*, 158(4), 705-716.
- Volianskis, A., France, G., Jensen, M. S., Bortolotto, Z. A., Jane, D. E., & Collingridge, G. L. (2015). Long-term potentiation and the role of N-methyl-D-aspartate receptors. *Brain Res*, 1621, 5-16.
- Wagner, A. R., Mazur, J. E., Donegan, N. H., & Pfautz, P. L. (1980). Evaluation of blocking and conditioned inhibition to a CS signaling a decrease in US intensity. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 6(4), 376.
- Watkins, J. C., & Jane, D. E. (2006). The glutamate story. *British journal of pharmacology*, 147(S1), S100-S108.
- Yamamoto, T., Azuma, S., & Kawamura, Y. (1984). Functional relations between the cortical gustatory area and the amygdala: electrophysiological and behavioral studies in rats. *Experimental brain research*, 56(1), 23-31.
- Young, A., Joseph, M., & Gray, J. (1993). Latent inhibition of conditioned dopamine release in rat nucleus accumbens. *Neuroscience*, 54(1), 5-9.

12. APÉNDICE

a. *Apéndice 1*

Para la estandarización de la EIn modificada, se probaron diferentes estímulos. Para el estímulo positivo, estudios previos sugerían que las galletas “oreo” producían una respuesta lo suficientemente apetitiva, que provocaban un incremento significativo en el consumo (Boggiano, Dorsey, Thomas, & Murdaugh, 2009). Por lo tanto, se colocó una galleta oreo mini (7 grs.) al final del LO de la cámara de EIn, sin embargo, ninguna rata consumió la galleta el primer día de la tarea. Era hasta el tercer día que los animales tomaban la galleta, debido a que se perdía la galleta durante la tarea no se cuantificó el consumo. Se decidió cambiar el estímulo apetitivo por la complicación de medición y de la falta de consumo de las ratas desde el primer día de la tarea. Se utilizó una solución azucarada al 10%, en el apéndice 1 se muestra el consumo en ml de azúcar durante una tarea de EIn modificada con un bebedero con azúcar. Para la tarea se utilizó la cámara de EIn modificada, al final del LO, se tenía un bebedero con azúcar, se cuantificó la latencia de entrada, latencia de inicio de consumo y consumo en ml. Durante cinco días las ratas fueron colocadas en el LC y se midió la latencia de entrada, la latencia de inicio de consumo y las ratas permanecieron 10 min en la cámara para después cuantificar el consumo. Desde el primer día de tarea las ratas tenían un alto consumo de azúcar, lo que indica que azúcar produce una respuesta apetitiva desde el primer día. Se realizó una prueba *T-student* arrojó diferencias significativas $t_{(11)}3.051$, $P=.011$ entre la latencia de entrada el primer día al segundo, sugiriendo que es suficiente con una pre exposición para formar una memoria apetitiva y decrementar la latencia de entrada. La prueba *T-student* también, reveló que una sola preexposición a la azúcar era suficiente para incrementar la respuesta apetitiva, ya que del primer día al

segundo se obtuvo un decremento significativo en la latencia de consumo $t_{(11)}2.802$, $P=.02$ consumo de azúcar $t_{(11)}-3.882$, $P=.003$. Estos resultados sugerían, primero que el azúcar tiene un fuerte componente apetitivo que mejora el inicio de consumo y el consumo desde la primera presentación. Segundo, una sola presentación era necesaria para producir un decremento significativo, tanto en la latencia de entrada, en la latencia de inicio de consumo y en el consumo (Apéndice 1, figura 25).

