



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
MAESTRÍA EN CIENCIAS (NEUROBIOLOGÍA)

INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

**PARTICIPACIÓN DIFERENCIAL DE LA HABÉNULA LATERAL DURANTE LA
FORMACIÓN DE LA MEMORIA DE AVERSIÓN AL AZÚCAR Y DURANTE LA
INHIBICIÓN LATENTE INDUCIDA POR LA FAMILIARIZACIÓN A ESTE SABOR**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS (NEUROBIOLOGÍA)

PRESENTA:

BIOL. JOCELYN LUCERO LOMELI CASTILLO

TUTORA PRINCIPAL:

DRA. MARÍA ISABEL MIRANDA SAUCEDO
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGIA, UNAM

COMITÉ TUTOR:

DRA. MARTHA LILIA ESCOBAR RODRÍGUEZ
FACULTAD DE PSICOLOGIA, UNAM

DR. LUIS ALBERTO TELLEZ LIMA
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGIA, UNAM

CAMPUS JURQUILLA, QUERÉTARO, DICIEMBRE, 2022



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.

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA**

Los miembros del Comité Tutorial certificamos que la tesis elaborada por: Lomeli Castillo Jocelyn Lucero, cuyo título es: "Participación diferencial de la habénula lateral durante la formación de la memoria de aversión al azúcar y durante la inhibición latente inducida por la familiarización a este sabor", se presenta como uno de los requisitos para obtener el grado de Maestra en Ciencias (Neurobiología) y cumple con los criterios de originalidad y calidad requeridos por la División de Estudios de Posgrado de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Firma

Presidente

Dra. Gina Lorena Quirarte

Secretario (Tutora)

Dra. María Isabel Miranda Saucedo

Vocal

Dr. Rodrigo Erik Escartín Pérez

Suplente

Dra. Martha Lilia Escobar Rodríguez

Suplente

Dra. Yazmín Macotella Guzmán

Aprobado por el Comité Académico

Dr. José Gerardo Rojas Piloni
Coordinador del Programa

Dedicatoria

A mis padres,

*Quienes me apoyaron incondicionalmente en este nuevo proyecto, porque me
condujeron con amor y paciencia. Gracias por darme la libertad de elegir mi
futuro y brindarme con las manos abiertas su apoyo y confianza en mi
preparación*

Agradecimientos

A la Dra. Miranda, por la confianza, el apoyo, el aprendizaje, así como brindarme la oportunidad de crecer académicamente en su laboratorio y dirigir con su experiencia este proyecto de investigación.

A la Dra. Gaby Vera, porque su apoyo tuvo un impacto significativo no solo en mi vida académica sino también en lo personal, por hacer del laboratorio un lugar más agradable y motivante.

Al Lic. Alejandro Rangel, por su asistencia y apoyo para la realización de este proyecto, así como la motivación que me infundió durante mi estancia en el laboratorio.

A mi comité tutor, la Dra. Martha Escobar y al Dr. Luis Téllez, porque con sus comentarios y correcciones formaron parte importante de mi crecimiento académico a lo largo de la maestría.

A todo mi jurado de tesis (Dra. Gina Lorena Quirarte, Dr. Rodrigo Erik Escartín Pérez, Dra. Yazmín Macotela Guzmán), por brindarme de su tiempo para revisar y mejorar mi tesis.

A mis compañeros de laboratorio, (Maricruz, Imelda, Jonathan) por las charlas amenas, risas compartidas y porque encontré un grupo fraterno en ellos.

A mi hermano Alfredo, por su orientación y cuidado en cada momento que necesite.

A mi pareja Juan Carlos, porque en ti encontré el apoyo que necesitaba, gracias por compartir siempre tu pasión por nuestra profesión, y motivarme en momentos difíciles.

“Nunca por encima de ti, nunca por debajo de ti, siempre a tu lado”. Walter Winchell

Además, agradezco el apoyo recibido de:

La Dra. Nuri y la Coordinación del Programa Maestría en Ciencias (Neurobiología) por todo el apoyo académico y las facilidades en los procesos administrativos

El MVZ. Martin García por su apoyo en el bioterio.

Las personas encargadas de la Unidad de Videoconferencia, por su apoyo brindado a lo largo de las clases, ya que durante la pandemia su apoyo fue de suma importancia.

El Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo económico brindado, CVU: 1085633. Así como también el apoyo de PAPIIT-DGAPA IN209122

Nuestra recompensa se encuentra en el esfuerzo y no en el resultado.

Un esfuerzo total es una victoria completa.

Mahatma Gandhi

Resumen

El condicionamiento de aversión al sabor (CAS), es un aprendizaje asociativo en el que un sabor novedoso y un malestar gástrico se asocian, y producen evitación del sabor en los animales. Un modelo para estudiar la solidez del aprendizaje asociativo, dependiendo del grado de familiaridad, es la inhibición latente (IL), este proceso se da cuando los animales se exponen previamente a un estímulo de tal manera que disminuye su capacidad de poder asociarlos en el futuro. La habénula lateral (LHb) se conecta con algunas estructuras que están implicadas con memorias de reconocimiento del sabor; por ejemplo, la corteza insular, el área tegmental ventral y el hipocampo, por mencionar algunas. Se ha demostrado que lesiones electrolíticas de la LHb atenúan el CAS a la supersacarina (0.125 % de sacarina + 3 % de glucosa) inducida por etanol. Estudios importantes concluyeron que la LHb procesa señales de valor motivacional negativo (ausencia de una recompensa o la presencia de un castigo). Sin embargo, aún no se ha descrito claramente la intervención de esta estructura en aprendizajes asociativos y su impacto sobre aprendizajes posteriores como lo es una inhibición latente del CAS (IL-CAS). Por ello, decidimos evaluar la función de la LHb durante la formación de la memoria aversiva al sabor novedoso y tras la alta familiarización al sabor dulce. Se utilizaron ratas macho de la cepa *Wistar*, con un peso inicial de 270-310 gr, las cuales fueron privadas de agua, para posteriormente consumir líquido en una sola presentación diaria por 20 min, 30 min antes de la adquisición del CAS fueron inyectadas bilateralmente en la LHb con una dosis citotóxica de NMDA (10 µg/µl). Se midió el consumo de agua endulzada con azúcar, al 10%, durante las fases de adquisición, evocación y tres sesiones de extinción. Para lograr la alta familiarización al sabor dulce (IL-CAS) las ratas fueron expuestas por 21 días al azúcar para posteriormente continuar con el procedimiento del CAS. Los resultados muestran que las lesiones citotóxicas con NMDA en la LHb antes de la adquisición del CAS provoca un menor aprendizaje aversivo del sabor a azúcar y una aceleración en la extinción de la memoria aversiva cuando el sabor es novedoso. Sin embargo, las mismas lesiones de NMDA en la LHb, tras una exposición de 21 días al azúcar y antes de la adquisición del CAS no alteran el proceso de IL-CAS, es decir, cuando el sabor es altamente familiar. Nuestros resultados sugieren que la LHb tiene un papel crucial durante el aprendizaje aversivo, no así durante los procesos de actualización del sabor altamente familiar.

Abstract

Conditioned taste aversion (CTA) is associative learning in which a novel taste and gastric discomfort are associated, producing taste avoidance in animals. A model to study the strength of associative learning, depending on the level of familiarity, is latent inhibition (LI), this process occurs when animals are previously exposed to a stimulus in such a way that their ability to associate them in the future decreases. Lateral habenula (LHb) connects to some structures that are involved with taste recognition memories, i.e., insular cortex, ventral tegmental area, and hippocampus, to name but a few. Electrolytic lesions of LHb have been shown to attenuate CTA to supersaccharin (0.125% saccharin + 3% glucose) ethanol induced. Important studies concluded that LHb processes signals of negative motivational value (absence of a reward or presence of a punishment). However, the intervention of this structure in associative learning and its impact on subsequent learning, such as latent inhibition of CTA (LI-CTA), has not yet been clearly described. Therefore, we decided to evaluate the role of LHb during the formation of aversive memory to novel taste and after high familiarization to sweet taste. Male Wistar strain rats were used, with a starting weight of 270-310 g, which were deprived of water, to later consume liquid in a single daily presentation for 20 min, 30 min before the acquisition of the CTA they were injected bilaterally in LHb with a cytotoxic dose of NMDA (10 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$). The consumption of 10% sugar-sweetened water was measured during the acquisition, evocation and three extinction phases. To achieve high sweet taste familiarization (LI-CTA), rats were exposed to sugar for 21 days to later continue with the CTA procedure. The results shown that NMDA cytotoxic lesions in LHb before CTA acquisition cause less aversive learning of the taste of sugar and accelerated extinction of aversive memory when the taste is novel. However, the same NMDA lesions in LHb, after a 21-day exposure to sugar and before CTA acquisition, do not alter the LI-CTA process, that is, when taste is highly familiar. Our results suggest that LHb has a crucial role during aversive learning, but not during high-familiarity taste update processes.

Índice

	<u>Página</u>
Resumen	i
Abstract	ii
Abreviaturas	1
1. Introducción	
1.1. Tipos de aprendizaje	2
1.1.1. Aprendizaje no asociativo	3
a) Habitación	3
b) Sensibilización	3
1.1.2. Aprendizaje asociativo	4
a) Condicionamiento clásico o pavloviano	5
b) Condicionamiento operante o instrumental	5
1.2. Tipos de memoria	6
1.2.1. Memoria de corto plazo	6
a) Memoria sensorial	6
b) Memoria de trabajo	7
1.2.2. Memoria de largo plazo	7
a) Memoria declarativa o explícita	7
b) Memoria no declarativa o procedimental	7
1.3. Memoria gustativa	9
1.3.1. Percepción del sabor	9
1.3.2. Aprendizaje al sabor	10
1.3.3. Aprendizaje aversivo al sabor	12
a) Extinción del condicionamiento de aversión al sabor	14
b) Excitotoxicidad y condicionamiento de aversión al sabor	14
1.3.4. Inhibición latente	15
1.3.4.1. Inhibición latente del condicionamiento de aversión al sabor	16
1.3.5. Estructuras involucradas en la formación de la memoria del sabor	17
1.3.6. Vías viscerales	20
1.4. Habénula lateral	22
1.4.1. Conexiones de la habénula lateral	23
1.4.2. Tipos de conducta en los que está involucrada la habénula lateral	26
1.4.3. La habénula lateral y el aprendizaje al sabor	30

2. Justificación	33
3. Hipótesis	33
4. Objetivos	
4.1. Objetivo general	34
4.2. Objetivos particulares	34
5. Materiales y métodos	
5.1. Sujetos experimentales	35
5.2. Tareas de aprendizaje	
a. Condicionamiento de aversión al sabor	35
b. Familiarización al azúcar	
i. Preexposición	36
ii. Inhibición latente del CAS	36
5.3. Cirugía	37
5.4. Microinyecciones	37
5.5. Histología	38
5.5.1. Tinción violeta de cresilo	38
5.5.2. Análisis histológico	39
5.6. Análisis estadístico	40
6. Resultados	
6.1. Efecto de la lesión excitotóxica en la LHb durante la memoria aversiva al sabor	41
6.2. Consumo de azúcar durante los 21 días previos al CAS	42
6.3. Inducción de la inhibición latente del CAS	44
6.4. Efecto de la lesión excitotóxica en la LHb durante la inhibición latente del CAS	45

7. Discusión	46
8. Conclusiones	51
9. Perspectivas	52
10. Referencias	53
11. Glosario	61

Índice de figuras

	<u>Página</u>
Figura 1. Clasificación de aprendizaje.	2
Figura 2. Categorías principales de la memoria.	8
Figura 3. Representación de las vías neuronales ascendentes gustativas y viscerales durante el procesamiento del sabor.	19
Figura 4. Conexiones aferentes y eferentes de la LHb.	24
Figura 5. Conexiones ascendentes y descendentes de la habénula.	25
Figura 6. Mecanismos propuestos para la inhibición motriz provenientes de la habénula.	27
Figura 7. Respuesta de la LHb en la modulación de los movimientos sacádicos del ojo.	28
Figura 8. La habénula lateral codifica valores motivacionales.	29
Figura 9. CAS inducido por etanol a supersacarina.	31
Figura 10. Tasas de activación basales en las neuronas de la LHb.	32
Figura 11. Diseño experimental del objetivo 1.	36
Figura 12. Diseño experimental del objetivo 2.	37
Figura 13. Imagen representativa de un corte coronal de cerebro de rata.	39
Figura 14. Consumo de azúcar (ml/kg) por 20 min de las diferentes fases del CAS y durante la extinción de la memoria aversiva.	42
Figura 15. Registro de consumo de azúcar durante 21 días de exposición <i>ad libitum</i> .	43
Figura 16. Consumo de azúcar (ml) de grupos control del CAS y de la IL-CAS durante las etapas de adquisición y evocación.	44
Figura 17. Consumos de azúcar (ml/kg) por 20 min en las diferentes fases de la IL-CAS y durante su memoria de extinción.	45

Abreviaturas

ADQ: adquisición	MCP: memoria de corto plazo
AP: área postrema	MHb: Habénula medial
BLA: amígdala basolateral	MLP: memoria a largo plazo
BNTS: núcleo del lecho de la estría terminal	MnR: núcleo del rafe medio
Ca ²⁺ : Ión calcio	mPFC: corteza prefrontal medial
CAS: Condicionamiento de aversión al sabor	NAC: núcleo accumbens
CeA: núcleo central de la amígdala	NMDA: N-metil-D-aspartato
CN-IX: nervio craneal glosofaríngeo	NMDAR: Receptores de NMDA
CN-VII: nervio craneal facial	NTS: núcleo del tracto solitario
CN-X: nervio craneal vago	PAG: sustancia gris periacueductual
EC: estímulo condicionado	PBN: núcleo parabraquial
EI: estímulo incondicionado	PVH: núcleo paraventricular
EVO: evocación	RC: respuesta condicionada
EXT: extinción	RI: respuesta incondicionada
Hb: habénula	RMTg: área tegmental rostromedial
IL: Inhibición latente	SI: sustancia innominada
IL-CAS: Inhibición latente del CAS	TRC: células receptoras del gusto
LH: hipotálamo lateral	VP: pálido ventral
LHb: habénula lateral	VTA: área tegmental ventral
LiCl: Cloruro de litio	

1. Introducción

1.1. Tipos de aprendizaje

Uno de los propósitos fundamentales de la plasticidad cerebral es proporcionar la capacidad de adaptación y optimización del comportamiento de acuerdo con las demandas ambientales actuales. Los organismos vivos no son entidades estáticas e inmutables, su capacidad de adaptación a través de la experiencia para obtener una recompensa o evitar el peligro tiene un claro propósito evolutivo, esto conlleva a un aprendizaje (Lourenco & Casey, 2013). Las definiciones de aprendizaje y memoria abarcan una variedad de subcomponentes, por lo cual resulta complicado proponer una definición completamente válida (Brem et al., 2013) ya que ambos conceptos tienen su origen en diferentes campos de estudio que subyacen a cada autor y rama (Vanderwolf & Cain, 1994; Sweatt, 2003). El aprendizaje puede ser definido de muchas formas que van desde términos conductuales hasta neurobiológicos. Por ejemplo, Purves et al. (2016) mencionan que el aprendizaje es la adquisición de una conducta nueva por medio de la experiencia. Sin embargo, en la rama conductual, generalmente el aprendizaje es definido como un cambio en la conducta más o menos permanente, resultante de la experiencia y que no es debido a la maduración, fatiga, drogas o enfermedad (Hilgard & Marquis, 1961). El aprendizaje tiene sus propias clasificaciones, enfocando a la posible relación que realiza el individuo entre un estímulo y sus posibles consecuencias. De esta manera el aprendizaje se divide en aprendizaje asociativo y aprendizaje no asociativo (Figura 1).

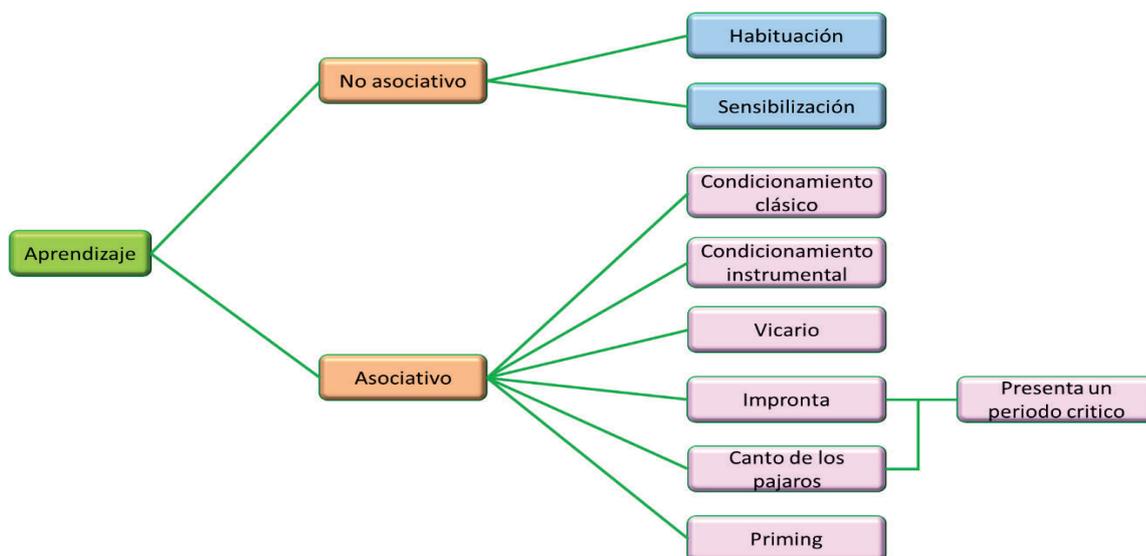


Figura 1. Clasificación de aprendizaje (modificado de Sweatt, 2003).

1.1.1. Aprendizaje no asociativo

Dentro del aprendizaje no asociativo (aprendizaje simple) se encuentra la habituación y la sensibilización. Estas formas de aprendizaje involucran respuestas alteradas a un solo estímulo y no requieren que el animal forme ninguna asociación entre un estímulo ambiental y otro, además pueden ocurrir inconscientemente, porque generalmente no requieren percepción consciente de los estímulos ambientales ni recuerdo consciente de información (Sweatt, 2010).

a) Habituación

La habituación se define como una disminución o decremento en la respuesta hacia un estímulo presentado varias veces (repetido) (Kandel *et al.*, 2000). La habituación es sólo un ejemplo de cómo el simple hecho de experimentar un suceso, una y otra vez, hace que el individuo aprenda acerca de ese suceso (aprende a ignorarlo) (Gluck *et al.*, 2009), por ejemplo, cuando a un animal se le presenta repetidamente un estímulo ambiental inofensivo, la respuesta del animal a ese estímulo disminuye con el paso del tiempo (Sweatt, 2010). Otro ejemplo, si alguien se muda de un pueblo pequeño y tranquilo a un apartamento en la ciudad, es posible que las primeras noches se tenga dificultad para dormir por los ruidos extraños que se escuchan, pero después de unas cuantas noches más, probablemente se habitúa a los ruidos y pueda dormir (Gluck *et al.*, 2009). El propósito de la habituación es que, con el tiempo, los animales aprenden a ignorar ciertos estímulos ambientales que no tienen un contenido informativo (Sweatt, 2010).

Después de que una respuesta se habitúa, si presenta otro estímulo único, puede ocurrir la deshabitación. Una respuesta habituada puede superarse mediante un estímulo deshabitado. La deshabitación es una recuperación de la respuesta o un aumento de la capacidad de respuesta inicial normal cuando el animal recibe un estímulo ambiental diferente (Sweatt, 2010).

Por lo tanto, la habituación es probablemente la forma más simple de aprendizaje y es una disminución de una respuesta conductual. La habituación ocurre en respuesta a la estimulación repetida y se manifiesta como una respuesta disminuida a ese estímulo con el tiempo, además de que se asocia con la inhibición sináptica. Consecuentemente, la habituación es el efecto opuesto a la sensibilización (Sweatt, 2010).

b) Sensibilización

La sensibilización es un aumento en la magnitud de la respuesta, producida por un estímulo que fue presentado de manera repetida y cuya consecuencia fue desfavorable, es decir se define

como un aumento de la respuesta por encima de la respuesta inicial normal que se produce en respuesta a una señal ambiental nociva o muy intensa (Sweatt, 2010).

La duración de la memoria de un evento aprendido depende del número de veces que un animal percibe un estímulo que modifica la conducta. Por ejemplo, una sola estimulación sensibilizante puede provocar una sensibilización que dura unos cuantos minutos, mientras que las estimulaciones repetidas probablemente darán como consecuencia una sensibilización que durará de horas a días y, las presentaciones repetidas de múltiples ensayos de entrenamiento (pruebas repetidas durante unos pocos días) pueden provocar una sensibilización que dura semanas (Sweatt, 2010). Cabe mencionar que la habituación a largo plazo conlleva a una pérdida de sinapsis y la sensibilización a largo plazo conduce a un aumento de las sinapsis (Kandel & Schwartz, 1982).