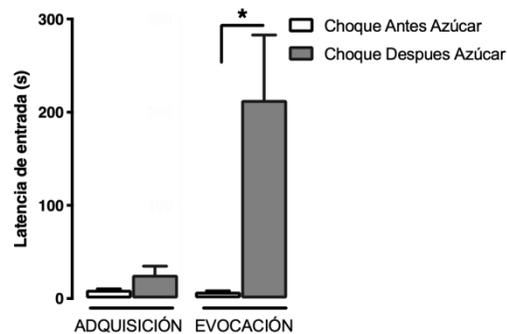


Apéndice 1, Figura 25. (A) Latencia entrada del LC al LO durante tres días D1 (día 1), D2 (día 2) (B) latencia de inicio consumo D1 D2 y D3, (C) consumo de azúcar en ml (media +/- SEM). * $p < 0.05$ D1 vs D2, & $p < 0.05$ D2 vs. D3.

b. Apéndice 2

La segunda parte la estandarización fue encontrar el momento en el cual se iba a aplicar el choque eléctrico. Se utilizaron dos diferentes tiempos de aplicación del choque, el primero fue después del cruce de las ratas al LO (choque antes del azúcar); el segundo fue 10 min después del cruce al LO y antes de retirar a las ratas de la cámara de EIn (choque al después del azúcar). Se midió la latencia de entrada al LO durante la adquisición y evocación de la EIn, se realizó una ANDEVA simple durante la adquisición y evocación de la EIn modificada. La ANDEVA simple no arrojó diferencias durante la adquisición ($F_{(1,11)} = 1.321$, $P > .05$), mostrando que no hay diferencias en la latencia de entrada. Durante la evocación la ANDEVA simple arrojó

diferencias significativas ($F_{(1,11)} = 5.557$, $P = .0380$), indicando que al aplicar el choque al final después del consumo del azúcar durante la adquisición de la EIn, decrementa la asociación aversiva en comparación al grupo que recibió el choque antes de consumir azúcar. Estos resultados indican que el orden en el que se presentan los estímulos es fundamental para una tarea de competencia de estímulos (**Apéndice 2, figura 26**).

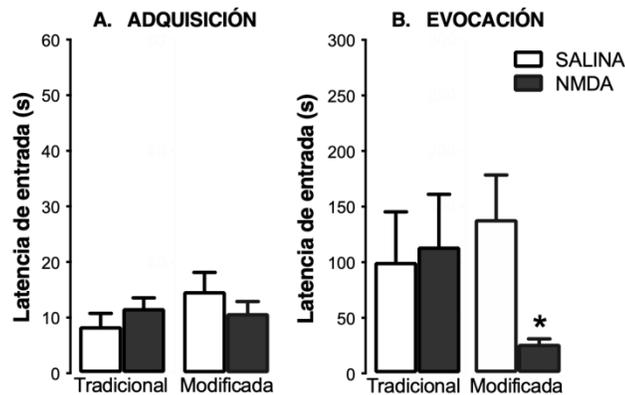


Apéndice 2, Figura 26. Latencia de entrada del LC al LO, choque aplicado al principio de la tarea de EIn y antes de la presentación del azúcar o al final de la tarea de EIn y después de la presentación de los estímulos (media +/- SEM).
* $p < 0.05$ Choque al principio vs Choque al final.

c. Apéndice 3

Para determinar el efecto de los NMDAR en la CI durante una EIn sin competencia de estímulos, se empleó la tarea de EIn, donde el animal al momento de recibir el choque es retirado de la cámara. Se evaluó el efecto de la activación de los NMDAR en la CI en una tarea de EIn. Utilizando la latencia de entrada al LO se comparó la activación de los NMDAR en una tarea de EIn durante la adquisición y evocación de la EIn. Las ratas fueron inyectadas en la CI 5 min antes de la adquisición, posteriormente fueron colocadas en el LC de la cámara de EIn, y se midió el tiempo de entrada al LO, una vez dentro del LO, se cerró la compuerta hacia el LC y se aplicó un choque eléctrico inescapable (0.5mA). Al día siguiente se evaluó la memoria aversiva. Una ANDEVA simple no arrojó diferencias significativas durante la adquisición ($F_{(1,15)}$