Por mencionar algunos ejemplos, la sensibilización en mamíferos como los roedores representa un comportamiento reflexivo simple, como la retirada de la pata, y así de manera análoga, a las sensaciones humanas, los roedores con lesiones en los tejidos retiran sus patas cuando se les dan estímulos no nocivos como calor cálido o un cepillo ligero (Sweatt, 2010). Un ejemplo más simple es el envenenamiento que ocurre en el contexto de la ingesta de un alimento el cual aumenta el rechazo de los nuevos sabores presentados en una situación similar (Domjan, 1977; Rozin, 1968). Además, se puede considerar que la alta familiarización al azúcar es un proceso de sensibilización debido a que aumenta la conducta de consumo, ya que el hecho de que se observen cambios en la conducta de respuesta hacia el azúcar, sin saber exactamente que se asocia para aumentar esa conducta, puede referirse a una sensibilización al azúcar (Sweatt, 2010).

1.1.2. Aprendizaje asociativo

Es la capacidad de establecer una asociación entre dos o más estímulos que pueden cuantificarse para dar un respuesta anticipada o condicionada. En el aprendizaje por asociación, el contexto o las condiciones anteriores hacen que se desencadenen automática e inevitablemente determinados comportamientos. Las asociaciones se basan en las relaciones entre los estímulos relevantes y otros presentes en la situación. Dentro de este aprendizaje se encuentra el condicionamiento clásico y el operante (Sweatt, 2010).

a) Condicionamiento clásico o pavloviano

En el condicionamiento clásico (pavloviano), una respuesta provocada de manera natural por un estímulo llega a ser provocada por un estímulo diferente previamente neutral. Iván Pavlov, un fisiólogo ruso que estudiaba los procesos digestivos descubrió el condicionamiento clásico casi por accidente. Entrenó a un perro a salivar ante el sonido de una campana presentando el sonido justo antes de llevar la comida al cuarto. A la larga, el perro empezó a salivar ante el solo sonido de la campana (Pavlov, 1927).

El condicionamiento clásico supone el apareamiento de una respuesta causada naturalmente por un estímulo con otro estímulo previamente neutral. Existen cuatro elementos básicos para este condicionamiento: El estímulo incondicionado (EI), a menudo comida invariablemente ocasiona que el organismo responda de manera específica. La respuesta incondicionada (RI) es la reacción (como la salivación) que siempre produce el EI. El estímulo condicionando (EC) es un estímulo (como la campana) que al principio no produce la respuesta deseada, sin embargo, en el curso del condicionamiento, el EC llega a producir la respuesta deseada cuando se presenta solo. Por último, la respuesta condicionada (RC) es la conducta que el organismo aprende a exhibir en presencia del estímulo condicionado (Morris & Maisto, 2005).

b) Condicionamiento operante o instrumental

El condicionamiento operante se basa más en el aprendizaje de la conducta que opera en el ambiente: la persona o el animal se comportan de una manera particular para obtener algo deseado o evitar algo desagradable. Esta conducta es inicialmente emitida más que provocada. Dichas acciones se denominan conductas operantes (Myers, 2007).

El psicólogo Edward Lee Thorndike, el primer investigador que estudio la conducta operante de manera sistemática, uso una “caja problema” para determinar cómo aprenden los gatos. Su trabajo permanece como un hito de la comprensión de los efectos de los reforzadores y los castigos (Thorndike, 1898). En el condicionamiento operante, se utiliza el reforzador (como la entrega de la comida) para incrementar la probabilidad de que una respuesta particular vuelva a ocurrir en el futuro. Para reducir la probabilidad de que una respuesta particular vuelva a ocurrir se usan estímulos aversivos (como los castigos). Thorndike propuso la ley del efecto, que afirma que la conducta que es consistentemente recompensada quedará “estampada” como conducta aprendida en tanto que la conducta castigada de manera consistente desaparecerá (Thorndike, 1898).

Dentro del aprendizaje asociativo, existen varios paradigmas para su estudio, entre estos están: el miedo condicionado (LeDoux, 2001; Quirk et al., 1995) y el condicionamiento de aversión al sabor (Berman & Dudai, 2001). En estos paradigmas, los animales aprenden una asociación entre un estímulo condicionado y un estímulo incondicionado aversivo. Ambos sirven como ejemplos de condicionamiento pavloviano o clásico y dan como resultado una memoria fuerte y duradera, además, se conocen cuáles son las vías neuroanatómicas que comprenden estos aprendizajes (Sweatt, 2010).

1.2. Tipos de memoria

Como en el caso del aprendizaje, la memoria puede tener diferentes definiciones. Por mencionar un ejemplo, Dudai en 2002 menciona algunas definiciones de memoria, de las cuales, en una de ellas indica lo siguiente: la memoria es la retención a lo largo del tiempo de una experiencia, lo cual es dependiente de representaciones internas o de la capacidad de reactivar o reconstruir sobre dichas representaciones. Sweatt en 2010 define a la memoria como los procesos a través de los cuales se almacena la información aprendida.

Comúnmente, la memoria se puede clasificar en dos tipos, dependiendo del tiempo de almacenamiento de la información: memoria de corto plazo (MCP) y memoria a largo plazo (MLP), las cuales, a su vez se subdividen en más categorías de acuerdo con el tipo de información que almacenan (de trabajo, declarativa y no declarativa) (McGaugh, 1989; Sweatt, 2010; Purves et al., 2016) (Figura 2).

1.2.1. Memoria de corto plazo: Capacidad de mantener una cierta cantidad de información durante un breve periodo de tiempo que puede ir de segundos a minutos mientras se logra un objetivo particular (Purves et al., 2016).

a) Memoria sensorial: Es la habilidad para mantener experiencias durante fracciones de segundos (Purves et al., 2016). En esta memoria la información es percibida a través de cada uno de nuestros sentidos (la vista, el oído, el olfato, el gusto y el tacto) e ingresa a través de las cortezas sensoriales del cerebro (Brewin, 2014). Los tipos de memoria sensorial más ampliamente estudiados son; la memoria ecoica que se refiere al almacén sensorial auditivo y la memoria icónica que se refiere al almacén visual (Sweatt, 2010).

b) Memoria de trabajo: Se refiere específicamente al tipo de sistema de memoria utilizado para almacenar información durante períodos cortos de tiempo mientras se utiliza. Un ejemplo simple es hacer cálculos aritméticos usando números recordados (¿cuánto es 4×56 ?), al multiplicar mentalmente 4×56 es claramente una tarea de memoria diferente a simplemente recordar el número 224 durante unos segundos (Sweatt, 2010).

1.2.2. Memoria de largo plazo: Se refiere a la información que se almacena durante un periodo de tiempo que puede ir de días, semanas o incluso durante toda la vida. La memoria de corto plazo con una importancia particular puede entrar en la memoria a largo plazo por medio de la práctica (Purves et al., 2016). Comúnmente se divide en declarativa o explícita y en memoria no declarativa o procedimental, también conocida como implícita (Purves et al., 2016; Sweatt, 2010) (Figura 2).

a) Memoria declarativa o explícita: La peculiaridad de este tipo de memoria es que es fácil de expresar de forma verbal y escrita; de ahí que se identifique con el nombre de memoria declarativa. Su expresión es consciente, se adquiere en uno o en pocos ensayos, es cambiante y flexible (Graf & Schacter, 1985). Se divide en memoria episódica, que se refiere a aquella relacionada con recuerdos de eventos y episodios experimentados personalmente; y en memoria semántica, que se refiere a los recuerdos de hechos y conceptos específicos (por ejemplo, nombre de países, animales y presidentes de un país, meses del año, etc.) (Robertson, 2002; Sweatt, 2003).

b) Memoria no declarativa o procedimental: La memoria implícita, también llamada de procedimiento, se puede definir como el proceso mediante el cual se adquiere la información compleja y abstracta en cualquier lugar y que no depende de la “conciencia”. Este sistema de memoria permite al individuo realizar hábitos de tipo cognitivo y motor. Se trata de una memoria de adquisición gradual, automática, con la capacidad de perfeccionarse con la práctica y, sobre todo, difícil de verbalizar (Reber et al., 1991). La memoria implícita, se divide en cuatro subcategorías que corresponden con la memoria de habilidades, el priming, aprendizajes asociativos y la memoria a aprendizajes no asociativos (Robertson, 2002; Sweatt, 2003).

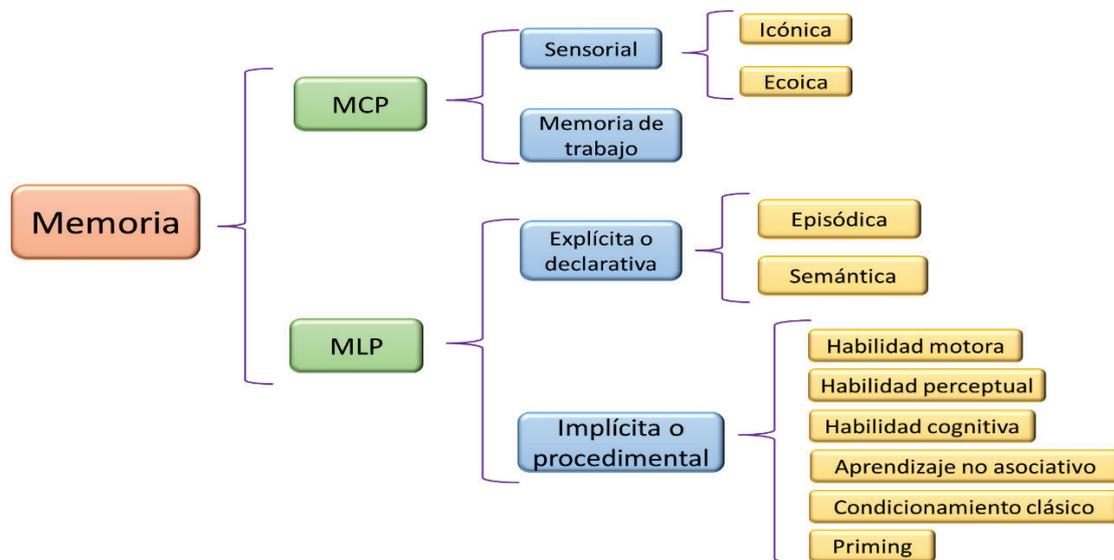


Figura 2. Categorías principales de la memoria. Típicamente la memoria se divide en MCP y MLP, contemplando la memoria sensorial y la de trabajo dentro de la MCP. Dentro de la MLP se encuentra la memoria declarativa y no declarativa, también conocidas como memoria explícita e implícita, respectivamente (Modificado de Purves; 2016 y Sweatt, 2010).

En el estudio de la memoria y el aprendizaje, el proceso se puede dividir en tres fases; 1) adquisición: proceso por el cual la información nueva se incorpora y procesa en el sistema nervioso, mediada a través de los estímulos sensoriales; 2) consolidación: proceso por el cual la información adquirida (memoria de corto plazo) se mantiene e incorpora a una memoria de largo plazo, la cual es estable y resistente a cualquier interferencia; 3) evocación: proceso mediante el cual la información previamente procesada y almacenada, es recuperada (extraída) y expresada en la forma de una conducta determinada cuando se necesita (Myers, 2007).

Para que pueda darse el aprendizaje se requiere memoria; de hecho, podría decirse que son dos caras de la misma moneda. El cambio en la conducta, cuando es más o menos permanente, ha de estar almacenada en algún lugar, ese almacenamiento es la memoria. Además, siempre que se estudia la memoria se hace con relación a un cambio: algo que el organismo ha aprendido o ha dejado de hacer. En este sentido, la memoria es consecuencia de los cambios que se observan en el comportamiento, resultados a su vez de la experiencia y del aprendizaje (Sweatt, 2010).

Sabiendo que la memoria y el aprendizaje son dos procesos cognitivos que no pueden ir separados, ya que los dos originan cambios adaptativos en la conducta, nos enfocaremos en un tipo de memoria especial, la memoria gustativa.

1.3. Memoria gustativa

La alimentación es un comportamiento esencial que influye de manera significativa en la capacidad de supervivencia que posee un organismo. Este comportamiento es influenciado por diversas señales, dentro de las que se incluyen los estímulos sensoriales relacionados a los alimentos, por lo que percibir las sustancias químicas en ellos es sumamente importante en la conducta alimentaria. Debido a esto, el aprendizaje del gusto adquiere un papel relevante en esta conducta, por lo que se le reconoce como un tipo de aprendizaje robusto y adaptativo a lo largo de la evolución (Bermúdez-Rattoni et al., 2004; Bures et al., 1998).

1.3.1. Percepción del sabor

Los humanos, las ratas y los ratones son omnívoros y gracias a que tienen en común muchas de las características básicas del sistema gustativo, se ha facilitado el estudio de la alimentación y el sistema gustativo en estos modelos murinos (Breslin, 2013; Matsunami et al., 2000; Nowlis et al., 1980).

Algo importante a mencionar es que se debe hacer una distinción entre el gusto y el sabor, ya que mientras el gusto es meramente una experiencia química que incluye las cualidades básicas: dulce, ácido, amargo, salado, umami y graso (Morris & Maisto, 2005), el sabor surge de una combinación compleja entre el gusto, olfato, temperatura y textura de los alimentos (Bartoshuk & Duffy, 2005). Debido a la interacción existente entre el gusto y el sabor, la experiencia placentera o de desagrado, así como la discriminación que hace el individuo entre los alimentos, se basa no solo en el gusto, sino también en el sabor (Schier & Spector, 2019).

El gusto comienza con la interacción entre las sustancias químicas de los alimentos y las papilas gustativas, estas son protuberancias especializadas en forma de cebolla que se componen de alrededor de 100 células gustativas y se encuentran alojadas en la lengua. Las papilas gustativas se encargan de detectar y transducir la información química. La mayoría de ellas se localizan en la punta, los lados y la parte posterior de la lengua, sin embargo, también son encontradas en el

paladar blando, esófago y la epiglotis (Bartoshuk, 1993; Gutierrez, & Simon, 2021; Ma et al., 2007).

Una vez que se ingieren los alimentos, las sustancias químicas de estos se disuelven en la saliva y caen en las grietas entre las papilas gustativas entrando en contacto con los receptores del gusto, llamados células receptoras del gusto (TRC, por sus siglas en inglés) lo que inicia la transducción de señales hasta el cerebro (Roper, 2007; Gutierrez, & Simon, 2021). En humanos, un adulto posee aproximadamente diez mil papilas gustativas, las cuales van disminuyendo con la edad, hecho que explica en parte por qué los ancianos a menudo pierden el interés por la comida (Bartoshuk, 1993). Por otro lado, las papilas gustativas de las ratas poseen alrededor de 68 TRC y los ratones alrededor de 86 (Ma et al., 2007).

En suma, no solo el hambre, la saciedad y las señales viscerales influyen y son influencias por el sabor de los alimentos, sino que también las señales químicas de estos, así como la memoria gustativa, la atención, las emociones y las expectativas pueden dar forma a la experiencia de la degustación. Este nivel de complejidad perceptual e integración psicofisiológica surge de la intrincada interacción entre las vías gustativas, sensoriales, viscerales y límbicas (Vincis & Fontanini, 2019).

1.3.2. Aprendizaje al sabor

Durante el proceso de aprendizaje del gusto, ya sea apetitivo o aversivo, son importantes las consecuencias de la ingestión, lo que a su vez determinará el tipo de memoria formada (Núñez-Jaramillo et al., 2010). Ahora bien, la adecuada identificación y selección de alimentos se debe en gran medida a la memoria gustativa, la cual incluye diversos componentes como el reconocimiento gustativo, así como características relacionadas al valor hedónico de los alimentos, la familiaridad y las características nutritivas o tóxicas asociadas al gusto (Núñez-Jaramillo et al., 2010).

Cuando un animal se encuentra con estímulos amenazantes y aversivos, la respuesta conductual es inmediata y conlleva a que “se inmovilice/paralice”; cuando el animal se expone a estímulos apetitosos y gratificantes, la respuesta es de acercamiento y exploración. Así, estas respuestas conductuales dan forma al comportamiento futuro promoviendo las habilidades de supervivencia del organismo. La ingesta es un aprendizaje adaptativo que poseen los animales, ya que el

consumo de los alimentos garantiza su sobrevivencia, y se determinan posibles errores en la elección de la comida que prueban, pues estas malas elecciones podrían ocasionar daños irreparables o la muerte (Justel, & Ruetti, 2012). Para una correcta discriminación se deben diferenciar entre estímulos que les resulten familiares y los que son novedosos para así poder determinar qué información requiere ser procesada para su codificación a largo plazo (Bures et al., 1998; Domjan, 1976; Mickley et al., 2000).

El reconocimiento del sabor es un buen modelo para estudiar los procesos de aprendizaje y memoria, tanto asociativos como no asociativos, así como los diferentes estadíos implicados en ella, por ejemplo, la codificación, almacenamiento y recuerdo (evocación) (Bermúdez-Rattoni et al., 2004). Al consumir un sabor nuevo se genera una respuesta inicial de neofobia (miedo característico a los nuevos alimentos), que es un comportamiento innato útil para evitar la ingesta de sustancias tóxicas, y asegura que los animales ingieran solo pequeñas cantidades, como si quisieran probar el alimento para determinar si es seguro comerlo, resultando entonces que la presentación del sabor novedoso no conlleva consecuencias aversivas para el animal, y en primera instancia, los animales rechazan o consumen poco la solución novedosa, si luego de la ingesta no hay consecuencias negativas, el sabor (alimento) se vuelve más “familiar”, y no se asocia con consecuencias aversivas, así los sujetos aumentan gradualmente su ingesta (consumirá más en futuros encuentros). Este fenómeno es conocido como atenuación de la neofobia (Sweatt, 2010). Por el contrario, si el consumo va acompañado por consecuencias negativas (aversivas: toxicidad, malestar intestinal) será reconocido como aversivo y será rechazado en futuras ocasiones, este aprendizaje se denomina condicionamiento de aversión al sabor (CAS), es decir, si el animal desarrolla una enfermedad, se produce una aversión al gusto condicionada, y este alimento se evitará en encuentros futuros (Núñez-Jaramillo et al., 2010; Sweatt, 2010).

Por lo tanto, la preferencia gustativa/aprendizaje apetitivo y el CAS son dos de los modelos más empleados para el estudio de la memoria gustativa. Estos modelos permiten estudiar de manera aislada las diferentes etapas de adquisición y consolidación de la memoria de un estímulo novedoso, además, permiten la evaluación de aspectos de recompensa o aversión por el mismo estímulo (Núñez-Jaramillo et al., 2010).

1.3.3. Aprendizaje aversivo al sabor

El Condicionamiento de Aversión al Sabor (CAS) es una asociación aprendida entre un sabor novedoso, que en primera instancia es apetitivo, de cierto alimento (estímulo condicionado, EC) y la sensación de náuseas o malestar gástrico (estímulo incondicionado, EI), que puede ser aprendido después de una única presentación de los estímulos (novedoso-aversivo), de esta manera se correlaciona que un sabor determinado es peligroso y los sujetos evitan consumir en el futuro, generando así una memoria duradera (García et al., 1956).

John García descubrió este fenómeno por accidente en una serie de experimentos sobre los efectos de la exposición a la radiación (García et al., 1956). Al exponer ratas en una cámara especial a altas dosis de radiación que las enfermaba, García se percató de que las ratas bebían cada vez menos agua cuando estaban en la cámara de radiación, aunque bebían normalmente en sus jaulas “hogar”. García se dio cuenta de que las botellas de agua en la cámara de radiación eran de plástico, lo que posiblemente daba al agua un sabor diferente a comparación del agua contenida en botellas de vidrio en las jaulas hogar. Hipotetizó que el sabor del agua de las botellas de plástico había funcionado como un estímulo condicionado (EC) que las ratas asociaron con la radiación (EI); como resultado de este condicionamiento, el agua con sabor a plástico hacía que las ratas se sintieran enfermas (respuesta condicionada, RC).

El condicionamiento clásico por lo general requiere de muchas presentaciones del EC y el EI con un intervalo corto entre la aparición de ambos. Pero, el CAS ocurre después de una sola exposición a una mala experiencia (Braveman y Bronstein, 1985; Brooks et al., 2003; Cheste et al., 2003).

García atribuye a que el CAS es un aprendizaje rápido y duradero debido a la evolución: el aprendizaje rápido de combinaciones entre sabor-aversión incrementa las oportunidades de sobrevivir del animal obteniendo así un balance de energía y sustancias para las funciones vitales en el organismo. Por ejemplo, las ratas son carroñeras; mordisquearán casi cualquier cosa, por lo que es muy probable que entren en contacto con comidas potencialmente tóxicas. Tiene sentido que, a lo largo de miles de generaciones, en general los seres vivos, hayan desarrollado un sistema nervioso que es especialmente eficiente para recordar combinaciones sabor-aversión (García & Keolling, 1966).