$=2.041$, $P>.05$), lo que demuestra que la inyección de NMDA en la CI no altera la motivación o movilidad de los animales a cruzar el LO. Durante la evocación una ANDEVA simple no arrojó diferencias ($F_{(1,15)} = .045$, $P>.05$), indicando que la activación de los NMDAR en la CI durante la adquisición de la tarea de EIn no alteró la evocación de la memoria aversiva. Ambos grupos SALINA vs NMDA, tienen la misma latencia de entrada durante la adquisición y la evocación de la EIn, demostrando que el NMDAR en la CI no produce amnesia en una tarea de EIn, ni tiene un efecto analgésico (Apéndice 3, figura 27).

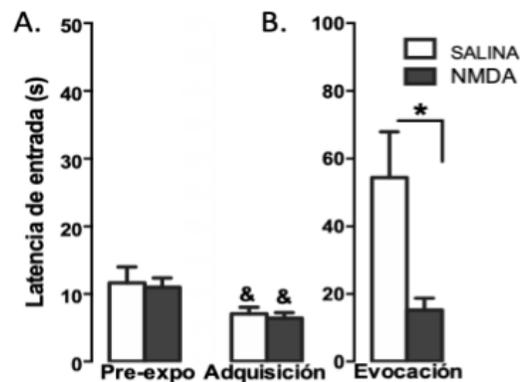


Apéndice 3, Figura 27. Latencia de entrada del LC al LO durante una tarea de EIn (media \pm SEM).

d. Apéndice 4

Para determinar el efecto de los NMDAR en la CI durante la actualización de la memoria se utilizó la IL-EIn sin competencia de estímulos, en esta tarea la rata fue preexpuesta durante 3000 s ambos lados de la cámara. Al día siguiente durante la adquisición, las ratas fueron inyectados en la CI 5 min antes de la adquisición, posteriormente fueron colocadas en el LC de la cámara de EIn, y se midió el tiempo de entrada el LO, una vez dentro del LO, se cerró la compuerta hacia el LC y se aplicó un choque eléctrico inescapable (0.5mA). Al día siguiente se evaluó la memoria aversiva.

Una ANDEVA de medidas repetidas no arrojó diferencias significativas por el fármaco ($F_{(1,23)} = 0.67, P = 80$), la preexposición y la adquisición ($F_{(1,23)} = 12.996, P = .002$), pero no hubo interacción ($F_{(1,23)} = 0.581, P = 45$), lo que demuestra que la inyección de NMDA no altera la memoria incidental, ya que ambos grupos tienen una latencia de entrada similar, pero menor en comparación a la preexposición, también demuestra que la inyección de NMDA en la CI no altera la motivación o movilidad de los animales a cruzar el LO (apéndice 4A). Durante la evocación una ANDEVA simple arrojó diferencias ($F_{(1,23)} = 6.495, P < .02$), indicando que la activación de los NMDAR en la CI mejora la IL-EIn (Apéndice 4, figura 28).



Apéndice 4, Figura 28. Latencia de entrada durante la IL-EIn, (A) se observa la latencia de entrada durante la preexposición y la adquisición (B) se muestra la latencia de entrada durante la evocación (media +/- SEM). * $p < 0.05$ SALINA vs NMDA & $p < 0.05$ preexposición vs adquisición

13. TERMINOS Y DEFINICIONES OPERACIONALES

- *Conflicto emocional* = Competencia de dos o más estímulos con valencias opuestas.
- *Latencia de entrada al LO* = Respuesta aversiva al contexto, a mayor latencia de entrada mayor memoria aversiva al LO.

- *Latencia de inicio de consumo* = Respuesta apetitiva al contexto, a menor latencia de inicio de consumo mayor respuesta/memoria apetitiva al contexto.
- *Consumo* = Respuesta apetitiva al sabor, a mayor consumo mayor respuesta/memoria apetitiva al sabor.
- *Carga o estado emocional* = estado-interno después de la presentación de un estímulo, que produce una conducta motivada, puede ser apetitiva (incremento en la respuesta para obtener un reforzador), o aversiva (un decremento en la respuesta, para evitar un castigo).

14. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA

A continuación se muestran las tablas con la estadística descriptiva incluyendo el número de animales que se utilizaron por grupo (n), la media de cada parámetro (mean), así como la desviación estándar (Std. Dv.) y el error estándar (Std. Err.).

Latencias de entrada (s) Adquisición							
Condición	Fármaco	Tratamiento	Grupos	n	mean	Std. Dv.	Std. Err
EIn	Salina	Agua	EIn-SAL-H	9	12.709	3.955	1.318
		Azúcar	EIn-SAL-S	9	13.271	5.204	1.735
	NMDA	Agua	EIn-NMDA-H	12	11.549	5.377	1.552
		Azúcar	EIn-NMDA-S	11	13.615	6.503	1.961
No Choque	Salina	Agua	NZ-SAL-H	11	11.173	4.347	1.311
		Azúcar	NZ-SAL-S	11	9.373	2.484	.749
	NMDA	Agua	NZ-NMDA-H	12	13.792	5.235	1.511
		Azúcar	NZ-NMDA-S	10	10.620	2.401	.759

TABLA 8. Estadística de la latencia de entrada durante la adquisición de la EIn modificada, ratas por grupo (n), media (mean), desviación estándar (Std. Dv.) y error estándar (Std. Err.).

Razón de discriminación aversiva (RDA)							
Condición	Fármaco	Tratamiento	Grupos	n	mean	Std. Dv.	Std. Err
EIn	Salina	Agua	EIn-SAL-H	9	1.358	1.364	.455
		Azúcar	EIn-SAL-S	9	.791	1.123	.374
	NMDA	Agua	EIn-NMDA-H	12	.297	1.000	.289
		Azúcar	EIn-NMDA-S	11	-.085	.297	.090
No Choque	Salina	Agua	NZ-SAL-H	11	-.256	.211	.064
		Azúcar	NZ-SAL-S	11	-.265	.098	.030
	NMDA	Agua	NZ-NMDA-H	12	-.147	.099	.028
		Azúcar	NZ-NMDA-S	10	-.227	.078	.025

TABLA 9. Estadística del RDA de la EIn modificada, ratas por grupo (n), media (mean), desviación estándar (Std. Dv.) y error estándar (Std. Err.).

Latencias de consumo (s) Adquisición							
Condición	Fármaco	Tratamiento	Grupos	n	mean	Std. Dv.	Std. Err
EI	Salina	Agua	EIn-SAL-H	9	286.500	40.500	13.500
		Azúcar	EIn-SAL-S	9	300.000	0.000	0.000
	NMDA	Agua	EIn-NMDA-H	12	300.000	0.000	0.000
		Azúcar	EIn-NMDA-S	11	273.585	45.892	13.837
No Choque	Salina	Agua	NZ-SAL-H	11	185.864	102.262	30.833
		Azúcar	NZ-SAL-S	11	137.809	107.038	32.273
	NMDA	Agua	NZ-NMDA-H	12	219.208	96.819	27.949
		Azúcar	NZ-NMDA-S	10	227.482	85.234	26.953

TABLA 10. Estadística de la latencia de inicio de consumo durante la adquisición de la EIn modificada, ratas por grupo (n), media (mean), desviación estándar (Std. Dv.) y error estándar (Std. Err.).