Los seres humanos, como todos los animales, también desarrollan aversiones a la comida con base en diversas señales, incluyendo el sabor, la apariencia y el olor. De hecho, la respuesta de aversión condicionada está tan arraigada que incluso cuando sabemos que una comida particular no nos enfermó, aun así, tendemos a formar una aversión hacia la comida que consumimos antes de enfermarnos. Por ejemplo, un psicólogo describió una cena en la que él y varios invitados más contrajeron un virus intestinal que dejó a muchos de ellos con una aversión hacia el pollo con estragón (el plato principal) o hacia cualquier comida con estragón (Mazur, 1994). Aunque sabían que el pollo con estragón no era la fuente de su enfermedad no pudieron vencer la poderosa respuesta condicionada.

De esta manera, debe haber una retroalimentación eficiente entre las propiedades de los alimentos ingeridos y las consecuencias (efectos tóxicos o valores nutricionales) de su ingestión. Los procesos de aprendizaje que conllevan a la asociación de la ingesta de un alimento y sus consecuencias tienen propiedades sensoriales mediatas e inmediatas de consumir dicho alimento (sabor), resultando así en una serie de discriminaciones de productos comestibles y de los que no lo son (Bures *et al.*, 1998).

Una característica que hace del CAS un aprendizaje asociativo es la presencia de un EC que sería el sabor (nuevo), el cual es seguido de la presentación de un EI (aversivo), provocando una respuesta visceral que acuñe a un malestar gastrointestinal, generando un rechazo al nuevo sabor presentado (Bermúdez-Rattoni & Prado, 2001). Por lo general, en modelos experimentales se suele usar sacarina o azúcar en disolución como estímulo novedoso, y como estímulo aversivo comúnmente se ocupa el cloruro de litio inyectado por vía intraperitoneal (i.p.) (Bures *et al.*, 1998).

Un aspecto interesante del CAS es el largo intervalo entre el EC-EI (Dudai, 2002), ya que, a diferencia de otros paradigmas de aprendizaje asociativo, como el condicionamiento de miedo, el intervalo de tiempo entre EC-EI es típicamente del orden de segundos (Dudai, 2002; McGaugh, 1989). En el CAS, este intervalo (interestímulo) puede tolerar retrasos de horas (1-4 horas) entre la ingesta del sabor (EC) y la toxina (EI), tiempo en el que se puede alcanzar una correcta asociación entre los dos estímulos (Sweatt, 2010).

En resumen el CAS, como se ha mencionado antes, es utilizado para estudiar los procesos de formación de la memoria, pues presenta ciertas ventajas sobre otros paradigmas: no requiere de aparatos para su estudio ya que solo se necesita el alimento sólido o líquido y el agente irritante

que puede estar contenido en una jeringa, requiere un solo ensayo para la asociación del EC-EI, obteniendo así una rápida adquisición del EC, resultando en la formación de una memoria a largo plazo, además de que es altamente reproducible, se conocen las rutas estructurales involucradas en este tipo de aprendizaje (Bures *et al.*, 1998; Dudai, 2002).

a) Extinción del condicionamiento de aversión al sabor

Se entiende por extinción como: un decremento en la fuerza o en la frecuencia de una respuesta aprendida a causa de no continuar el apareamiento del EI y el EC (condicionamiento clásico) o de retener el reforzamiento (condicionamiento operante) (Morris & Maisto, 2005). Por lo que, se supone que refleja un reaprendizaje en lugar de un desaprendizaje (Berman & Dudai, 2001).

En este sentido, después de haber aprendido el CAS, sí se vuelve a presentar el alimento, pero sin la asociación posterior de malestar gástrico, va a provocar una reducción de la aversión condicionada al alimento o sustancia en cuestión. Por lo que conduce a un aumento del consumo del alimento que anteriormente se asoció al malestar gástrico. La extinción se considera completada cuando el consumo del alimento (asociado al malestar gástrico) es similar al consumo de cuando el alimento no fue asociado al malestar gástrico (Núñez-Jaramillo *et al.*, 2010), es decir, que los sujetos durante la fase de la extinción aprenderán que el EC (alimento) no les produce malestar gástrico, por lo que se puede restaurar la respuesta condicionada inicial (Berman, 2003).

b) Excitotoxicidad y condicionamiento de aversión al sabor

En muchos estudios se ha utilizado la herramienta de lesión excitotóxica para poder identificar las regiones funcionales durante diferentes tareas de aprendizaje, la cual actúa sobre la estimulación de los receptores para el neurotransmisor glutamato. El glutamato proporciona la mayor parte de la neurotransmisión excitadora rápida en el SNC y excita prácticamente todas las neuronas. El glutamato es el principal mediador de la información sensorial, la coordinación motora, las emociones y la cognición, incluida la formación y recuperación de la memoria. Hasta el 80-90% de las neuronas del cerebro usan glutamato como su neurotransmisor, y aproximadamente el 80-90% de las sinapsis en el cerebro son glutamatérgicas (Braitenberg & Schütz, 1998).

Existen diversos modelos de lesiones cerebrales que permiten estudiar los mecanismos subyacentes de la lesión en el tejido cerebral afectado, dentro de estas técnicas utilizadas se encuentra la excitotoxicidad. La excitotoxicidad es un proceso en el cual la sobreactivación (transmisión sináptica prolongada) de los receptores postsinápticos de glutamato, da lugar a una despolarización prolongada de las neuronas, permitiendo una entrada masiva de Ca^{2+} al interior de la célula principalmente a través de los receptores tipo NMDA sensibles a Ca^{2+} , desencadenando la activación no controlada de procesos dependientes de Ca^{2+} que pueden producir radicales libres que son tóxicos para la célula, lo cual eventualmente produce la muerte neuronal a través de diferentes procesos como apoptosis, autofagia y necrosis (Arundine & Tymianski, 2003; Maycotte & Morán, 2007).

Normalmente, la concentración de glutamato liberado en la hendidura sináptica se eleva hasta niveles de aproximadamente 1 mM, pero se mantiene en esta concentración solo durante algunos milisegundos, si una concentración tan grande (anormal) se acumula, la activación excesiva de los receptores de glutamato puede sobreexcitar a las neuronas hasta llegar a matarlas (Bittigau & Ikonimidou, 1977).

En este sentido, Bermúdez-Rattoni y McGaugh lesionaron la corteza insular administrando $10\mu\text{g}/\mu\text{l}$ de NMDA (N- metil- D- aspartato), un agonista del neurotransmisor de glutamato con el propósito de observar los efectos de la lesión en la corteza insular y su implicación sobre el aprendizaje del CAS. Ellos demostraron que la dosis utilizada produjo pérdida de neuronas y gliosis extensa en el tejido cerebral, e interrumpió el aprendizaje del CAS cuando lo administraron días antes de la adquisición de esta tarea (Bermúdez-Rattoni & McGaugh, 1991).

1.3.4. Inhibición latente

Otro modelo que también se utiliza con frecuencia para evaluar la memoria gustativa es la inhibición latente (IL). Edward Chace Tolman, uno de los pioneros en el estudio del aprendizaje cognoscitivo, argumentaba que no necesitábamos exhibir nuestro aprendizaje para que éste ocurriera. Tolman, en 1930, llamó *aprendizaje latente* al aprendizaje que no es aparente porque todavía no se demuestra. Sostenía que en algunos casos el aprendizaje está almacenado de algún modo, y sólo en el preciso momento en que fuera necesario, los sujetos lo demuestran al realizar tareas nunca practicadas. Tolman sostenía que esto era gracias a la existencia de mapas

cognoscitivos o imágenes mentales aprendidas, que pueden evocarse para resolver problemas cuando las condiciones ambientales lo requieren (McGaugh, 1989; Tolman & Honzik, 1930).

Lubow y Moore (1959), utilizaron el concepto de aprendizaje latente en una tarea clásica con cabras. Demostraron que cuando los animales se exponían previamente a un estímulo, disminuía la capacidad de asociarlos con algún otro en el futuro, a este fenómeno le llamaron *inhibición latente*. Consecuentemente, la preexposición no reforzada a un cierto estímulo conlleva un cierto tipo de aprendizaje, debido a que se vuelve familiar y esta familiaridad resulta en que se le presta menor atención al estímulo, reduciendo la probabilidad de una posible asociación futura con otro estímulo (Lubow et al., 1981; Mackintosh, 1971).

Por lo tanto, la inhibición latente (IL) es la disminución en la capacidad de asociar un estímulo determinado con algún otro, debido a la preexposición no reforzada (familiaridad) de dicho estímulo (Gray & Snowden, 2005; Lubow, 2005; Moser *et al.*, 2000; Schmajuk, 2005).

Dicho de otra manera, la IL se refiere a la capacidad de la experiencia previa para suprimir (inhibir) un nuevo aprendizaje. Lo "latente" en la inhibición latente se refiere al atributo de que el proceso no es experimentalmente observable o demostrable hasta que se observa una falla de aprendizaje en una prueba posterior (Sweatt, 2010). La disminución de la capacidad de acondicionamiento de la IL se explica por la interferencia con el procesamiento de los estímulos que, en el pasado, demostraron ser insignificantes y da como resultado una incapacidad para adquirir una nueva asociación con tales estímulos (Bures et al., 1998).

1.3.4.1. Inhibición latente del condicionamiento de aversión al sabor

La inhibición latente de la memoria gustativa aversiva (IL-CAS), se logra con una sola exposición previa al sabor, días o semanas antes de la adquisición de CAS. Dado que la memoria gustativa ya se ha formado durante la exposición previa, la fuerza de la memoria gustativa aversiva, (medida como una disminución en el consumo) será menor que un CAS normal inducida sin exposición previa al sabor (Berman et al., 2000; Revusky & Bedarf, 1967), es decir, se forma una memoria "latente" del sabor, que inhibe la formación posterior de una asociación (aprendizaje nuevo) con un agente tóxico (Sweatt et al., 2010).

En resumen, la IL-CAS se da cuando los animales son preexpuestos a un estímulo gustativo (sacarina, sacarosa) y este no es seguido (asociado) de algún estímulo aversivo (cloruro de litio, o algún otro que genere CAS), es decir, la preexposición sin una consecuencia asociada es suficiente para generar una IL-CAS. Además, se ha demostrado que un modelo para poder estudiar las modificaciones que puede haber en el condicionamiento de aversión al sabor es la IL (Revusky & Bedarf, 1967).

Recientemente en nuestro laboratorio hemos encontrado un modelo para evaluar el impacto que tiene la familiarización del azúcar con nuevos aprendizajes (IL). Se demostró que, en ratas adultas, los efectos del consumo a largo plazo (14 a 21 días) de agua azucarada al 10% indujo un incremento significativo en la IL-CAS, y que la preferencia del sabor sobre el nuevo aprendizaje aversivo, es decir, la IL de la aversión condicionada al gusto (IL-CAS) se recupera rápidamente durante los siguientes 3 días (por ejemplo, extinciones de CAS), lo que indica que el consumo de azúcar a largo plazo acelera significativamente la extinción de la memoria aversiva durante el reaprendizaje apetitivo. Proporcionando así, evidencia que sugiere que la exposición a largo plazo al azúcar podría desencadenar un consumo creciente debido a la incapacidad de aprender nuevas consecuencias negativas relacionadas con el mismo sabor, como las consecuencias de su ingestión (Vera-Rivera et al., 2020).

Dentro de este modelo, en nuestro laboratorio se demostró que el bloqueo de los receptores β -adrenérgicos con propranolol o la activación de los receptores dopaminérgicos con apomorfina aumentó la inhibición latente del CAS y aceleró la extinción de la memoria aversiva de los receptores dopaminérgicos en la corteza prefrontal medial (mPFC) después de 21 días de consumo de azúcar afectó la IL-CAS (Caynas-Rojas et al., 2019).

1.3.5. Estructuras involucradas en la formación de la memoria del sabor

La información percibida del sabor tanto apetitiva como aversiva, dependen de varias estructuras anatómicas (Figura 3, flechas color azul) para que trabajen en conjunto en su procesamiento, dando lugar a lo que se conoce como la vía de la memoria del sabor (Gutiérrez et al., 2003).

En general, la información procesada en las papilas gustativas se transmite a las fibras aferentes de tres nervios craneales, el facial (CN-VII), el glossofaríngeo (CN-IX) y el vago (CN-X). Los cuerpos celulares de estas fibras aferentes están ubicados en los ganglios de los nervios

craneales, cuyas ramas centrales ingresan al sistema nervioso central por el tronco del encéfalo (Vincis & Fontanini, 2019). Cabe mencionar que, las papilas gustativas en los dos tercios anteriores de la lengua y el paladar están inervadas por los nervios corda tympani (CT) y petroso superior mayor (GSP), respectivamente, ambas ramas del CN-VII. Por otro lado, las células del tercio posterior de la lengua están inervadas por la rama lingual del CN-IX, el nervio glossofaríngeo (GL). Las escasas papilas gustativas ubicadas en el epitelio laríngeo están inervadas por la rama laríngea superior del CN-X (Contreras et al., 1982; Hamilton & Norgren, 1984; May et al., 2007).

Estas tres aferentes hacen su primera sinapsis central en la cara rostral del núcleo del tracto solitario (rNTS) ubicado en el tronco encefálico. Las ramas del CN-VII (CT y GSP), que proporcionan información desde la parte anterior de la lengua y el paladar, respectivamente, terminan en el polo más rostral del rNTS (Lasiter, 1992).

Las neuronas que surgen del rNTS tienen dos vías de salida principales (Halsell et al., 1996; Lasiter & Kachele, 1988; Norgren, 1978; Norgren & Leonard, 1971; Norgren & Leonard, 1973). El primero es a sitios que están involucrados en los reflejos oromotores, salivales y digestivos, como la formación reticular (RF), NTS caudal y los núcleos salivales. La segunda vía constituye el sistema gustativo ascendente y, en roedores, estas neuronas se proyectan hacia otras que responden al gusto situadas en las subdivisiones lateral y medial del núcleo parabraquial (PBN) (Di Lorenzo & Monroe, 1997; Halsell & Travers, 1997; Herbert et al., 1990).

Del núcleo parabraquial medial (mPBN) emergen dos vías aferentes gustativas principales que se proyectan al cerebro anterior: la vía del prosencéfalo ventral y la vía talamocortical (Fulwiler & Saper, 1984; Hajnal & Norgren, 2005; Holtz et al., 2015; Karimnamazi & Travers, 1998; Lasiter et al., 1982; Norgren & Leonard, 1973). Las proyecciones ventrales, a veces llamadas vía límbica, terminan en áreas del cerebro que se sabe que están involucradas con la alimentación, la bebida y la recompensa/hedónica, esto incluye el hipotálamo lateral (LH), el núcleo central de la amígdala (CeA), la amígdala basolateral (BLA), el núcleo del lecho de la estría terminal (BNST) y la sustancia innominada (SI). A pesar de que se han estudiado ampliamente estos circuitos, existe una proyección que va desde el PBN al área tegmental ventral (VTA), región del cerebro considerada tan crítica en el sistema de recompensa mesolímbico, que no ha sido ampliamente documentada, pero un informe reciente sugirió que tal vía de salida puede existir en ratones (Tokita et al., 2010).

Participación diferencial de la habénula lateral durante la formación de la memoria de aversión al azúcar y durante la inhibición latente inducida por la familiarización a este sabor

La vía talamocortical es el relevo tradicional a la corteza gustativa (GC), en el cual se ha documentado que del mPBN existen neuronas que se proyectan a la subdivisión parvicelular del núcleo ventroposteromedial (VPMpc) del tálamo (Norgren & Leonard, 1973; Tokita & Boughter, 2016; Voshart & Van Der Kooy, 1981), y luego estas neuronas talámicas, a su vez, se proyectan a las subdivisiones de la corteza insular (CI) (Kosar et al., 1986; Norgren & Wolf, 1975).

Major ascending projections of the gustatory and visceral systems

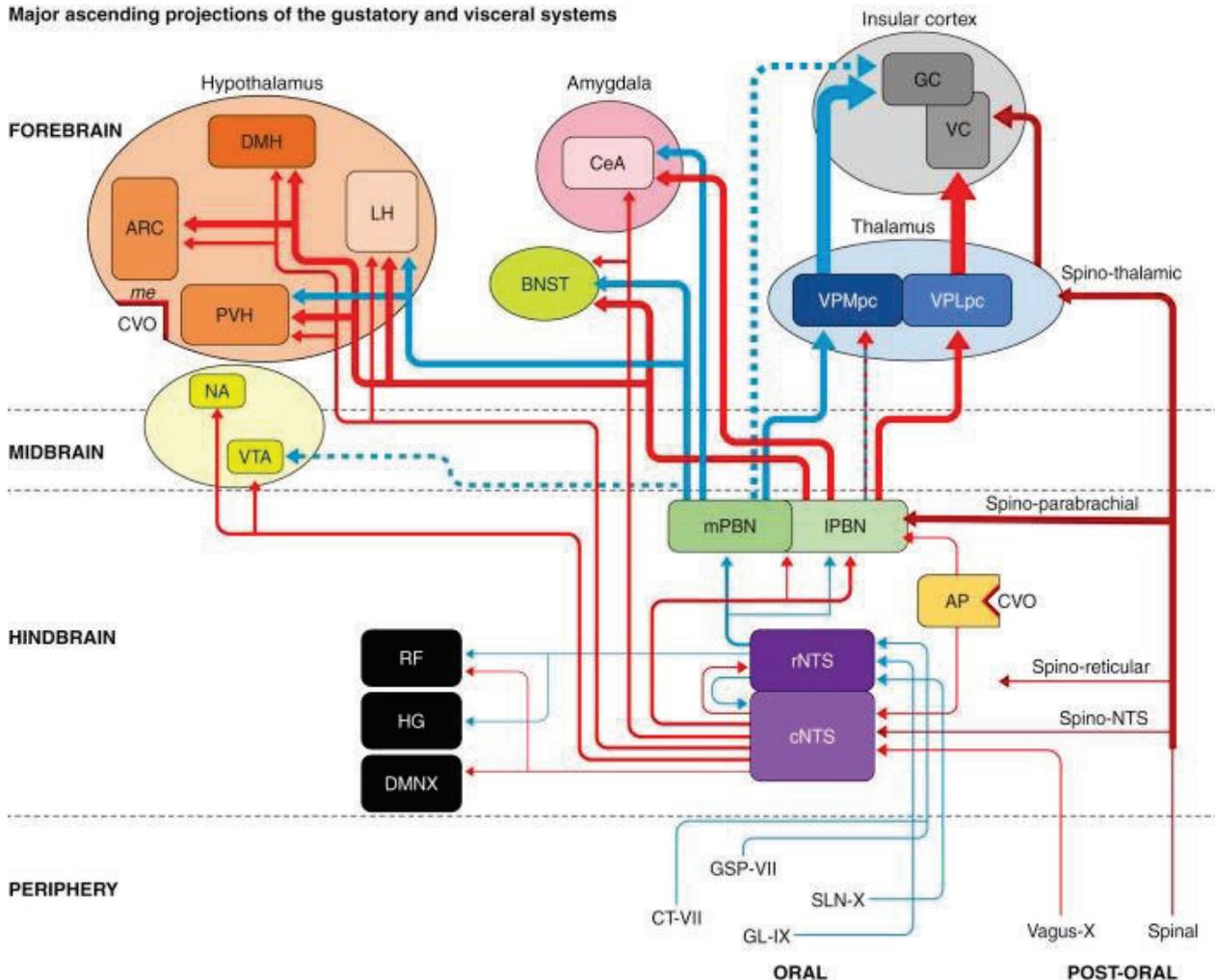


Figura 3. Representación de las vías neuronales ascendentes gustativas y viscerales durante el procesamiento del sabor. Las líneas azules representan las vías gustativas putativas. Las líneas rojas representan las vías viscerosensitivas. Las líneas rojo oscuro representan vías aferentes espinales viscerales. Se puede apreciar la enorme organización topográfica que conlleva el procesamiento de un estímulo apetitivo o aversivo. CT, cuerda del tímpano; GSP, petroso superficial mayor; GL, glossofaríngeo; SLN, nervio laríngeo superior; DMNX, núcleo motor dorsal del vago; HG, núcleo hipogloso; NA, núcleo accumbens; VTA, área tegmentaria ventral; ARC, núcleo arqueado; CVO, órganos circunventriculares; PVH, núcleo paraventricular; DMH, núcleo dorsomedial; BNST, núcleo del lecho de la estría terminal; LH, hipotálamo lateral; BLA, amígdala basolateral; AP, área postrema; me, eminencia media; RF,

Participación diferencial de la habénula lateral durante la formación de la memoria de aversión al azúcar y durante la inhibición latente inducida por la familiarización a este sabor

formación reticular; CeA, amígdala central; GC, corteza gustativa; VC, corteza visceral (Modificado de Schier & Spector, 2019).

1.3.6. Vías viscerales

Dado que gran parte del procesamiento y, en última instancia, las respuestas a las propiedades gustativas de un alimento dependen de las consecuencias viscerales asociadas, la comprensión de la organización de la función gustativa requiere también la consideración del sistema visceral. Desafortunadamente, en la actualidad, nuestra comprensión de la organización anatómica y funcional del sistema viscerosensorial, especialmente en los niveles superiores de esta vía, aún son muy pocos (Schier & Spector, 2019).

Las vísceras abdominales involucradas en la asimilación de alimentos están inervadas por dos nervios principales: el nervio vago, con sus cuerpos celulares en los ganglios nodosos y los nervios espláncnicos, con sus cuerpos celulares en los ganglios de la raíz dorsal espinal (Berthoud et al., 2004). En conjunto, estos nervios forman el sistema aferente visceral general. De tal manera que, las aferencias vágales proporcionan información sensorial para el manejo de nutrientes y las aferencias espláncnicos parecen estar más involucrados en la detección del dolor y la inflamación (Schier & Spector, 2019).

Las aferencias vágales se dividen en dos amplias submodalidades: mecanorreceptores y quimiorreceptores. Los mecanorreceptores vágales terminan en el músculo liso del esófago, el estómago y los intestinos proximales y responden principalmente a la distensión de baja intensidad, como se experimenta durante el llenado y vaciado normal que ocurre con una comida (Ozaki et al., 1999). Los quimiorreceptores en los segmentos proximales del tracto gastrointestinal detectan las propiedades químicas de los alimentos ingeridos (Berthoud et al., 1995; Powley et al., 2011).

La mayoría de las aferencias vágales (Figura 3, flechas color rojo) se proyectan al NTS caudal (cNTS) y, en menor medida, y al área postrema (AP) (Norgren & Smith 1988; Altschuler et al., 1989). El AP detecta factores circulantes en la sangre, incluidas las toxinas y señales metabólicas, estas señales transmitidas por la sangre también se detectan en los órganos circunventriculares (CVO) del prosencéfalo. Las neuronas del AP, a su vez, se proyectan al cNTS y al núcleo parabraquial lateral (IPBN); mientras que algunas proyecciones del cNTS se dirigen a los núcleos

motores medulares, incluidos el núcleo motor dorsal del vago (DMNX) y el núcleo ambiguo (Shapiro & Miselis, 1985; Herbert et al., 1990).

Las neuronas viscerceptivas que se originan en el cNTS se proyectan hacia el prosencéfalo de dos maneras distintas. Una que comprende proyecciones directamente al rNTS, núcleos reflejos locales y al PBN medial y lateral dentro del rombencéfalo; también se proyectan a estructuras del cerebro anterior, incluidos varios núcleos hipotalámicos, amígdala, VTA, BNST, núcleo accumbens (NAc), por nombrar algunos (Ricardo & Koh, 1978; Rinaman, 2010; Rinaman & Schwartz, 2004). Dicho esto, la IPBN representa una retransmisión viscerceptiva importante para las señales que surgen del AP y la cNTS a los sitios del cerebro anterior (Saper & Loewy, 1980; Roman et al., 2016).

La otra vía llega a muchas de las estructuras del prosencéfalo antes mencionadas (hipotálamo, el BNST y la amígdala), pero a través de un relevo en el IPBN, de manera similar a las proyecciones gustativas que surgen del mPBN. Una segunda vía también surge del IPBN y se dirigen al tálamo parvicelular ventroposterolateral (VPLpc) y luego a la IC (Allen et al., 1991; Cechetto & Saper, 1987).

Por otro lado, las aferencias espinales del intestino (Figura 3, flechas color rojo oscuro) cruzan la línea media y ascienden hacia el SNC por varias rutas; por ejemplo, el tracto espinotalámico se proyecta directamente a varios subnúcleos dentro del tálamo y, desde allí, a varias estructuras corticales. Las neuronas en el tracto espinoparabraquial se proyectan a la IPBN, donde convergen y/o corren en paralelo con las neuronas viscerceptivas que originan cNTS y el AP (Menetrey & Basbaum, 1987; Menetrey & De Pommery, 1991).

A pesar del gran conocimiento que se tiene sobre las estructuras cerebrales que participan en el aprendizaje gustativo, están surgiendo funciones importantes de otros núcleos anatómicos que también se ha demostrado una participación en este tipo de memoria como por ejemplo de la corteza perirrinal (PC) y la corteza prefrontal medial (mPFC) (Divac et al., 1978; Kolb & Nonneman, 1975; Tassoni et al., 2000). Sin embargo, aún queda más por descubrir sobre estructuras que interactúan en la formación de la memoria gustativa aversiva.

1.4. Habénula lateral

La habénula (Hb), deriva de la palabra latín “*habena*”, que significa “pequeña rienda”, es una estructura pequeña y alargada (Yanez & Anadon, 1994), ubicada en el epítalamo, junto con la glándula pineal y la estría medular. Está rodeada por el tálamo y se ubica muy cerca de la línea media, rodeando el tercer ventrículo.

La Hb es una estructura filogenéticamente conservada que está presente en todos los animales vertebrados (Bianco & Wilson, 2009). Presenta dos subregiones principales en mamíferos: habénula medial (MHb) y habénula lateral (LHb), siendo un lado más grande que el otro respectivamente (Andres et al., 1999). En los vertebrados inferiores, la habénula a menudo se divide en habénula dorsal y habénula ventral, homólogas respectivamente a la habénula medial y lateral de los mamíferos (Bianco & Wilson, 2009). Se ha catalogado a la LHb en más subnúcleos, a menudo se considera que comprende divisiones medial y lateral de sí misma (Andres et al., 1999; Hikosaka, 2010).

Una característica importante y del por qué existen más estudios de la LHb es que en relación con la MHb, las neuronas de la LHb contienen arborizaciones dendríticas más elaboradas con espinas postsinápticas (Weiss & Veh 2011; Maroteaux & Mameli, 2012), lo que indica que sus neuronas integran información más diversa que las neuronas de la MHb (Mizumori & Baker, 2017).

Se ha propuesto que la función principal de la LHb es suprimir la actividad motora en condiciones muy adversas. Esta hipótesis consta de dos proposiciones: primero, el papel de la habénula es suprimir la actividad motora; y segundo, la habénula se activa en condiciones adversas. La evidencia de la primera proposición proviene del hallazgo de que la LHb ejerce una poderosa inhibición sobre las neuronas de dopamina. Como se cree que las neuronas de dopamina son un modulador clave del movimiento y la motivación del cuerpo, su inhibición inducida por LHb podría contribuir a la supresión de los movimientos del cuerpo y a la reducción de la motivación (Hikosaka, 2010). La segunda proposición, quizá necesita ser discutida con más detalle porque de esta proposición surgen funciones aparentemente diversas de la habénula. Las neuronas LHb son excitadas por estímulos aversivos, incluidos estímulos que inicialmente eran neutrales pero que han sido condicionados para predecir eventos aversivos (Hikosaka, 2010).

La LHb puede haber evolucionado conjuntamente para permitir que las percepciones sensoriales y dependientes de la memoria más complejas informen o afinen la capacidad de responder de forma adaptativa a los cambios de contexto (Mizumori & Baker, 2017). Sin embargo, la habénula parece haber conservado su mecanismo central, es decir, suprimir los movimientos corporales. Esto es probablemente lo que les ha sucedido a muchas otras áreas del cerebro: permanece un mecanismo central, pero las funciones que realiza en cierta área del cerebro varían según las conexiones que se le hayan agregado a lo largo del tiempo (Hikosaka, 2010). Por lo tanto, la Hb se considera esencial para permitir que los animales cambien sus respuestas según sea necesario cuando cambian los entornos y los estados motivacionales (Mizumori & Baker, 2017).

Las neuronas de la LHb extienden proyecciones particularmente fuertes a las neuronas GABAérgicas del mesencéfalo que a su vez, inhiben tanto a las neuronas dopaminérgicas, que codifican recompensa, como a las neuronas serotoninérgicas (Hong et al., 2011; Jhou et al., 2009a; Ji & Shepard, 2007; Kaufling et al., 2009; Lecca et al., 2011; Li et al., 2016; Varga et al., 2003), lo que implica que las señales de castigo de la LHb podrían suprimir el procesamiento de recompensas al dirigirse a los dos centros moduladores principales (Wang et al., 2017).

1.4.1. Conexiones de la habénula lateral

La Hb recibe información de los ganglios basales y el sistema límbico a través de la estría medular y envía la salida a las muchas áreas del mesencéfalo y a estructuras del prosencéfalo involucradas en la liberación de neurotransmisores como la dopamina y la serotonina (Herkenham & Nauta, 1979).

La LHb presenta conexiones de los ganglios límbicos y basales que pasan a través de la estría medular (figura 5) (Diaz et al., 2011), así como también una entrada de varias estructuras que transmiten información del estado interno (Baker et al., 2015; Baker et al., 2016; Baker et al., 2017). Por ejemplo, además de la entrada del septum y la banda diagonal de Broca (DBB), en el roedor, la LHb también recibe información del núcleo entopeduncular (EPN), o del globo pálido en primates, una estructura que proporciona información emocional y motivacional (Chavez-Martinez et al., 1987; Lütjens et al., 2011; Margules, 1971), también recibe información del hipotálamo lateral (LH) y el área preóptica lateral (LPO), involucrados en la atención y la excitación emocional, el aprendizaje de asociaciones entre las señales y la conducta de alimentación (Sohn et al., 2013; Cole et al., 2015), también recibe entradas de la corteza prefrontal

medial (mPFC), núcleo supraquiasmático (SCN), pálido ventral (VP), núcleo del rafe medio (MnR), el área tegmental ventral (VTA), núcleo supraquiasmático (SCN) y de la sustancia gris periacueductual (PAG) (figura 4) (Bianco & Wilson, 2009; Herkenham & Nauta, 1979; Lecourtier & Kelly, 2007; Mathis et al., 2017; Mizumori & Baker, 2017; Zahm & Root 2017; Zhang et al., 2009).

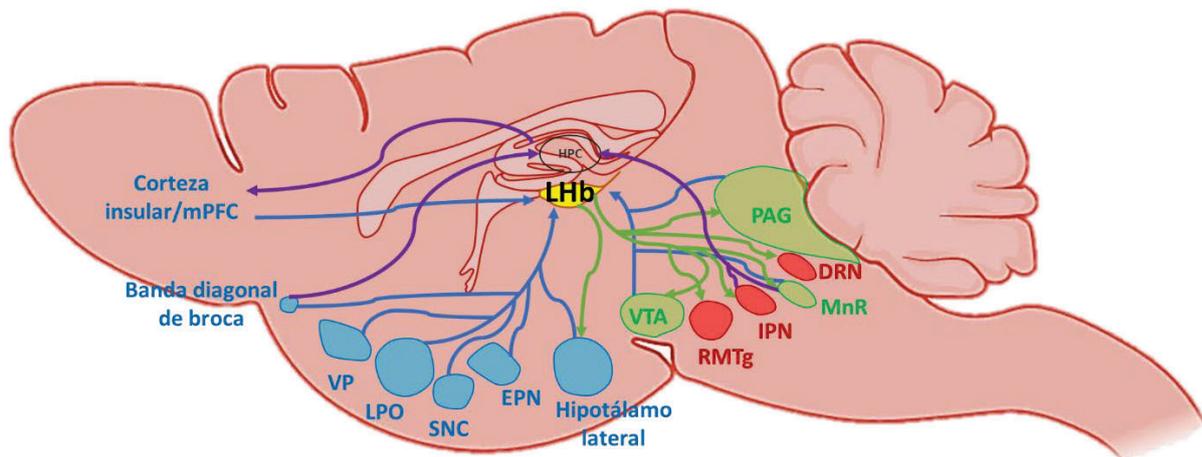


Figura 4. Conexiones aferentes y eferentes de la LHb. Las estructuras en azul comprenden las principales entradas de información sensorial, el estado interno y motivación a la LHb. Se pueden apreciar las salidas hacia otros núcleos neuronales, que en algunos comprende una bidireccionalidad de información. El MnR y el IPN proporcionan retroalimentación directa al hipocampo (HPC); corteza prefrontal (PFC), núcleo entopeduncular (EPN), núcleo supraquiasmático (SCN), banda diagonal de Broca (DBB), pálido ventral (VP), área preóptica lateral (LPO), hipotálamo lateral (LH), área tegmental ventral (VTA), tegmento rostromedial (RMTg), rafe medio (MnR), rafe dorsal (RD), núcleo interpeduncular (IPN) y gris periacueductal, (PAG, también conocido como gris central) (modificado de Mizumori & Baker, 2017).

Las salidas de LHb pasan a través del fascículo retroflexo (también conocido como tracto habénula-interpeduncular) (figura 5), de las cuales algunas se proyectan a las áreas del mesencéfalo que están involucradas en la liberación de dopamina (la sustancia negra pars compacta (SNc) y el área tegmental ventral) y serotonina (el núcleo del rafe medio (MnR) y el núcleo del rafe dorsal (DRN)) (Herkenham & Nauta, 1979; Ling & Li, 1995; Wang et al., 1980). Así como a otras estructuras de importancia funcional como son el LH, tegmento rostromedial (RMTg), núcleo interpeduncular (IPN) y PAG (FIGURA 2) (Bianco & Wilson, 2009; Groenewegen et al., 1986; Jhou et al., 2009b; Lecourtier & Kelly, 2007; Zahm & Root 2017). Esta compleja conectividad permite a la LHb integrar estados motivacionales y emocionales cruciales para la supervivencia (Hikosaka, 2010).

La conexión que presenta con la corteza prefrontal medial (mPFC) proporciona instrucciones para respuestas específicas de contexto a la Lhb, que evalúa hasta qué punto esta información de respuesta coincide con la motivación o el estado interno del individuo (Mizumori & Baker, 2017).

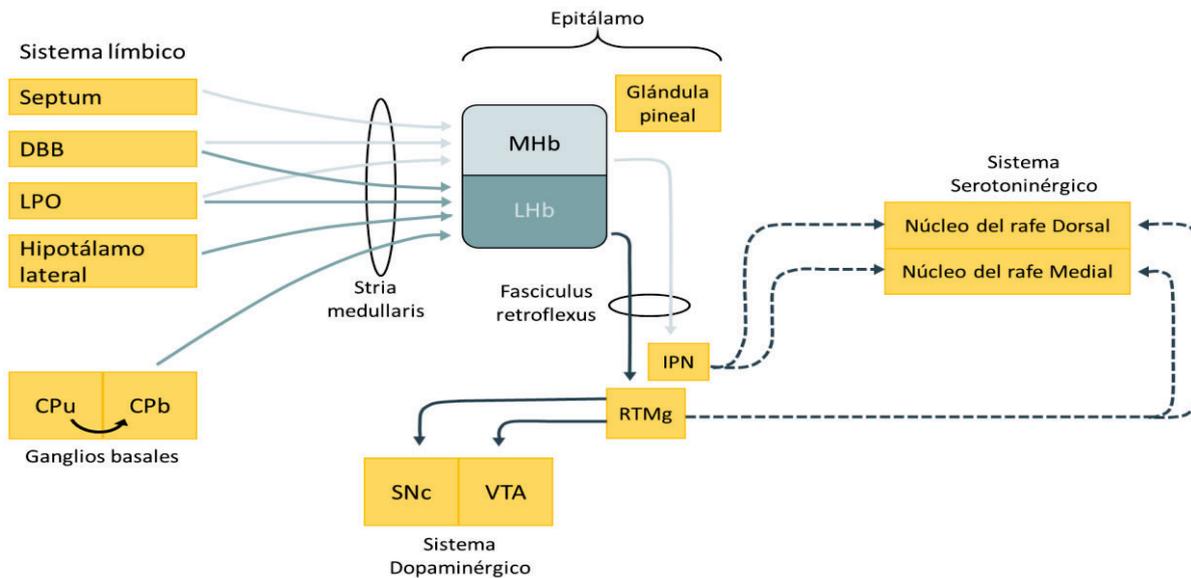


Figura 5. Conexiones ascendentes y descendentes de la habénula. La Lhb recibe entradas principalmente de los ganglios basales y envía salidas a las estructuras cerebrales que contienen neuronas dopaminérgicas y neuronas serotoninérgicas, en parte a través del núcleo tegmental rostromedial (RMTg). Las neuronas Mhb se proyectan al núcleo interpeduncular (IPN), que se proyecta al MRN y DRN además de otras áreas (Modificado de Hikosaka, 2010).

Se ha demostrado que la gran mayoría de neuronas en la Lhb son glutamatérgicas (Aizawa et al., 2012), sin embargo, la excitación de las neuronas de la Lhb produce la inhibición de las neuronas dopaminérgicas en el área tegmental ventral y la sustancia negra pars compacta (Christoph et al., 1986; Gonçalves et al., 2012). Esta inhibición está mediada por una vía disináptica en la que las aferencias excitadoras que se originan en la Lhb hacen sinapsis con las neuronas GABAérgicas en el área tegmental rostromedial (RMTg), que se dirigen e inhiben las neuronas dopaminérgicas del VTA (Jhou et al., 2009a). Este circuito es conocido como: circuito Lhb-RMTg-VTA, en el cual la excitación de la Lhb da como resultado la inhibición de las neuronas dopaminérgicas del VTA (Christoph et al. 1986; Jhou et al. 2009a; Ji & Shepard, 2007).

Algo importante que se puede tomar en consideración es la relación que puede tener la Lhb con la corteza insular (CI) y la corteza cingulada (CC), ya que se ha demostrado que las proyecciones de la ínsula anterior terminan principalmente en las regiones de intersección de los dos tercios

lateral y ventral de la LHb, mientras que las proyecciones de la corteza cingulada terminan principalmente en los dos tercios laterales de la LHb. Estas proyecciones pueden proporcionar a la LHb información cognitiva y afectiva para que la LHb pueda regular la activación de las neuronas de dopamina y serotonina del mesencéfalo relevantes para la condición conductual (Kim & Lee, 2012).

Teniendo en cuenta que la parte anterior de la ínsula participar en la nocicepción y la discriminación del gusto, mientras que la ínsula posterior participa más en la regulación autónoma de la presión arterial y la frecuencia cardíaca. Retomando el hallazgo anterior de Kim y Lee en 2012, la ubicación de las proyecciones de la CI corresponde al área que contiene neuronas que responden a saborizantes hedónicamente positivos y aversivos (Accolla et al., 2007; Carleton et al., 2010). Por tanto, es concebible que la proyección insulo-habenular pueda entregar información gustativa y antinociceptiva a la LHb de modo que pueda regular en consecuencia las neuronas de dopamina y serotonina del mesencéfalo para producir respuestas conductuales apropiadas.

1.4.2. Tipos de conducta en los que está involucrada la habénula lateral

La habénula ha cobrado relevancia ya que desempeña un papel importante en la regulación de los sistemas de dopamina y serotonina. Se sabe que estos neuromoduladores son esenciales para las actividades mentales y motoras normales, como lo ejemplifican los trastornos asociados con niveles reducidos de dopamina (por ejemplo, enfermedad de Parkinson) (Selby, 1968) y serotonina (por ejemplo, depresión mayor) (Morris et al., 1999), y la habénula es una de las pocas regiones que influyen en los sistemas de dopamina y serotonina (Hikosaka, 2010).

Como se mencionó anteriormente, se cree que las señales excitadoras de la LHb se transmiten a la RMTg, que a su vez inhibe la actividad de neuronas en el VTA para promover la evitación conductual (Hong et al., 2011). Por lo tanto, las lesiones de la habénula aumentan la liberación de dopamina en la corteza cerebral y el cuerpo estriado (Nishikawa et al., 1986). Esto sugiere que la hiperactividad motora inducida por las lesiones de la habénula en ratas puede deberse a la eliminación de la inhibición de las neuronas dopaminérgicas (Morris et al., 1999).

Las neuronas dopaminérgicas responden a eventos sensoriales que predicen cambios en el estado motivacional del animal (que a su vez inducen al animal a actuar y por lo tanto a moverse) (Schultz, 1998). Por lo general, las neuronas de dopamina se excitan con recompensas mayores

de lo esperado (y sus predictores) y se inhiben con recompensas menores de lo esperado (y sus predictores) (Schultz, 1998). Se ha propuesto que estos cambios en la actividad de las neuronas de la dopamina impulsan el aprendizaje de reforzamiento (Hikosaka, 2007). En este esquema, la excitación de las neuronas dopaminérgicas en respuesta a recibir una recompensa mayor a la esperada facilita la acción que conduce a la recompensa mayor, mientras que la inhibición de las neuronas dopaminérgicas en respuesta a recibir una recompensa menor a la esperada suprime la acción, que conduce a la recompensa menor (Hikosaka, 2010).

Se ha propuesto que la supresión motora proveniente de la habénula puede ser adquirida por diferentes estructuras; la glándula pineal, que codifica los cambios de luz y oscuridad, regula los ritmos circadianos. La habénula, que tiene conexiones recíprocas con la glándula pineal, controla el nivel de actividad motora de acuerdo con los estados de sueño-vigilia a través de sus conexiones polisinápticas con los circuitos neurales del tronco del encéfalo. Los ganglios basales, que codifican un fracaso o castigo resultante de una acción motriz. Con base en esto, la habénula inhibe las neuronas de dopamina en el VTA y la SNc. El sistema límbico, que transmite información sobre eventos aversivos, dolorosos o estresantes tiene conexiones con la habénula que inhibe tanto las neuronas de serotonina como de dopamina y esto da como resultado una supresión general del movimiento corporal (Figura 6) (Hikosaka, 2010).