Latencias de consumo (s) Evocación							
Condición	Fármaco	Tratamiento	Grupos	n	mean	Std. Dv.	Std. Err
EIn	Salina	Agua	EIn-SAL-H	9	22.011	121.933	40.644
		Azúcar	EIn-SAL-S	9	300.000	0.000	0.000
	NMDA	Agua	EIn-NMDA-H	12	158.458	122.867	35.469
		Azúcar	EIn-NMDA-S	11	146.674	99.732	30.070
No Choque	Salina	Agua	NZ-SAL-H	11	143.864	132.173	39.852
		Azúcar	NZ-SAL-S	11	29.420	36.939	11.681
	NMDA	Agua	NZ-NMDA-H	12	134.713	120.137	34.681
		Azúcar	NZ-NMDA-S	10	97.500	90.483	28.613

TABLA 11. Estadística de la latencia de consumo durante la evocación de la EIn modificada, ratas por grupo (n), media (mean), desviación estándar (Std. Dv.) y error estándar (Std. Err.).

Consumo (ml) Adquisición							
Condición	Fármaco	Tratamiento	Grupos	n	mean	Std. Dv.	Std. Err
EIn	Salina	Agua	EIn-SAL-H	9	.411	.971	.324
		Azúcar	EIn-SAL-S	9	.089	.033	.011
	NMDA	Agua	EIn-NMDA-H	12	.100	0.000	0.000
		Azúcar	EIn-NMDA-S	11	.791	1.058	.319
No Choque	Salina	Agua	NZ-SAL-H	11	1.455	1.440	.434
		Azúcar	NZ-SAL-S	11	2.818	1.991	.600
	NMDA	Agua	NZ-NMDA-H	12	1.583	1.832	.529
		Azúcar	NZ-NMDA-S	10	1.700	1.947	.616

TABLA 12. Estadística de consumo durante la adquisición de la EIn modificada, ratas por grupo (n), media (mean), desviación estándar (Std. Dv.) y error estándar (Std. Err.).

Consumo (ml) Evocación							
Condición	Fármaco	Tratamiento	Grupos	n	mean	Std. Dv.	Std. Err
EIn	Salina	Agua	EIn-SAL-H	9	.667	1.000	.333
		Azúcar	EIn-SAL-S	9	0.000	0.000	0.000
	NMDA	Agua	EIn-NMDA-H	12	1.273	1.555	.469
		Azúcar	EIn-NMDA-S	11	2.182	1.328	.400
No Choque	Salina	Agua	NZ-SAL-H	11	1.818	2.316	.698
		Azúcar	NZ-SAL-S	11	3.909	1.375	.415
	NMDA	Agua	NZ-NMDA-H	12	2.167	1.467	.423
		Azúcar	NZ-NMDA-S	10	2.400	1.578	.499

TABLA 13. Estadística del consumo durante la evocación de la EIn modificada, ratas por grupo (n), media (mean), desviación estándar (Std. Dv.) y error estándar (Std. Err.).

Latencias de entrada (s) Pre-exposición						
Condición	Fármaco	Tratamiento	Grupos	n	Pre-exposición	Adquisición
IL	Salina	Agua	IL-SAL-H	9	8.9+/-0.8	6.4+/-0.9 *
		Azúcar	IL-SAL-S	9	8.7+/- 0.8	5.3+/-0.9 *
	NMDA	Agua	IL-NMDA-H	12	10.8+/-1.6	6.0+/-0.7 *
		Azúcar	IL-NMDA-S	11	9.4+/-1.8	6.0+/-1.3
No Choque	Salina	Agua	SZ-SAL-H	11	8.4+/-0.7	5.8+/- 0.6
		Azúcar	SZ-SAL-S	11	12.3+/- 2.3	5.6+/- 0.6 *
	NMDA	Agua	SZ-NMDA-H	12	10.5+/-1.4	7.0+/-0.7
		Azúcar	SZ-NMDA-S	10	9.8+/-1.1	7.9+/-1.5

TABLA 14. Estadística de la latencia de entrada durante la preexposición de la IL-EIn modificada, ratas por grupo (n), media (mean), desviación estándar (Std. Dv.) y error estándar (Std. Err.).