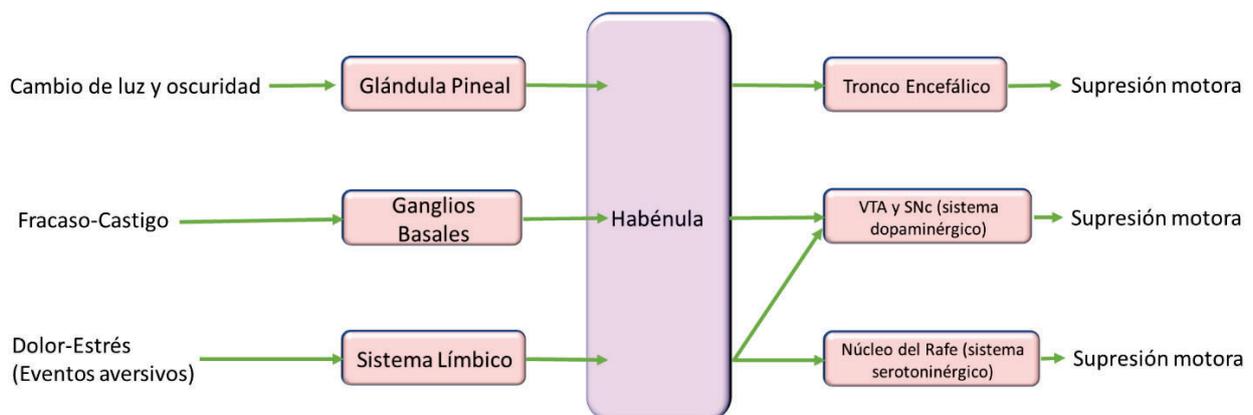


Figura 6. Mecanismos propuestos para la inhibición motriz provenientes de la habénula. la habénula está equipada con mecanismos mediante los cuales se pueden suprimir los movimientos corporales. La forma en que se utilizan los mecanismos de supresión motora depende de la información que se alimenta a la habénula (Modificado de Hikosaka, 2010).

Un estudio de resonancia magnética funcional (fMRI) en el que sujetos humanos realizaron una tarea de predicción de movimiento (Ullsperger & Von Cramon, 2003) mostró que la habénula (además de la corteza cingulada anterior y la ínsula) se activaba cuando un sujeto recibía retroalimentación que indicaba que su respuesta en la tarea era incorrecta. Este hallazgo fue

Participación diferencial de la habénula lateral durante la formación de la memoria de aversión al azúcar y durante la inhibición latente inducida por la familiarización a este sabor

corroborado a nivel unicelular por un experimento con monos macacos que habían sido entrenados para realizar una tarea de sacada visual con resultados de recompensa sesgados posicionalmente (Matsumoto & Hikosaka, 2007) (figura 7). Se demostró que las neuronas de la LHb se excitaron con la aparición de un estímulo que indicaba que el mono recibiría una pequeña recompensa y fueron inhibidas por un estímulo que indicaba que se recibiría una gran recompensa (Matsumoto & Hikosaka, 2007). Sin embargo, este patrón de respuesta fue opuesto al observado en las neuronas de dopamina (Schultz, 1998; Matsumoto & Hikosaka, 2007).

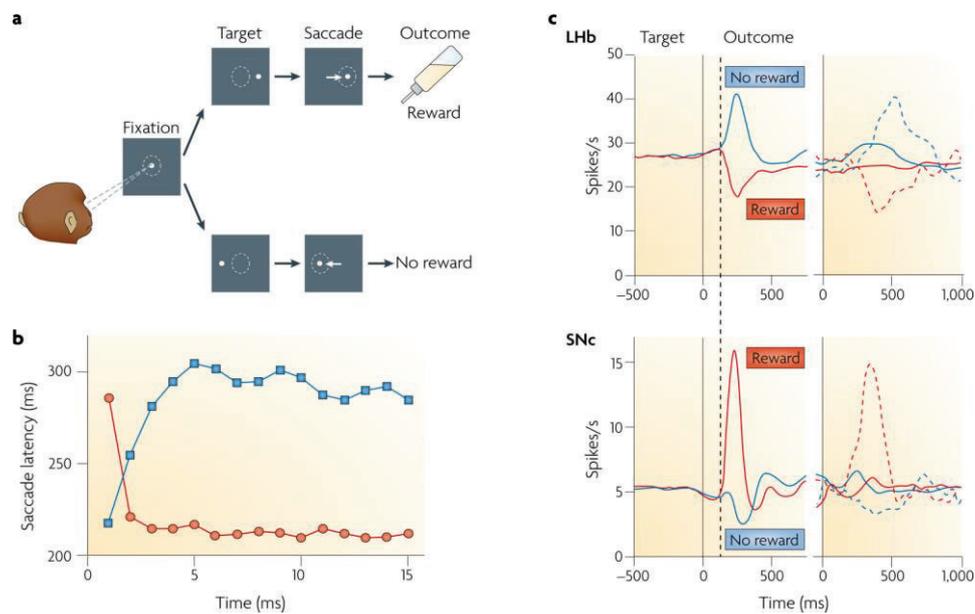


Figura 7. Respuesta de la LHb en la modulación de los movimientos sacádicos del ojo. Los movimientos sacádicos a la posición premiada (mostrada por los círculos rojos) se volvieron más rápidos (latencias más cortas) mientras que los movimientos sacádicos a la posición no recompensada (mostrada por los cuadrados azules) se volvieron más lentos (latencias más largas). El objetivo sacádico indicador de recompensa indujo una inhibición en las neuronas de la LHb (arriba) y una excitación en las neuronas de dopamina en la SNc (abajo; mostrada por los trazos rojos); el objetivo que no indicaba recompensa indujo una excitación en las neuronas LHb y una inhibición en las neuronas dopaminérgicas (mostrada por los trazos azules) (Modificado de Matsumoto & Hikosaka, 2007).

La LHb se ha visto implicada de manera importante en el aprendizaje impulsado por resultados adversos. Un hallazgo muy importante señala que, las neuronas de la LHb de primates se excitan con estímulos que predicen eventos negativos (la ausencia de recompensa) y con estímulos que predicen una aversión (bocanada de aire aversiva), mientras se ven inhibidas con estímulos que predicen una recompensa y con estímulos que predicen una no-aversión (Matsumoto & Hikosaka, 2009). Este estudio consistió en una tarea pavloviana en dos contextos distintos: un bloque “apetitivo” en el que se usó jugo como EI, y un bloque “aversivo” en el que se utilizó una bocanada

Participación diferencial de la habénula lateral durante la formación de la memoria de aversión al azúcar y durante la inhibición latente inducida por la familiarización a este sabor

de aire como EI. Tres ECs (símbolos, que aparecieron en la pantalla de una computadora) indicaron la probabilidad (100%, 50% o 0%) de recibir los próximos EIs. Demostraron que las neuronas LHB se excitaron con el EC de "peor resultado" en cada bloque. Por el contrario, las neuronas de la LHB fueron inhibidas con el EC de "mejor resultado" en cada bloque (Figura 8).

En general, la respuesta de las neuronas de la LHB se correlaciona negativamente con el valor del resultado (EI) según lo predicho por el EC, aunque la respuesta se ajusta en relación con el valor medio del resultado en cada bloque (Matsumoto & Hikosaka, 2009). Estos resultados indican que la LHB responde al valor negativo de un estímulo. Al señalar este valor, a través del RMTg (Jhou et al., 2009a), a las neuronas de dopamina en la sustancia negra y VTA, la habénula puede contribuir a la supresión de los movimientos corporales que conducen a un resultado aversivo (Hikosaka, 2010).

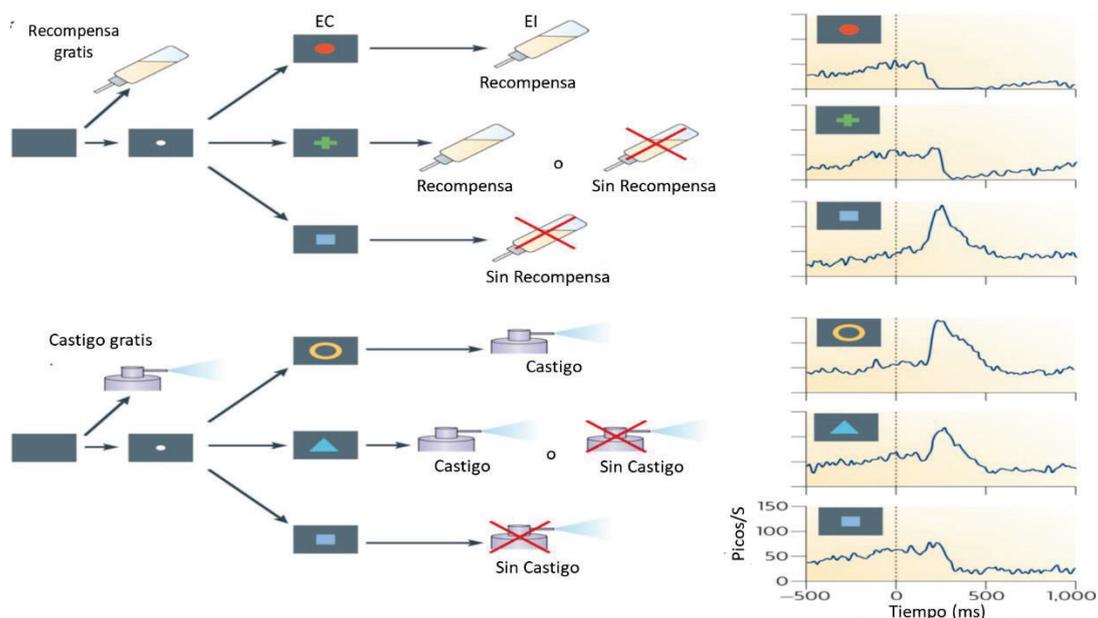


Figura 8. La habénula lateral codifica valores motivacionales. La LHB se activa con señales de valor motivacional negativo, como la ausencia de una recompensa o la presencia de un castigo (Modificada de Matsumoto & Hikosaka, 2009).

Con la evidencia que se menciona en esta sección se sugiere que la LHB puede desempeñar un papel más amplio en el control del comportamiento, porque parece ser importante en situaciones distintas de las necesarias para señalar eventos aversivos o errores de predicción. Por lo tanto, una hipótesis que se podría tomar en cuenta es que la LHB juega un papel crucial en la capacidad de una habilidad para cambiar de la estrategia aprendida en curso cuando cambian las contingencias de la tarea o el contexto (Baker et al., 2015; Thornton & Evans, 1984).

1.4.3. La habénula lateral y el aprendizaje al sabor

Se tienen muy pocos estudios en relación de la LHb y el aprendizaje aversivo, sin embargo, algunos de los que se encuentran en la literatura, hablan de los siguiente:

En un estudio que tuvo como objetivo probar cómo las alteraciones en el funcionamiento normal de la LHb afectan los procesos naturales de recompensa. Se encontró que ratas que recibieron estimulación cerebral profunda (DBS) en la LHb, redujo significativamente los niveles de autoadministración de sacarosa. Por el contrario, la lesión en la LHb aumentó el comportamiento de búsqueda de sacarosa, como lo demostró una respuesta de extinción retardada a la sustitución de sacarosa por agua (Friedman et al., 2011). La participación de la LHb en el procesamiento sin recompensa también se ha observado en estudios de lesiones que muestran una extinción retardada después de la autoadministración de cocaína (Friedman et al., 2010)

También se ha demostrado que el consumo de alcohol podría estar mediado por la manipulación de la LHb. Las ratas con lesiones electrolíticas en la LHb que recibieron acceso intermitente a alcohol al 20% aumentaron la ingesta voluntaria de etanol más rápidamente que los animales sham, así como también la autoadministración operante y bloquean la reinstalación de la búsqueda de etanol inducida por yohimbina. Además, las lesiones electrolíticas de LHb disminuyeron un CAS inducido por etanol a supersacarina (0,125 % de sacarina + 3 % de glucosa) (Figura 9) (Haack et al., 2014). Teniendo en cuenta que existe una relación inversa entre la aversión al gusto condicionada inducida por el alcohol y el consumo voluntario de alcohol (Green & Grahame, 2008), estos resultados sugirieron que las lesiones de LHb interferían con las propiedades aversivas del alcohol.

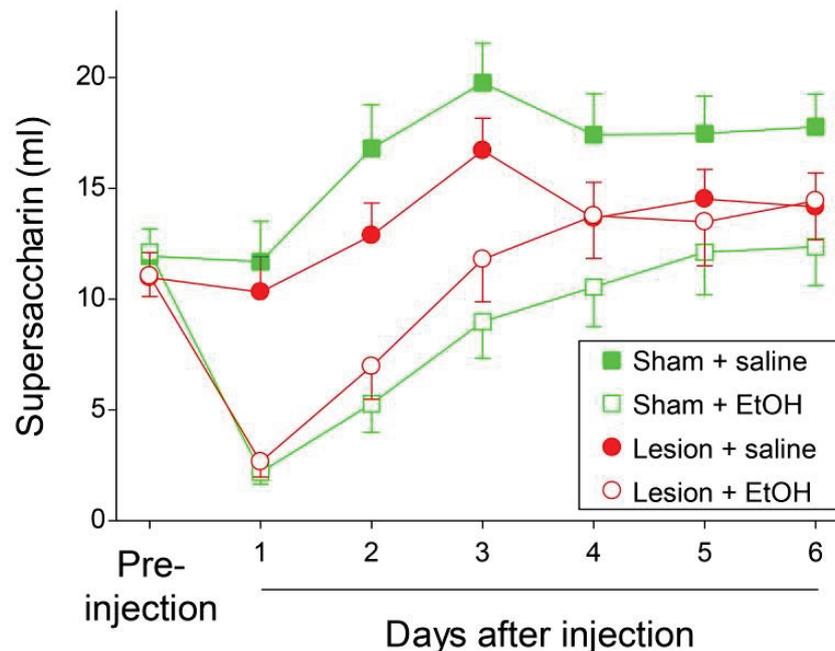


Figura 9. CAS inducido por etanol a supersacarina. Se muestran 4 grupos experimentales. Los grupos sham (cuadros rellenos y vacíos en color verde) con inyección ip. de sol. salina y etanol. Los grupos con lesiones en la LHb (círculos rellenos y vacíos en color rojo) con inyección ip. de sol. salina y etanol. La administración de etanol condicionó una aversión a la supersacarina en los grupos Sham y lesionado, como se demostró por la reducción de la ingesta de supersacarina después de la inyección de etanol. El CAS inducido por etanol se atenuó en las ratas lesionadas en relación con los animales sham ya que el consumo de supersacarina fue significativamente mayor en las ratas lesionadas después de la inyección de etanol (Modificado de Haack et al., 2014).

En otro estudio similar que tuvo como objetivo analizar los efectos de las lesiones de LHb sobre la extinción del apetito y el consumo de alcohol, se mostró que las lesiones neuroquímicas en la LHb por ácido quinolínico vs infusiones de vehículo (PBS) presentaban un retraso en la extinción consumatoria en una tarea con sacarosa como recompensa, como lo indica un mayor consumo de líquido en la tarea consumatoria y también, las lesiones de LHb retrasaron la extinción instrumental en una tarea con pellets de comida como recompensa (menores latencias de respuesta en la tarea instrumental). Por el contrario, la lesión no afectó la ingesta y la preferencia de alcohol, independientemente de la concentración y duración de la prueba de preferencia (Donaire et al., 2019).

De igual manera se ha observado que por medio de registros electrofisiológicos de las neuronas LHb en ratas, antes y después del CAS inducida por etanol a la sacarina, se demostró que la inducción del CAS da como resultado tasas de activación basal elevadas en las neuronas de la LHb (Figura 10). Además, se encontró que la lesión electrolítica de la LHb atenuó muchos índices de comportamiento que reflejan el CAS inducido por etanol en una tarea operante. Juntos, estos

resultados muestran que el aumento de la activación en las neuronas de LHb son importantes para la expresión del CAS inducida por etanol, lo que sugiere que los cambios en la actividad de la LHb pueden modular la ingesta voluntaria de etanol y aumentar con el tiempo (Tandon et al., 2017).

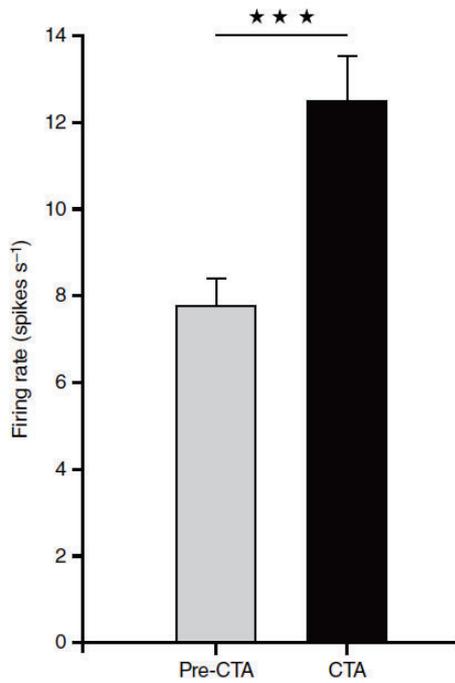


Figura 10. Tasas de activación basales en las neuronas de la LHb. Registro electrofisiológico que muestra una activación de neuronas de la LHb después de un CAS inducido por etanol a sacarina (CTA), a comparación del registro de las neuronas cuando no se les indujo un CAS (Pre-CTA) (Modificado de Tandon et al., 2017).

2. Justificación

Debido que algunos estudios indican que la LHb procesa señales de valor motivacional negativo (ausencia de una recompensa o la presencia de un castigo), a través de la inhibición de las neuronas dopaminérgicas y serotoninérgicas; y a la demostración de la participación de la habénula lateral en el condicionamiento de aversión al sabor a sacarina inducida por etanol, es importante evaluar la función de esta estructura en modelos de aprendizajes como el CAS, así como su inhibición latente, cuando el estímulo asociado tiene una connotación motivacional diferente.

Además, como la habénula lateral está ampliamente conectada con estructuras importantes durante la formación de la memoria del sabor, es importante evaluar las implicaciones de esta estructura durante la formación de la memoria de aversión al sabor, ya que se desconoce la intervención de esta estructura en este aprendizaje asociativo y su impacto sobre posteriores aprendizajes como es la extinción de la memoria del CAS.

De tal forma que es importante estudiar la participación de la habénula durante la formación de la memoria de aversión de un estímulo altamente apetitivo como el azúcar, así como su participación tras la alta familiarización a este sabor, es decir, su participación en la inhibición latente al CAS, inducida por la preexposición prolongada al azúcar.

3. Hipótesis

H1: La lesión excitotóxica bilateral con NMDA de la habénula lateral antes de la adquisición del CAS interrumpe el condicionamiento aversivo.

H2: La lesión excitotóxica bilateral con NMDA en la habénula lateral altera la inhibición latente del CAS.

Participación diferencial de la habénula lateral durante la formación de la memoria de aversión al azúcar y durante la inhibición latente inducida por la familiarización a este sabor

4. Objetivos

4.1. Objetivo general

Evaluar la participación de la habénula lateral en la formación de la memoria aversiva al sabor, así como en la alta familiarización al sabor dulce.

4.2. Objetivos particulares

1. Evaluar el efecto de la lesión excitotóxica bilateral con NMDA en la habénula lateral durante la adquisición del CAS (azúcar).
2. Evaluar el efecto de la lesión excitotóxica bilateral con NMDA en la habénula lateral inducida antes de la adquisición del CAS en sujetos expuestos a azúcar durante 21 días (inhibición latente del CAS).

5. Materiales y métodos

5.1. Sujetos experimentales

Se utilizaron ratas *Wistar* macho con un peso inicial de 250-310 gr (colonia reproductora del bioterio del Instituto de Neurobiología, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) campus Juriquilla, Querétaro). Los sujetos se mantuvieron en aclimatación durante 7 días en cajas individuales (45 x 25 x 20 cm) con agua y alimento *ad libitum* hasta que comenzaron los procedimientos, bajo un ciclo invertido de luz-oscuridad de 12 horas, 8:00 h a 20:00 h (oscuridad) y de 20:00 h a 8:00 (luz) y a una temperatura de 23 ± 2 °C. Todos los experimentos conductuales se realizaron durante la fase de actividad de los roedores (fase oscura del ciclo), entre las 10:00 am y las 2 pm. El protocolo experimental siguió las normas establecidas por el Comité Institucional de Cuidado Animal (Comité de Bioética del Instituto de Neurobiología de la UNAM) de acuerdo con la normatividad Mexicana para el Cuidado Animal (Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999: Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio) y las normas pertinentes establecidas por la Secretaría de Salud de México.