Latencias de entrada (s) Adquisición							
Condición	Fármaco	Tratamiento	Grupos	n	mean	Std. Dv.	Std. Err
IL	Salina	Agua	IL-SAL-H	11	6.425	3.190	.962
		Azúcar	IL-SAL-S	11	5.164	2.770	.962
	NMDA	Agua	IL-NMDA-H	12	6.200	2.020	.583
		Azúcar	IL-NMDA-S	10	6.950	2.092	.662
No Choque	Salina	Agua	SZ-SAL-H	11	5.164	2.770	.835
		Azúcar	SZ-SAL-S	8	5.563	1.794	.634
	NMDA	Agua	SZ-NMDA-H	10	6.950	2.092	.662
		Azúcar	SZ-NMDA-S	11	7.855	4.864	1.466

TABLA 15. Estadística de la latencia de entrada durante la adquisición de la IL-EIn modificada, ratas por grupo (n), media (mean), desviación estándar (Std. Dv.) y error estándar (Std. Err.).

Latencias de entrada (s) RDA							
Condición	Fármaco	Tratamiento	Grupos	n	mean	Std. Dv.	Std. Err
IL	Salina	Agua	IL-SAL-H	11	11.957	106.563	32.130
		Azúcar	IL-SAL-S	11	-46.874	56.038	16.896
	NMDA	Agua	IL-NMDA-H	12	-1.199	64.438	18.602
		Azúcar	IL-NMDA-S	10	-55.607	32.330	10.224
No Choque	Salina	Agua	SZ-SAL-H	11	-55.930	30.240	9.118
		Azúcar	SZ-SAL-S	8	-52.846	21.628	7.647
	NMDA	Agua	SZ-NMDA-H	10	-41.872	14.272	4.513
		Azúcar	SZ-NMDA-S	11	-47.872	30.980	9.341

TABLA 16. Estadística del RDA de la IL-EIn modificada, ratas por grupo (n), media (mean), desviación estándar (Std. Dv.) y error estándar (Std. Err.).

Latencias de entrada (s) RDA							
Condición	Fármaco	Tratamiento	Grupos	n	mean	Std. Dv.	Std. Err
IL	Salina	Agua	IL-SAL-H	11	11.957	106.563	32.130
		Azúcar	IL-SAL-S	11	-46.874	56.038	16.896
	NMDA	Agua	IL-NMDA-H	12	-1.199	64.438	18.602
		Azúcar	IL-NMDA-S	10	-55.607	32.330	10.224
No Choque	Salina	Agua	SZ-SAL-H	11	-55.930	30.240	9.118
		Azúcar	SZ-SAL-S	8	-52.846	21.628	7.647
	NMDA	Agua	SZ-NMDA-H	10	-41.872	14.272	4.513
		Azúcar	SZ-NMDA-S	11	-47.872	30.980	9.341

TABLA 17. Estadística de la latencia de consumo durante la preexposición de la IL-EIn modificada, ratas por grupo (n), media (mean), desviación estándar (Std. Dv.) y error estándar (Std. Err.).

Latencias de consumo (s) Adquisición							
Condición	Fármaco	Tratamiento	Grupos	n	mean	Std. Dv.	Std. Err
IL	Salina	Agua	IL-SAL-H	11	232.566	81.995	24.722
		Azúcar	IL-SAL-S	11	138.918	115.553	34.841
	NMDA	Agua	IL-NMDA-H	12	160.200	87.568	25.279
		Azúcar	IL-NMDA-S	10	80.340	68.293	21.596
No Choque	Salina	Agua	SZ-SAL-H	11	123.832	119.991	36.179
		Azúcar	SZ-SAL-S	8	35.400	34.694	12.266
	NMDA	Agua	SZ-NMDA-H	10	183.250	105.347	33.314
		Azúcar	SZ-NMDA-S	11	44.691	36.197	10.914

TABLA 18. Estadística de la latencia de consumo durante la adquisición de la IL-EIn modificada, ratas por grupo (n), media (mean), desviación estándar (Std. Dv.) y error estándar (Std. Err.).