5.2. Tareas de aprendizaje

a) Condicionamiento de aversión al sabor

Después de la recuperación de la cirugía, se privó de agua a las ratas durante 18 horas; posteriormente, para establecer el consumo de líquidos basales, se habituaron durante 3 días para tener acceso al agua durante 20 min/día (alrededor de las 12:00 y 14:00 h) teniendo acceso a una probeta graduada con agua. A lo largo de todo el protocolo de CAS, las ratas también tuvieron 20 minutos adicionales de acceso libre al agua (18:00 h) para garantizar las necesidades diarias de líquido y evitar deshidratación. En el día 4, se realizó la adquisición del CAS; las ratas tuvieron acceso a una solución de azúcar al 10%, como un nuevo sabor (caña de azúcar comercial, Zulka®, compuesta de sacarosa al 99.9%) durante 20 min; 30 minutos después, se inyectó por vía intraperitoneal (i.p.) con LiCl 0.3 M (10 ml/kg, un agente que induce malestar gástrico). Al día siguiente, durante la prueba de evocación de la memoria de aversión (prueba de memoria a largo plazo), todas las ratas se expusieron nuevamente a la solución de azúcar durante 20 minutos, sin inyección posterior de LiCl. Se siguió el mismo procedimiento durante los próximos 3 días para la evaluación de la extinción de la memoria aversiva del azúcar

(Figura 11). La reducción del consumo de azúcar durante la prueba de evocación se comparó con el consumo durante la adquisición.

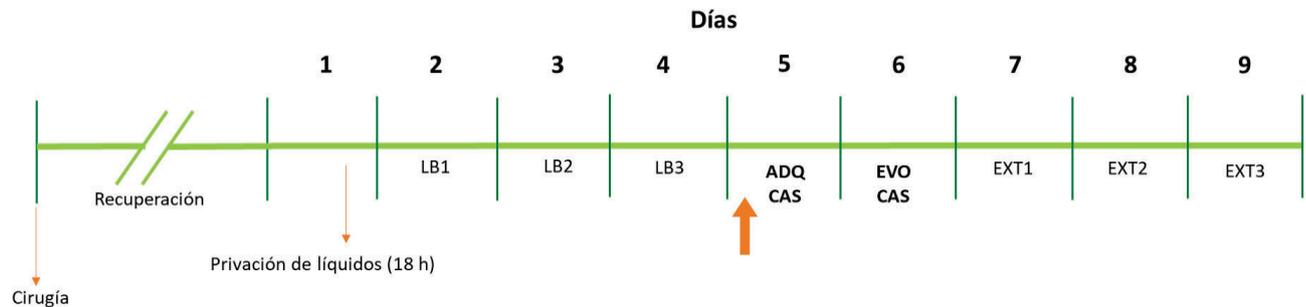


Figura 11. Diseño experimental del Objetivo 1. Después de la recuperación de la cirugía (1 semana), se inició la privación de líquidos, continuando con las 3 líneas base (LB) y posteriormente la adquisición (ADQ) del CAS, continuando con la prueba de evocación (EVO) del CAS y tres extinciones (EXT) de la memoria aversiva. La flecha naranja indica el tiempo en el que se inyectó el NMDA o la solución salina (30 min antes del CAS).

b) Familiarización al azúcar

i) Preexposición

Después de la aclimatación, las ratas se sometieron a 14 días de acceso permanente y libre a una solución de azúcar al 10% (caña de azúcar comercial, Zulka®, compuesta de sacarosa al 99,9%). Diariamente, se midió el peso corporal de las ratas y el consumo de alimento sólido y líquido. El líquido se administró en una botella de vidrio, rellenándose cada 2 días (600 ml) (1 ml de líquido equivalente a 1 gr). Al inicio de las mediciones se ajustó la misma cantidad de pellets para todas las ratas (500 gr, Lab Diet® 5001 Rodent Diet). Posteriormente se prosiguió con la cirugía estereotáxica para la mayoría de las ratas (día 14) y durante la semana de recuperación también estuvieron con acceso *ad libitum* lo que resultó en 21 días de exposición al azúcar antes de comenzar con la prueba del CAS.

ii) Inhibición latente del CAS (IL-CAS)

En el día 21, los animales se privaron de agua durante 18 horas. En los siguientes 3 días se estableció el consumo basal como se mencionó previamente, pero esta vez con la presencia de la solución de azúcar al 10%. En el día 25, la adquisición de CAS se llevó a cabo como se describió anteriormente (punto 2.1). Treinta minutos después del período de bebida, todas las ratas se inyectaron i.p. con LiCl (0.3 M) para inducir malestar gástrico. Al día siguiente, se realizó la prueba de evocación de la memoria presentando una probeta con la solución edulcorante (sin inyecciones i.p. de LiCl posteriores a la ingesta de azúcar) (Figura 12). La cantidad ingerida del edulcorante durante este día reveló el grado de inhibición latente en los sujetos. Durante los

Participación diferencial de la habénula lateral durante la formación de la memoria de aversión al azúcar y durante la inhibición latente inducida por la familiarización a este sabor

siguientes 3 días se evaluó la extinción de la memoria presentando nuevamente la solución edulcorante.



Figura 12. Diseño experimental del Objetivo 2. Después de la exposición a azúcar durante los 14 días se procedió a la cirugía estereotáxica de la mayoría de los animales. Posteriormente se procedió a la recuperación de la cirugía (1 semana) con azúcar, se comenzó con la privación de líquidos. Se continuó con las 3 líneas base de azúcar (LB) para empezar con la IL-CAS (ADQ, EVO) y terminar con tres extinciones (EXT) de la memoria aversiva. La flecha naranja indica el tiempo en el que se inyectó el NMDA o la solución salina (30 min antes de la IL-CAS).

5.3. Cirugía

Para la implantación de cánulas dirigidas a la LHb, las ratas se anestesiaron con una solución de ketamina (70 mg/kg) y xilacina (6 mg/kg), por inyección i.p. y a través de un estereotáxico se implantaron de forma bilateral, cánulas de acero inoxidable de 12 mm y calibre 23. Se usaron las siguientes coordenadas A.P.: -3.7 mm, M.L.: ± 1 mm, V.D.: -3 mm desde bregma (Paxinos & Watson, 2014). Las cánulas se fijaron al cráneo mediante acrílico dental y dos tornillos de acero inoxidable, se insertaron estiletes en las mismas para evitar la obstrucción (12 mm de longitud); posterior a la cirugía, todas las ratas recibieron una dosis oral de tramadol (analgésico) de 5mg/Kg vía sublingual. Después, durante el período de recuperación de 7 días, se revisaron cuidadosamente las cánulas implantadas para detectar problemas de salud y obstrucciones de las mismas en este periodo. Una vez transcurrida la semana de recuperación de cirugía, los animales se sometieron a los protocolos del CAS, y familiarización al azúcar (IL-CAS)

5.4. Microinyecciones

Todas las ratas se manipularon individualmente durante aproximadamente 5 min cada 24 horas, 4 días antes de las microinyecciones. Durante la adquisición del CAS, se realizaron inyecciones bilaterales en la LHb, por medio de inyectores fabricados con agujas de inyección de calibre 30 (agujas dentales) las cuales fueron conectadas a microjeringas Hamilton de 10 μ l mediante tubos delgados de polietileno. Se utilizó una bomba de jeringa automática (KdScientific), en donde fueron conectados ambos inyectores y se inyectó bilateralmente una solución de 10 μ g/ μ l de NMDA (SIGMA, México; 1 μ l disuelto en 999 μ l de solución salina estéril al 0.9%) Inyectando bilateralmente 0.5 μ l durante 2 minutos (la dosis de NMDA utilizada se basó en trabajos previos;

Bermúdez-Rattoni & McGaugh, 1991; Ramírez-Amaya et al., 1996; Bermúdez-Rattoni et al., 1997), a las ratas control se les inyectó solución salina isotónica al 0.9% (0.5µl/ 2min). Los inyectores sobresalieron 2 mm más allá de la punta de la cánula (14 mm). Las agujas de inyección se mantuvieron en su lugar durante 60s adicionales para permitir la difusión en el tejido y minimizar el arrastre a lo largo de las pistas de inyección.

5.5. Histología

Un día después de completar la última prueba de extinción, las ratas fueron sacrificadas mediante una inyección de sobredosis por vía i.p. de pentobarbital sódico (1 ml/0.5 Kg) (Cheminova, México), y posteriormente fueron perfundidas de manera intracardiaca con una solución salina isotónica al 0.9%, fueron decapitados y los cerebros se extrajeron manualmente para colocarse en formaldehído al 10% durante 3 días y posteriormente se transfirieron a una solución de sacarosa tamponada al 30% por un periodo de 3 días hasta su procesamiento histológico.

Se realizaron cortes coronales de 50 µm de espesor mediante un microtomo, a una temperatura de $-25 \pm 2^\circ\text{C}$ a través del área de interés, luego fueron montados en portaobjetos gelatinizados con previa identificación, en un orden de 6 cortes en cada portaobjetos, se dejaron secar de 3 a 5 días para una buena adhesión y posteriormente fueron sometidos a tinción con el método de Violeta de Cresilo (Nissl).

5.5.1. Tinción Violeta de Cresilo

Se realizó todo el tren de tinción bajo la campana de extracción, primeramente los cortes se incubaron durante 30 min en cloroformo absoluto, posteriormente las laminillas fueron sometidas al tren de tinción en donde se pusieron en una solución de alcohol al 25% por 2 min, prosiguiendo a la incubación con violeta de cresilo al 1% por 25 min, alcohol 50% durante 30 segundos, alcohol al 70% por 1 minuto, solución diferenciadora (500 ml de alcohol al 70% con 10 gotas de ácido acético glacial) durante 8 segundos aproximadamente, alcohol al 95% por 15 segundos, alcohol absoluto por 1 minuto, mezcla xilol-alcohol 1:1 durante 1 minuto, Xilol absoluto por 2 min, y finalmente los cortes fueron cubiertos con resina sintética y un cubreobjetos, se dejaron secar de 1 a 2 días, una vez secos se inspeccionaron bajo luz estereoscópica para determinar si el lugar de las cánulas implantadas era el correcto.

5.5.2. Análisis histológico

Se realizó una búsqueda en cada corte cerebral de evidencias de la trayectoria de las guías cánulas y de los inyectores, así como de los sitios de difusión, en los cuales se tenía identificado el lado izquierdo y el lado derecho (el cual fue marcado por igual) en todos los cortes.

El análisis histológico de los cortes de los sujetos experimentales en cada grupo se realizó comparando cada corte con el atlas de Paxinos (Paxinos, 2014), para identificar la presencia de los trayectos de las guías cánulas, así como de los inyectores hasta la zona de interés (LHb), teniendo conocimiento del lado derecho e izquierdo en cada corte (Figura 13). Los animales cuyas cánulas no se encontraron en el sitio correcto, se excluyeron del análisis estadístico. Los criterios de exclusión también consideraron aquellos animales en los cuales no se observará el avance del NMDA por ambos tubos (derecha e izquierda) de los microinyectores en el día de la adquisición del CAS.

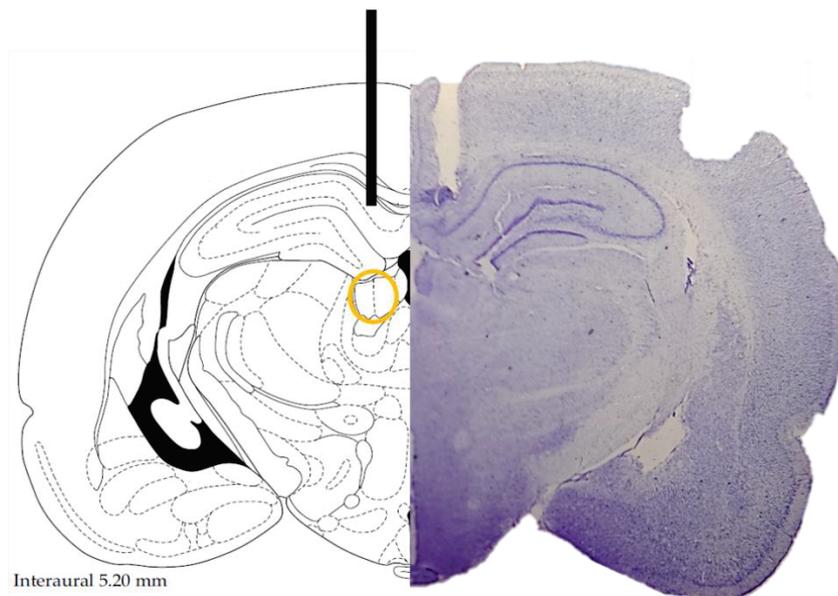


Figura 13. Imagen representativa de un corte coronal de cerebro de rata. En el lado izquierdo se observa la representación de la localización de las cánulas hacia la LHb, debajo de este sitio y encerrado en un círculo amarillo se indica el área de interés, las barras negras representan el trayecto correcto que debió seguir la cánula. Del lado derecho se muestra un corte donde se puede apreciar un ejemplo de la localización de la cánula.

5.6. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizó el software StatView 5.01 (California, USA). Los resultados están representados mediante gráficos en líneas y barras por el programa GraphPad Prism 8.0.1 (San Diego, California, USA). Una vez realizada la prueba de normalidad Shapiro-Wilk para valorar la distribución de los datos tanto del grupo CAS como del grupo IL-CAS, se procedió a utilizar una prueba paramétrica de ANOVA de una vía o ANOVA de medidas repetidas de dos vías, seguida de una prueba post hoc (Fisher), de ser necesaria, y para los análisis que se requerían una prueba de t pareada o no pareada. El valor $p < 0.05$ se empleó como criterio para establecer la significancia de las diferencias. Todos los resultados fueron expresados como medias \pm errores estándar de la media (SEM).

6. Resultados

6.1. Efecto de la lesión excitotóxica en la LHb durante la memoria aversiva al sabor

La prueba de Normalidad Shapiro-Wilk del grupo CAS demostró que hubo un valor de $p=0.1725$ para el grupo control (SALINA) y una $p=0.2851$ para el grupo lesionado (NMDA), indicando así una distribución normal de ambos grupos, por lo cual la estadística elegida fue del tipo paramétrico.

Una prueba de ANOVA de medidas repetidas de los consumos de azúcar durante el CAS, con la variable grupo como factor a comparar (Salina, NMDA) demostró que hubo diferencias significativas de los consumos entre grupos Salina y NMDA ($F_{1,17} = 5.963$, $p= 0.0258$) y entre las diferentes etapas del CAS ($F_{4,68} = 78.060$, $p < 0.0001$), por el contrario, no hubo diferencia alguna en la interacción entre factores ($F_{4,68} = 0.980$, $p= 0.9642$). Los datos en ml de consumo para el grupo de CAS se muestran en la Figura 14.

Posteriormente, se realizó una prueba post hoc de Fisher, la cual arrojó un aumento significativo durante el consumo en la etapa de evocación del CAS (EVO) ($F_{1,17} = 5.376$, $p= 0.0331$), así como también en los dos últimos procesos de la fase de extinción de la memoria aversiva; Ext 2 ($F_{1,17} = 4.674$, $p= 0.045$) y Ext 3 ($F_{1,17} = 7.056$, $p= 0.0166$).

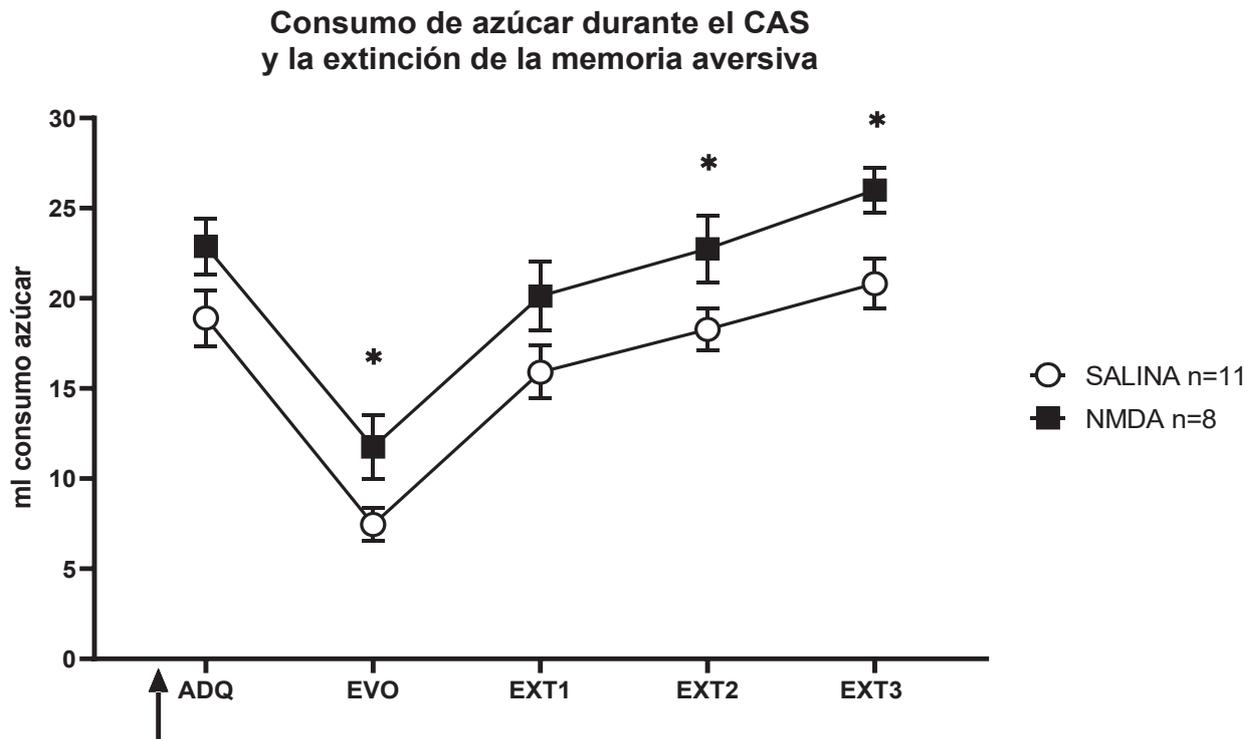


Figura 14. Consumo de azúcar (ml/kg) por 20 min de las diferentes fases del CAS y durante la extinción de la memoria aversiva. Se muestran los consumos de ratas control (SALINA) n=11 y ratas lesionadas (NMDA) n=8 (media \pm SEM). La flecha negra indica la microinyección de solución salina fisiológica al 0.9% o del NMDA (10 μ g/ μ l) antes de la adquisición (ADQ) del CAS (30 min antes). Se pueden observar diferencias significativas en la fase de evocación (EVO) y en las últimas etapas de la extinción (EXT) de la memoria aversiva, * $p < 0.05$.

6.2. Consumo de azúcar durante los 21 días previos al CAS

La prueba de Normalidad de Shapiro-Wilk del grupo IL-CAS demostró que hubo un valor de $p=0.2832$ para el grupo control (SALINA) y una $p=0.6122$ para el grupo lesionado (NMDA), indicando así una distribución normal de ambos grupos, por lo cual la estadística elegida fue del tipo paramétrico.

Con el propósito de poder afirmar que los procedimientos realizados en este proyecto fueron de inhibición latente, primeramente, se procedió a comprobar un cambio en el consumo de azúcar debido a la exposición a ésta durante 21 días, de cada grupo. Se registró el consumo del líquido de cada día y a la misma hora (12:30 pm). Cabe señalar que el consumo registrado de cada grupo fue antes de proceder con la manipulación farmacológica de NMDA o solución salina. Por medio de un ANOVA de medidas repetidas se demostró que no existió diferencia en el consumo de azúcar entre los grupos SALINA y NMDA ($F_{1, 22} = 0.028$, $p = 0.8680$), sin embargo, se

Participación diferencial de la habénula lateral durante la formación de la memoria de aversión al azúcar y durante la inhibición latente inducida por la familiarización a este sabor

encontraron diferencias a lo largo de los días de la exposición al azúcar ($F_{20, 440} = 11.615$, $p < 0.0001$), por el contrario, no se encontraron diferencias significativas en la interacción entre los factores ($F_{20, 440} = 1.271$, $p = 0.1934$).

En la Figura 15 se observa el consumo de azúcar (g) durante 21 días que tuvieron los grupos SALINA y NMDA. Por medio de una t pareada se observó que en el día 14 hubo un aumento significativo en la ingesta de azúcar comparado con el día 1 para el grupo SALINA ($t_{13} = -3.043$, $p = 0.0094$), así como para el grupo NMDA ($t_9 = -2.612$, $p = 0.0282$). Además, se analizó el decremento que se observa entre los días 14 y 15 y se encontró una disminución significativa de cada grupo ($t_{13} = 4.710$, $p = 0.0004$, SALINA; $t_9 = 6.069$, $p = 0.0002$, NMDA). Cabe señalar que esta disminución del día 15 fue por la cirugía estereotáxica que se les realizó a las ratas.