Latencias de consumo (s) Evocación							
Condición	Fármaco	Tratamiento	Grupos	n	mean	Std. Dv.	Std. Err
IL	Salina	Agua	IL-SAL-H	11	142.518	103.543	31.219
		Azúcar	IL-SAL-S	11	36.452	31.957	9.635
	NMDA	Agua	IL-NMDA-H	12	51.925	56.675	16.361
		Azúcar	IL-NMDA-S	10	29.130	31.258	9.885
No Choque	Salina	Agua	SZ-SAL-H	11	130.916	124.936	37.670
		Azúcar	SZ-SAL-S	8	14.450	16.224	5.736
	NMDA	Agua	SZ-NMDA-H	10	199.320	122.309	38.677
		Azúcar	SZ-NMDA-S	11	25.081	35.728	10.772

TABLA 19. Estadística de la latencia de consumo durante la evocación de la IL- EIn modificada, ratas por grupo (n), media (mean), desviación estándar (Std. Dv.) y error estándar (Std. Err.).

Consumo (ml) Pre-exposición							
Condición	Fármaco	Tratamiento	Grupos	n	mean	Std. Dv.	Std. Err
IL	Salina	Agua	IL-SAL-H	11	1.182	1.168	.352
		Azúcar	IL-SAL-S	11	2.818	1.722	.519
	NMDA	Agua	IL-NMDA-H	12	1.667	1.557	.449
		Azúcar	IL-NMDA-S	10	3.670	1.126	.356
No Choque	Salina	Agua	SZ-SAL-H	11	1.273	2.005	.604
		Azúcar	SZ-SAL-S	8	2.626	1.506	.532
	NMDA	Agua	SZ-NMDA-H	10	1.300	1.703	.539
		Azúcar	SZ-NMDA-S	11	3.364	1.286	.388

TABLA 20. Estadística de consumo (ml) durante la preexposición de la IL-EIn modificada, ratas por grupo (n), media (mean), desviación estándar (Std. Dv.) y error estándar (Std. Err.).

Consumo (ml) Adquisición							
Condición	Fármaco	Tratamiento	Grupos	n	mean	Std. Dv.	Std. Err
IL	Salina	Agua	IL-SAL-H	11	.909	1.221	.368
		Azúcar	IL-SAL-S	11	2.818	2.401	.724
	NMDA	Agua	IL-NMDA-H	12	2.333	1.775	.512
		Azúcar	IL-NMDA-S	10	3.400	1.506	.476
No Choque	Salina	Agua	SZ-SAL-H	11	2.401	1.916	.578
		Azúcar	SZ-SAL-S	7	5.429	2.225	.841
	NMDA	Agua	SZ-NMDA-H	9	2.11	2.472	.824
		Azúcar	SZ-NMDA-S	11	4.091	2.468	.744

TABLA 21. Estadística del consumo durante la adquisición de la IL-EIn modificada, ratas por grupo (n), media (mean), desviación estándar (Std. Dv.) y error estándar (Std. Err.).

Consumo (ml) Evocación							
Condición	Fármaco	Tratamiento	Grupos	n	mean	Std. Dv.	Std. Err
IL	Salina	Agua	IL-SAL-H	11	1.636	1.502	.453
		Azúcar	IL-SAL-S	11	3.091	1.868	.563
	NMDA	Agua	IL-NMDA-H	12	2.333	1.435	.414
		Azúcar	IL-NMDA-S	10	2.700	.949	.300
No Choque	Salina	Agua	SZ-SAL-H	11	2.000	2.000	.603
		Azúcar	SZ-SAL-S	8	3.750	1.581	.559
	NMDA	Agua	SZ-NMDA-H	10	2.200	2.150	.680
		Azúcar	SZ-NMDA-S	11	2.727	1.489	.449

TABLA 22. Estadística del consumo durante la evocación de la IL-EIn modificada, ratas por grupo (n), media (mean), desviación estándar (Std. Dv.) y error estándar (Std. Err.).