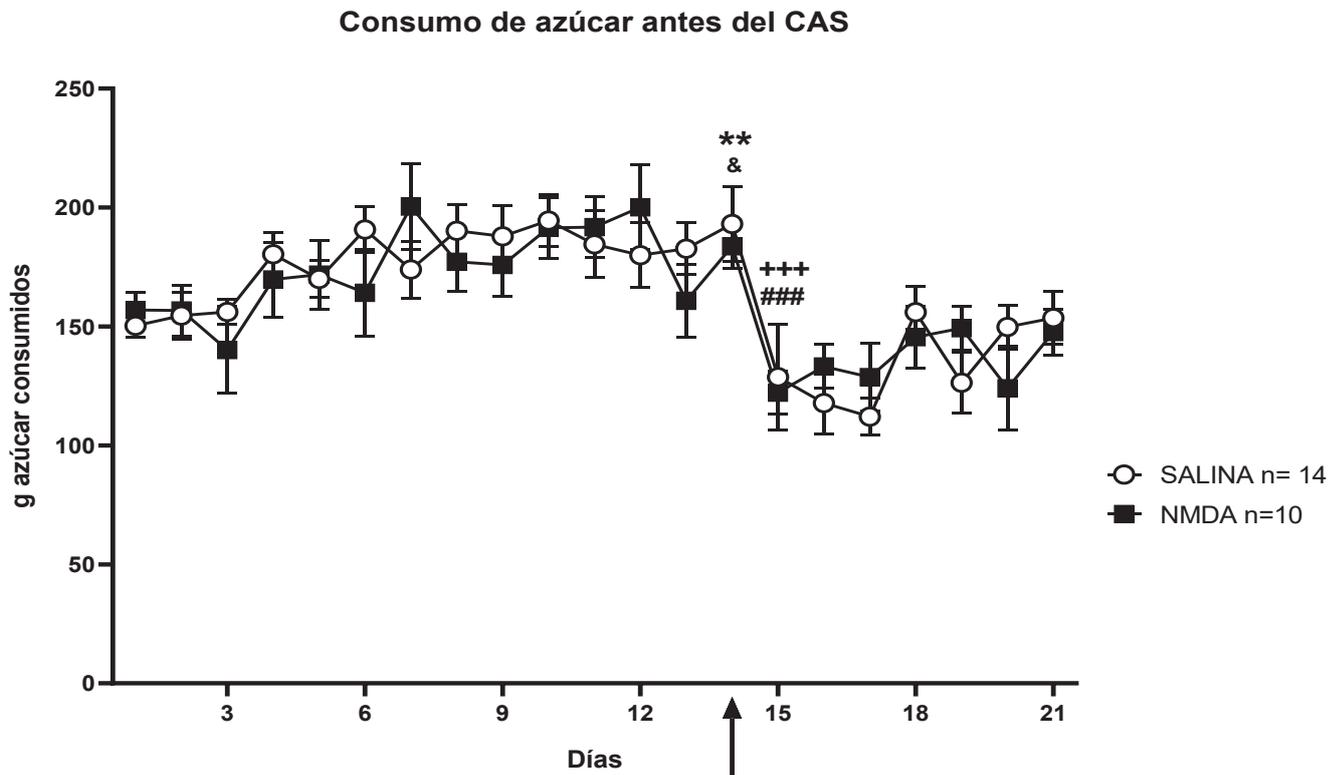


Figura 15. Registro de consumo de azúcar durante 21 días de exposición ad libitum. Se muestran los consumos en gramos de azúcar ingeridos de ratas que aún no habían sido manipuladas farmacológicamente por el vehículo $n=14$ (SALINA) o por el NMDA $n=10$ (NMDA) (media \pm SEM). La flecha negra indica el día de cirugía para la mayoría de las ratas, $**p < 0.01$ día 1 vs día 14 SALINA; $\&$ $p < 0.05$ día 1 vs día 14 NMDA; $+++ p < 0.001$ día 14 vs día 15 SALINA; $### p < 0.001$ día 14 vs día 15 NMDA.

6.3. Inducción de la inhibición latente del CAS

Posteriormente se procedió a comparar los grupos controles de ambos objetivos (CAS y de la IL-CAS) para comprobar un efecto de inhibición latente del CAS. Para ello, se realizó una prueba de ANOVA de medias repetidas, con la variable grupo como factor a comparar (Salina IL-CAS, Salina CAS), la cual demostró que hubo diferencias significativas de los consumos entre grupos ($F_{1,23} = 13.478$, $p = 0.0013$) y entre las diferentes etapas del CAS ($F_{1,23} = 92.459$, $p < 0.0001$), así como también en la interacción entre factores ($F_{1,23} = 10.683$, $p = 0.0034$).

Después se realizó una prueba post hoc de Fisher, la cual arrojó un aumento significativo únicamente durante el consumo de azúcar en la etapa de evocación del CAS (EVO) entre los grupos ($F_{1,23} = 42.463$, $p = < 0.0001$). Así mismo, una prueba de t pareada demostró que hubo diferencias significativas entre las etapas de adquisición y evocación en el grupo CAS ($t_{10} = 10.934$, $p = < 0.0001$), así como también para el grupo de IL-CAS ($t_{13} = 4.208$, $p = 0.0010$). Los datos en ml de consumo de azúcar durante la evocación y adquisición para el grupo control de CAS y de la IL-CAS se muestran en la figura 16.

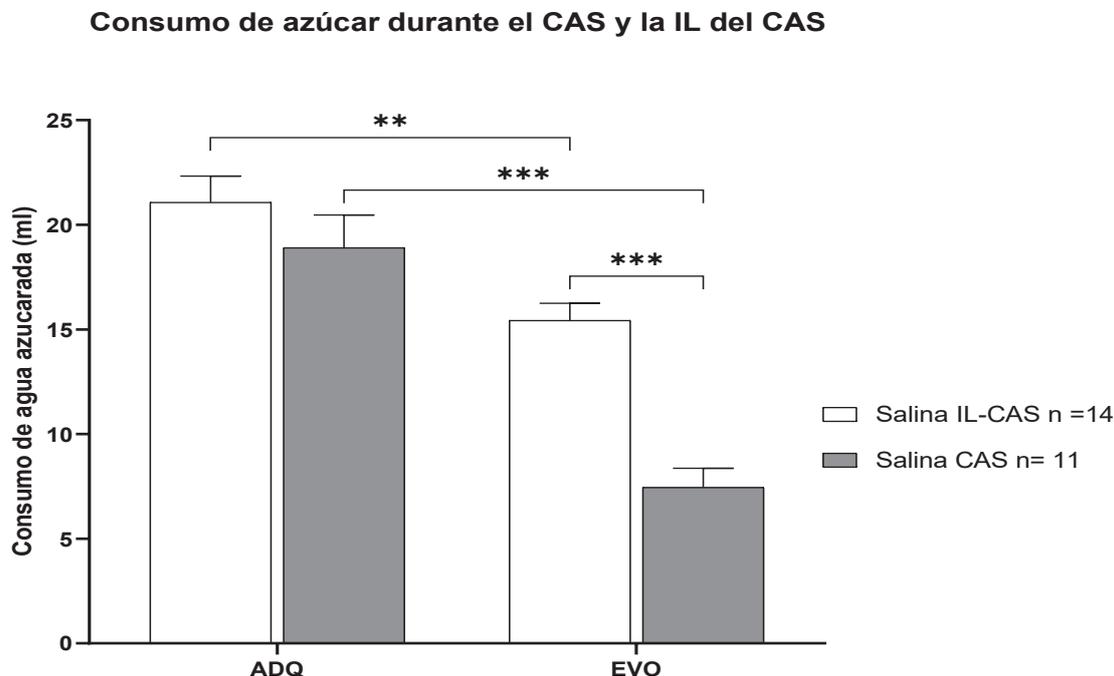


Figura 16. Consumo de azúcar (ml) de grupos control del CAS y de la IL-CAS durante las etapas de adquisición y evocación. Se comparan consumos del grupo control del CAS (n=11) y del grupo control de la IL-CAS (n=14), de la etapa de adquisición (ADQ) y de su respectiva evocación (EVO), se muestran graficas de barras (media/ \pm SEM). En la parte superior derecha se puede apreciar de una mejor manera un clara IL del CAS debido a un mayor consumo de azúcar el día de la evocación, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

6.4. Efecto de la lesión excitotóxica en la LHb durante la inhibición latente del CAS

Una vez transcurrida la preexposición a los 21 días de azúcar, se evaluó la IL-CAS, para la cual se realizó una prueba de ANOVA de medidas repetidas del consumo de azúcar durante la IL-CAS, con la variable grupo como factor a comparar (Salina, NMDA) la cual demostró que no hubo diferencias significativas en el consumo de azúcar entre grupos Salina y NMDA ($F_{1, 22} = 0.198$, $p = 0.6610$), también se registraron diferencias significativas entre las diferentes etapas del CAS ($F_{4, 88} = 33.737$, $p < 0.0001$), pero no hubo diferencia alguna en la interacción entre factores ($F_{4, 88} = 0.383$, $p = 0.8200$) (Figura 17).

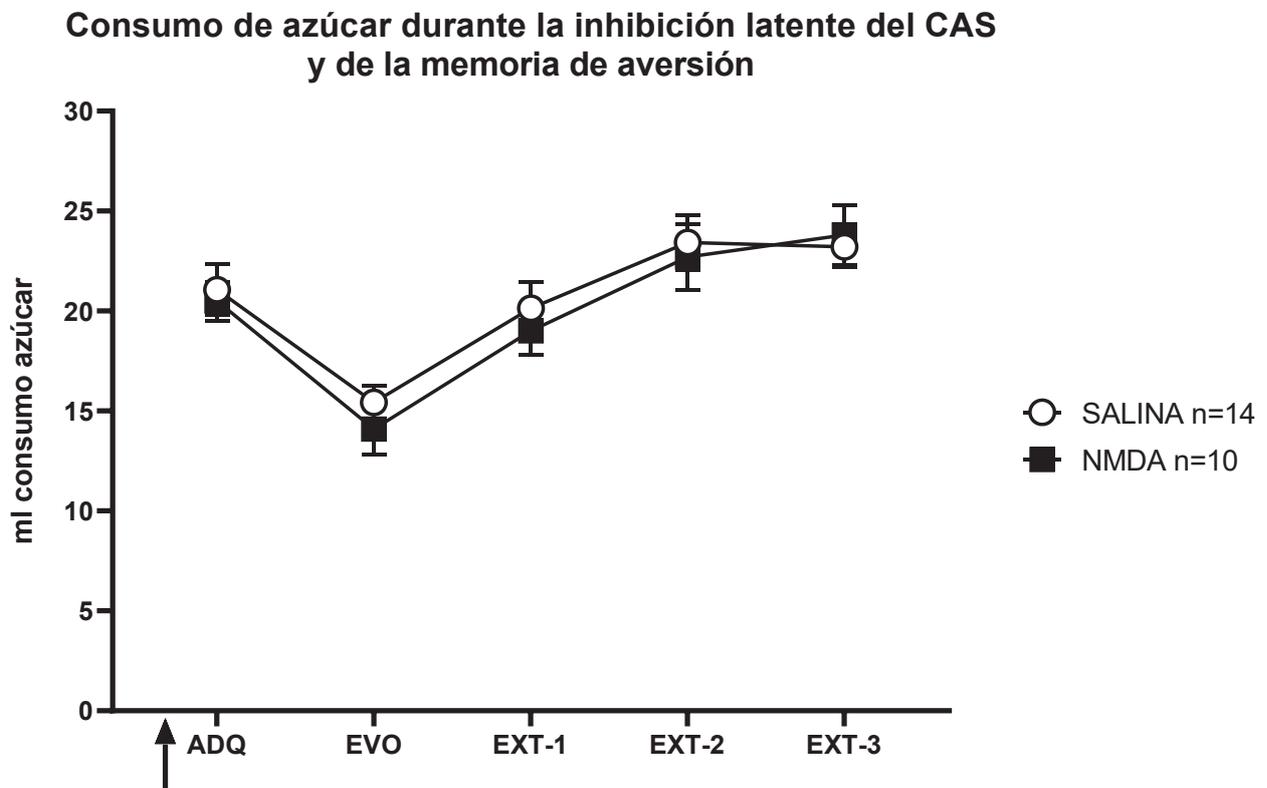


Figura 17. Consumos de azúcar (ml/kg) por 20 min en las diferentes fases de la IL-CAS y durante su memoria de extinción. Una vez transcurrida la preexposición a azúcar (10%) por 21 días, se realizó el mismo procedimiento seguido para el CAS (media/ \pm SEM). La flecha negra indica la microinyección de solución salina fisiológica al 0.9% para el grupo control (SALINA) y la microinyección de NMDA (10 μ g/ μ l) para el grupo lesionado (NMDA) antes de la adquisición del CAS (30 min antes). No se encontraron diferencias significativas en las etapas de la IL-CAS (adquisición: ADQ, evocación; EVO), así como tampoco en las fases de la extinción (EXT) de la memoria aversiva.

7. Discusión

La lesión excitotóxica con NMDA en la LHb provoca menor memoria aversiva y una aceleración en la extinción de la memoria aversiva

En el presente estudio al evaluar el CAS tras la lesión excitotóxica en la LHb con NMDA, se demostró que esta estructura es necesaria durante la formación de la memoria aversiva al sabor dulce del azúcar. A través de la alta dosis administrada de NMDA, que previamente ha demostrado que genera citotoxicidad (Bermúdez-Rattoni & McGaugh, 1991; Bermúdez-Rattoni et al., 1997; Ramírez-Amaya et al., 1996), corroboramos que la hiperactividad anormal de la LHb ocasionada por este procedimiento a lo largo de la formación de la memoria de aversión, produce una alteración significativa en el aprendizaje. Cabe mencionar que la mayoría de las neuronas de la LHb son glutamatérgicas (Aizawa et al., 2012) y en su mayoría expresan el receptor AMPA y NMDA (Meye et al., 2013). En este sentido, el grado de excitotoxicidad mediada por los receptores NMDA depende de la magnitud y duración de la coactivación de los receptores NMDA sinápticos y extrasinápticos (Bittigau & Ikonimidou, 1977; Zhou et al., 2013). Aunado a lo anterior, se ha reportado que la dosis de NMDA administrada en este trabajo de tesis, generó en la corteza insular una lesión de esta estructura, que provocó la interrupción del CAS cuando el NMDA fue inyectado antes de la adquisición de esta tarea (Bermúdez-Rattoni & McGaugh, 1991).

Los resultados de la presente investigación mostraron que la lesión de NMDA alteró la formación de la memoria aversiva a un sabor novedoso, ya que observamos una disminución significativa de la aversión al azúcar durante la evocación, los sujetos lesionados consumieron más líquido respecto al grupo control, indicando que el daño citotóxico impactó en la formación-consolidación de la memoria aversiva. Las ratas lesionadas con NMDA en la LHb presentaron un consumo de líquido elevado, por arriba de la definición operacional del CAS, que es un consumo igual o menor del 50% del observado en la adquisición. Los datos indican que las lesiones en la LHb provocan que los animales no puedan aprender, mostrando un CAS atenuado y una extinción más rápida.

Consistente con esto, Tandon et al. (2017) mostraron que existe un aumento en la tasa de disparo de las neuronas de la LHb después de la inducción del CAS a sacarina inducido por la inyección intraperitoneal de etanol, más aún, las lesiones bilaterales electrolíticas de la LHb atenuaron significativamente los índices de comportamiento del CAS (mediciones de comportamiento del CAS p. e. lengüeteos, presiones de la palanca, número de entrenamientos completados) en un

paradigma operante de autoadministración a sacarina, sugiriendo así que existe una pérdida o una atenuación de la señal aversiva después de lesionar la LHb, lo cual podría contribuir a un mayor consumo de líquido. Cabe mencionar que, aunque también se ha utilizado sacarina como EC, la sacarosa puede diferir de la sacarina en las respuestas de recompensa, probablemente por el contenido calórico (Vera-Rivera et al., 2020). Asimismo, el LiCl es mayormente utilizado para inducir CAS, ya que se ha observado que el LiCl puede generar una sólida respuesta de rechazo oral, así como evitación del lugar condicionado (Rinaman et al., 2009).

Adicionalmente, encontramos diferencias en las últimas 2 sesiones de extinción de la memoria; las ratas con lesión de la LHb extinguen más rápido la memoria aversiva, lo que indica la participación de la LHb en el CAS, ya que el daño de esta estructura generó deterioro en el aprendizaje de aversión al azúcar. En concordancia, Haak et al. (2014) demostraron que lesiones electrolíticas de la LHb en ratas provoca una mayor extinción del CAS inducido por etanol a super sacarina (0.125% de sacarina +sacarina +3% de glucosa), lo que se reporta como una atenuación del CAS.

Este resultado sugiere que, el posible papel de LHb en la expresión del CAS probablemente esté mediado por la vía LHb-RMTg-VTA-NAc, ya que parece ser que la LHb participa en aspectos aversivos a través de la modulación del circuito dopaminérgico mesolímbico, debido a que una importante proyección excitatoria de la LHb es enviada al núcleo tegmental rostromedial (RMTg), que a su vez envía entradas inhibitorias GABAérgicas a las neuronas dopaminérgicas del área tegmental ventral (VTA) (Balcita-Pedicino et al., 2011; Jhou et al., 2009 a, b). Actuando a través de este circuito, la excitación de las neuronas en LHb da como resultado la inhibición de las neuronas dopaminérgicas del VTA y por tanto disminución de la liberación de dopamina en NAc (Christoph et al., 1986; Jhou et al., 2009a; Ji & Shepard, 2007), provocando un condicionamiento aversivo (Friedman et al., 2011; Lammel et al., 2012; Shumake et al., 2010; Stamatakis & Stuber, 2012). Por el contrario, una inhibición de las neuronas LHb conduce a un aumento transitorio de la liberación de dopamina en las regiones terminales (Lecourtier et al., 2008) por lo que la lesión de la LHb podría impactar en la modulación de este circuito ocasionando un deterioro en un aprendizaje aversivo al interferir con la integración de los estímulos.

Las lesiones excitotóxicas de NMDA en la LHb antes de la adquisición del CAS no alteran el proceso de IL

Se sabe que cuando se presenta de manera prolongada y continua un estímulo, el cual es no reforzado, y se quiere asociar con algún otro estímulo en el futuro, se genera una inhibición latente (Lubow, 1989, 1973). En el presente estudio se dio acceso a azúcar durante 21 días a las ratas, previo a la adquisición del CAS, para inducir inhibición latente. En estos animales se demostró que hubo un aumento significativo en la ingesta de agua azucarada del día 1 al 14 de exposición, esto es consistente con los datos de Caynas-Rojas et al. (2019), ya que también observaron que el consumo de azúcar se incrementó desde el día 1 al 14. Por otra parte, en la presente investigación hubo una disminución de la ingesta de azúcar en el día 15, esta disminución en la ingesta fue debida a la cirugía previa del día 14, sin embargo, posterior a la cirugía y hasta el día 21 los animales empezaron a recuperar el consumo que tenían previo a la cirugía. Posteriormente se compararon los grupos controles tanto del CAS como de la IL-CAS para corroborar que efectivamente después de 21 días de exposición al azúcar se genera una IL. Se demostró que hubo una diferencia en el día de evocación entre ambos grupos, es decir el grupo de IL-CAS consume más azúcar a comparación de su grupo "control" CAS en la etapa de evocación, también se encontró que hubo un menor consumo de azúcar entre el día de la adquisición y evocación del grupo CAS a comparación de los mismos días del grupo IL-CAS, por lo tanto las diferencias encontradas por grupo el día de la evocación así como la diferencia de un menor consumo del CAS vs la IL-CAS (Figura 16) confirman una inhibición latente del CAS (Vera-Rivera et al., 2018), ya que hubo un consumo de azúcar mayor al 50% a comparación del día de la adquisición. Una vez que se observó la inducción de la IL, se procedió con la manipulación farmacológica en la LHb.

Teniendo en cuenta que la LHb participa en la aversión (Hikosaka, 2010; Tandon et al. 2017) y la presentación prolongada de un estímulo, como la sacarosa, genera una inhibición latente del CAS (Vera-Rivera et al., 2020), en el presente estudio se propuso que la lesión de la LHb modificaría la IL-CAS. Sin embargo, la lesión de la LHb no alteró tal inhibición y tampoco hubo un impacto significativo en un nuevo aprendizaje, más aún, no se observaron efectos durante la extinción de la memoria de aversión durante el consumo prolongado de azúcar. Una posible explicación para este fenómeno es que, durante la preexposición al azúcar, jamás se pareó un estímulo aversivo, ya que nuestros animales, al estar expuestos de manera prolongada (por 21 días) al azúcar, perdieron la capacidad de asociar el azúcar con el estímulo aversivo (inyección del LiCl), por lo

cual se dio una IL-CAS (Caynas- Rojas et al., 2020), la cual no pudo ser afectada por lesiones en la LHb. Teniendo en cuenta que las neuronas de la LHb aumentan su tasa de disparo cuando se presentan señales que predicen eventos negativos y resultados aversivos (Matsumoto & Hikosaka, 2007, 2009), no hubo una aversión que modificar, debido a la memoria tan robusta que se formó gracias a la familiarización que conlleva este aprendizaje (Vera-Rivera et al., 2018; Caynas-Rojas et al., 2019). De manera contrastante se ha observado que las lesiones electrolíticas del hipocampo dorsal no afectan la inhibición latente del CAS (Gallo & Cándido, 1995). Asimismo, en otro estudio también se demostró que lesiones excitotóxicas de NMDA en el hipocampo dorsal de ratas Wistar no afecta este tipo de aprendizaje (Molero-Chamizo & Moron, 2015), lo que sugiere que ni la LHb ni el hipocampo están implicados en la IL.

Aunque aún no existe un consenso de las estructuras y mecanismos involucrados en este tipo de aprendizaje, se ha demostrado la participación de la amígdala basolateral en la inhibición latente del CAS, y se ha atribuido específicamente al procesamiento de la memoria gustativa (Traverso et al., 2010). También se ha demostrado que la lesión de la corteza prefrontal medial (mPFC) puede afectar la IL del CAS (Caynas- Rojas et al., 2020). Por lo tanto, los resultados expuestos en este proyecto sugieren que LHb no juega un papel significativo durante el nuevo aprendizaje aversivo después de una exposición prolongada al azúcar (IL-CAS). Estos hallazgos pueden contribuir a la identificación de estructuras cerebrales involucradas en la inhibición latente del CAS. Sin embargo, se necesitan más estudios para dilucidar los mecanismos por los cuales la LHb participa en este tipo de aprendizaje.

El impacto de este trabajo de tesis aporta información para un “mundo” con diferentes suministros de alimentos, donde se tiene que aprender cual es seguro ingerir y cual no (Welzl et al., 2001), ya que la capacidad de reconocer un sabor, así como un posible alimento dañino es de suma importancia en la supervivencia de los organismos (Burés, 1998). Así, el aprendizaje del sabor es un proceso crítico para sobrevivir ya que conlleva diferentes contextos que van desde intoxicación, enfermedad o incluso la muerte del individuo (De la Cruz, et al., 2008). Mucho se ha avanzado en la descripción científica sobre la compleja red de mecanismos que subyacen al procesamiento de la información del sabor como se mencionó anteriormente, y se conocen bien las estructuras cerebrales involucradas en este sistema (p. ej. NTS, amígdala, tálamo, CI) (Burés, 1998; Sakai & Yamamoto, 1999; Welzl et al., 2001; Sakai & Imada, 2003; Yamamoto, 2006). Sin embargo, acerca de los mecanismos implicados en la aversión y su actualización aún falta conocimiento. En este sentido, la LHb puede ser una estructura que pueda dar mayor idea sobre

el procesamiento del valor contenido en el sabor de los alimentos. Se ha demostrado que la LHb juega un papel crítico en el aprendizaje y el comportamiento mediado por la aversión (procesamiento de señales aversivas), ya que responde a señales que predicen eventos negativos y a resultados aversivos (Hikosaka, 2007; 2009). Más aún, la LHb tiene comunicación con diversas áreas implicadas en la información gustativa y la memoria del sabor (p ej. corteza prefrontal, hipotálamo lateral, área tegmental ventral, corteza insular) (Mizumori & Baker, 2017). Dentro de este contexto el CAS se ha utilizado con éxito como paradigma de aprendizaje y memoria en roedores, ya que se considera necesario para la supervivencia al prevenir la ingestión posterior de alimentos repugnantes lo que resulta en un sólido mantenimiento de la memoria a largo plazo (Dudai, 1989; Nakai et al., 2020). Adicionalmente, se ha demostrado que un modelo para estudiar las modificaciones que puede haber en el CAS es la IL (Revusky & Bedarf, 1967; Berman et al., 2000). Por lo que el presente estudio contribuye al conocimiento sobre la función de la LHb en el CAS del azúcar y su poca o nula intervención en la IL del CAS, es decir en la actualización de una memoria apetitiva hacia una memoria aversiva del sabor. Si bien, por el momento no hay suficiente evidencia que demuestre que la LHb participe en la IL-CAS, se ha demostrado la participación de otras estructuras como el núcleo septal medial ya que Turgeon y colaboradores (2001) encontraron que la lesión en este núcleo induce una mejora en la IL-CAS, por otra parte Traverso y colaboradores (2010) demostraron que las lesiones de la amígdala basolateral interrumpen la IL-CAS, por lo cual parece ser que el sustrato anatomofuncional del proceso de la IL-CAS no parece incluir a la habénula lateral, pero sí a la amígdala basolateral y al núcleo septal medial, de manera que futuras investigaciones podrían centrarse en la participación de estas estructuras para poder dilucidar más en este tipo de aprendizaje.

8. Conclusiones

Los resultados de la presente investigación indican que las lesiones excitotóxicas con NMDA en la habénula lateral antes del CAS alteran la formación, evocación, y el proceso de la extinción de la memoria de aversión, lo que indica que esta región del cerebro es necesaria para la formación y/o expresión del CAS.

Sin embargo, la LHb no participa en la IL-CAS ya que las lesiones excitotóxicas inducidas por NMDA antes de la adquisición del CAS tras una exposición prolongada al sabor, no altera la IL-CAS, ya que no se observaron cambios significativos en la aversión atenuada por dicha preexposición al azúcar.

Por lo tanto, nuestros resultados indican que la LHb juega un papel diferencial, siendo importante en el CAS al azúcar, pero no, durante la IL del CAS, es decir en procesos de actualización de la memoria.

Se requieren más estudios para dilucidar la participación de la LHb en aprendizajes meramente apetitivos para explicar mejor lo observado durante la IL del CAS.

9. Perspectivas

Evaluar la participación de la habénula lateral durante una comparación de un CAS y una IL-CAS con un estímulo sin calorías como lo es la sacarina.

Evaluar la participación de la habénula lateral en un grupo de azúcar novedosa y sin la posterior asociación aversiva, a las 24 hrs, ya que estudios previos demostraron una alteración en este tipo de aprendizaje al lesionar la habénula lateral.

Explorar el efecto de las lesiones en la habénula lateral en diferentes fases del CAS, por ejemplo, antes de la evocación, para saber si el efecto singular que se ve en la fase de ADQ (la diferencia no significativa, pero con alta tendencia) se mantiene, así como para saber si el efecto observado es un proceso de formación de memoria, motivación o percepción.

Sería importante conocer si existe diferencia entre la edad y sexo de las ratas, ya que los criterios de los animales que se utilizaron en este proyecto fueron con respecto a literatura previa, y se sabe que en aprendizajes relacionados al sabor difieren en estos dos aspectos de edad y sexo.

10. Referencias

- Accolla, R., Bathellier, B., Petersen, C.H. & Carleton, A. (2007) Differential spatial representation of taste modalities in the rat gustatory cortex. *J. Neurosci.*, 27, 1396–1404.
- Aizawa, H., Kobayashi, M., Tanaka, S., Fukai, T., & Okamoto, H. (2012). Molecular characterization of the subnuclei in rat habenula. *J. Comp. Neurol.* 520, 4051–4066
- Allen, G. V., Saper, C. B., Hurley, K. M., & Cechetto, D. F. (1991). Organization of visceral and limbic connections in the insular cortex of the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 311(1), 1-16.
- Altschuler, S. M., Bao, X., Bieger, D., Hopkins, D. A., & Miselis, R. R. (1989). Viscerotopic representation of the upper alimentary tract in the rat: sensory ganglia and nuclei of the solitary and spinal trigeminal tracts. *Journal of Comparative Neurology*, 283(2), 248-268.
- Andres, K. H., Düring, M. V., & Veh, R. W. (1999). Subnuclear organization of the rat habenular complexes. *Journal of Comparative Neurology*, 407(1), 130-150.
- Arundine, M., & Tymianski, M. (2003). Molecular mechanisms of calcium-dependent neurodegeneration in excitotoxicity. *Cell calcium*, 34(4-5), 325-337.
- Baker, P. M., Jhou, T., Li, B., Matsumoto, M., Mizumori, S. J., Stephenson-Jones, M., & Vicentic, A. (2016). The lateral habenula circuitry: reward processing and cognitive control. *Journal of Neuroscience*, 36(45), 11482-11488.
- Baker, P. M., Oh, S. E., Kidder, K. S., & Mizumori, S. J. (2015). Ongoing behavioral state information signaled in the lateral habenula guides choice flexibility in freely moving rats. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 9, 295.
- Baker, P. M., Raynor, S. A., Francis, N. T., & Mizumori, S. J. Y. (2017). Lateral habenula integration of proactive and retroactive information mediates behavioral flexibility. *Neuroscience*, 345, 89-98.
- Bartoshuk, L. M. (1993). The biological basis of food perception and acceptance. *Food Quality and Preference*, 4(1-2), 21-32.
- Bartoshuk, L. M., & Duffy, V. B. (2005). Chemical senses: taste and smell. *The taste culture reader: Experiencing food and drink*, 25-33.
- Berman, D. E. (2003). Modulation of taste-induced Elk-1 activation by identified neurotransmitter systems in the insular cortex of the behaving rat. *Neurobiology of learning and memory*, 79(1), 122-126.
- Berman, D. E., & Dudai, Y. (2001). Memory extinction, learning anew, and learning the new: dissociations in the molecular machinery of learning in cortex. *Science*, 291(5512), 2417-2419.
- Berman, D. E., Hazvi, S., Neduva, V., & Dudai, Y. (2000). The role of identified neurotransmitter systems in the response of insular cortex to unfamiliar taste: activation of ERK1–2 and formation of a memory trace. *Journal of Neuroscience*, 20(18), 7017-7023.
- Bérmudez-Rattoni, F. (2004). Molecular mechanisms of taste-recognition memory. *Nature Reviews Neuroscience*, 5, 209–217.
- Bermúdez-Rattoni, F. y Prado Alcalá, R. (2001). Memoria, donde reside y como se forma. México, D.F. Ed. Trillas
- Bermúdez-Rattoni, F., & McGaugh, J. L. (1991). Insular cortex and amygdala lesions differentially affect acquisition on inhibitory avoidance and conditioned taste aversion. *Brain research*, 549(1), 165-170.
- Bermúdez-Rattoni, F., Introini-Collison, I., Coleman-Mesches, K., & McGaugh, J. L. (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.
- Bermúdez-Rattoni, F., Ramírez-Lugo, L., Gutiérrez, R., & Miranda, M. I. (2004). Molecular signals into the insular cortex and amygdala during aversive gustatory memory formation. *Cellular and molecular neurobiology*, 24(1), 25-36.
- Berthoud, H. R., Blackshaw, L. A., Brookes, S. J., & Grundy, D. (2004). Neuroanatomy of extrinsic afferents supplying the gastrointestinal tract. *Neurogastroenterology & Motility*, 16, 28-33.
- Berthoud, H. R., Kressel, M., Raybould, H. E., & Neuhuber, W. L. (1995). Vagal sensors in the rat duodenal mucosa: distribution and structure as revealed by in vivo Dil-tracing. *Anatomy and embryology*, 191(3), 203-212.
- Bianco, I. H. & Wilson, S., W. (2009). The habenular nuclei: a conserved asymmetric relay station in the vertebrate brain. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B* 364, 1005–1020.

- Bittigau, P., & Ikonomidou, C. (1997). Topical review: glutamate in neurologic diseases. *Journal of Child Neurology*, 12(8), 471-485.
- Braitenberg, V., & Schüz, A. (1998). *Cortex: Statistics and Geometry of Neuronal Connectivity*. 1998. 2ed, Springer New York: Berlin.
- Braveman, N. S., & Bronstein, P. (1985). Experimental assessments and clinical applications of conditioned food aversions. New York Academy of Sciences.
- Brem, A. K., Ran, K., & Pascual-Leone, A. (2013). Learning and memory. *Handbook of clinical neurology*, 116, 693-737.
- Breslin, P. A. (2013). An evolutionary perspective on food and human taste. *Current Biology*, 23(9), R409-R418.
- Brewin, C. R. (2014). Episodic memory, perceptual memory, and their interaction: foundations for a theory of posttraumatic stress disorder. *Psychological bulletin*, 140(1), 69.
- Brooks, D. C., Bowker, J. L., Anderson, J. E., & Palmatier, M. I. (2003). Impact of brief or extended extinction of a taste aversion on inhibitory associations: Evidence from summation, retardation, and preference tests. *Learning & Behavior*, 31(1), 69-84.
- Bures, J., Bermúdez-Rattoni, F., & Yamamoto, T. (1998). Conditioned taste aversion: Memory of a special kind. Oxford Psychology Series.
- Carleton, A., Accolla, R. & Simon, S.A. (2010) Coding in the mammalian gustatory system. *Trends Neurosci.*, 33, 326–334.
- Caynas-Rojas, S., Rodríguez-García, G., Delint-Ramírez, I., & Miranda, M. I. (2019). Differential function of medial prefrontal cortex catecholaminergic receptors after long-term sugar consumption. *Behavioural Brain Research*, 356, 495-503.
- Cechetto, D. F., & Saper, C. B. (1987). Evidence for a viscerotopic sensory representation in the cortex and thalamus in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 262(1), 27-45.
- Chavez-Martinez, M. E., Reyes-Vázquez, C., & Brust-Carmona, H. (1987). Lever pressing and active avoidance conditioning after electrolytic lesions of the entopeduncular nucleus in cats. *Brain research bulletin*, 18(3), 279-284.
- Christoph, G. R., Leonzio, R. J., & Wilcox, K. S. (1986). Stimulation of the lateral habenula inhibits dopamine-containing neurons in the substantia nigra and ventral tegmental area of the rat. *Journal of Neuroscience*, 6(3), 613-619.
- Cole, S., Hobin, M. P., & Petrovich, G. D. (2015). Appetitive associative learning recruits a distinct network with cortical, striatal, and hypothalamic regions. *Neuroscience*, 286, 187-202.
- Contreras, R. J., Beckstead, R. M., & Norgren, R. (1982). The central projections of the trigeminal, facial, glossopharyngeal and vagus nerves: an autoradiographic study in the rat. *Journal of the autonomic nervous system*, 6(3), 303-322.
- De la Cruz, V., Rodriguez-Ortiz, C. J., Balderas, I., & Bermúdez-Rattoni, F. (2008). Medial temporal lobe structures participate differentially in consolidation of safe and aversive taste memories. *European Journal of Neuroscience*, 28(7), 1377-1381.
- Di Lorenzo, P. M., & Monroe, S. (1997). Transfer of information about taste from the nucleus of the solitary tract to the parabrachial nucleus of the pons. *Brain research*, 763(2), 167-181.
- Divac, I., Kosmal, A., Björklund, A., & Lindvall, O. (1978). Subcortical projections to the prefrontal cortex in the rat as revealed by the horseradish peroxidase technique. *Neuroscience*, 3(9), 785-796.
- Domjan, M. (1976). Determinants of the enhancement of flavored-water intake by prior exposure. *Journal of Experimental Psychology. Animal Behavior Processes*, 2, 17–27.
- Domjan, M. (1977). Attenuation and enhancement of neophobia for edible substances. En L. Barker, M. Best, and M. Domjan (Eds.), *Learning mechanisms in food selection* (pp. 151–179). Waco: Baylor University Press.
- Donaire, R., Morón, I., Blanco, S., Villatoro, A., Gámiz, F., Papini, M. R., & Torres, C. (2019). Lateral habenula lesions disrupt appetitive extinction, but do not affect voluntary alcohol consumption. *Neuroscience letters*, 703, 184-190.
- Dudai Y. 2002. *Memory from A to Z*. New York: Oxford university press
- Dudai, Y. (1989). *The neurobiology of memory: concepts, findings, trends*. Oxford University Press.
- Dwyer, T. M. (2018). Chemical Signaling in the Nervous System. En: *Fundamental Neuroscience for Basic and Clinical Applications*. Online Access. Haines, D. E & Mihailoff, G. A. (Eds.) 5ed. Elsevier Health Sciences. pp 54-71.

- Friedman, A., Lax, E., Dikshtein, Y., Abraham, L., Flaumenhaft, Y., Sudai, E., Ben-Tzion, M., Ami-Ad, L., Yaka, R. & Yadid, G. (2010) Electrical stimulation of the lateral habenula produces enduring inhibitory effect on cocaine seeking behavior. *Neuropharmacology*, 59, 452–459.
- Friedman, A., Lax, E., Dikshtein, Y., Abraham, L., Flaumenhaft, Y., Sudai, E., Ben-Tzion, M. & Yadid, G. (2011). Electrical stimulation of the lateral habenula produces an inhibitory effect on sucrose self-administration. *Neuropharmacology*, 60(2-3), 381-387.
- Fulwiler, C. E., & Saper, C. B. (1984). Subnuclear organization of the efferent connections of the parabrachial nucleus in the rat. *Brain Research Reviews*, 7(3), 229-259.
- Gallo, M., & Cándido, A. (1995). Dorsal hippocampal lesions impair blocking but not latent inhibition of taste aversion learning in rats. *Behavioral neuroscience*, 109(3), 413.
- García, J., & Koelling, R. A. (1966). Relation of cue to consequence in avoidance learning. *Psychonomic science*, 4(1), 123-124.
- García, J., Kimeldorf, D. J., Hunt, E. L., & Davies, B. P. (1956). Food and Water Consumption of Rats during Exposure to γ -Radiation. *Radiation research*, 4(1), 33-41.
- Gluck, M. A., Mercado, E., & Myers, C. E. (2009). *Aprendizaje y memoria: del cerebro al comportamiento*. México. Mc Graw Hill
- Gonçalves, L., Segó, C., & Metzger, M. (2012). Differential projections from the lateral habenula to the rostromedial tegmental nucleus and ventral tegmental area in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 520(6), 1278-1300.
- Graf, P., & Schacter, D. L. (1985). Implicit and explicit memory for new associations in normal and amnesic subjects. *Journal of Experimental Psychology: Learning, memory, and cognition*, 11(3), 501.
- Gray, N.S, Snowden, R.J. (2005). The relevance of irrelevance to schizophrenia. *Neurosci Biobehav Rev*. 29:989-99
- Green, A. S., & Grahame, N. J. (2008). Ethanol drinking in rodents: is free-choice drinking related to the reinforcing effects of ethanol?. *Alcohol*, 42(1), 1-11.
- Groenewegen, H. J., Ahlenius, S., Haber, S. N., Kowall, N. W., & Nauta, W. J. H. (1986). Cytoarchitecture, fiber connections, and some histochemical aspects of the interpeduncular nucleus in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 249(1), 65-102.
- Gutierrez, R., & Simon, S. A. (2021). Physiology of taste processing in the tongue, gut, and brain. *Comprehensive Physiology*, 11(4), 2489-2523.
- Gutiérrez, R., Rodríguez-Ortiz, C. J., De La Cruz, V., Núñez-Jaramillo, L., & Bermúdez-Rattoni, F. (2003). Cholinergic dependence of taste memory formation: evidence of two distinct processes. *Neurobiology of learning and memory*, 80(3), 323-331.
- Haack, A. K., Sheth, C., Schwager, A. L., Sinclair, M. S., Tandon, S., & Taha, S. A. (2014). Lesions of the lateral habenula increase voluntary ethanol consumption and operant self-administration, block yohimbine-induced reinstatement of ethanol seeking, and attenuate ethanol-induced conditioned taste aversion. *PLoS one*, 9(4), e92701.
- Hajnal, A., & Norgren, R. (2005). Taste pathways that mediate accumbens dopamine release by sapid sucrose. *Physiology & behavior*, 84(3), 363-369.
- Halsell, C. B., & Travers, S. P. (1997). Anterior and posterior oral cavity responsive neurons are differentially distributed among parabrachial subnuclei in rat. *Journal of neurophysiology*, 78(2), 920-938.
- Halsell, C. B., Travers, S. P., & Travers, J. B. (1996). Ascending and descending projections from the rostral nucleus of the solitary tract originate from separate neuronal populations. *Neuroscience*, 72(1), 185-197.
- Hamilton, R. B., & Norgren, R. (1984). Central projections of gustatory nerves in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 222(4), 560-577.
- Herbert, H., Moga, M. M., & Saper, C. B. (1990). Connections of the parabrachial nucleus with the nucleus of the solitary tract and the medullary reticular formation in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 293(4), 540-580.
- Herkenham, M., & Nauta, W. J. (1979). Efferent connections of the habenular nuclei in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 187(1), 19-47.
- Hikosaka, O. (2007). Basal ganglia mechanisms of reward-oriented eye movement. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1104(1), 229-249.

- Hikosaka, O. (2010). The habenula: from stress evasion to value-based decision-making. *Nature Reviews Neuroscience* 11:503–513.
- Hilgard, E. R., & Marquis, D. G. (1961). Hilgard and Marquis' conditioning and learning.
- Holtz, S. L., Fu, A., Loflin, W., Corson, J. A., & Erisir, A. (2015). Morphology and connectivity of parabrachial and cortical inputs to gustatory thalamus in rats. *Journal of Comparative Neurology*, 523(1), 139-161.
- Hong, S., Jhou, T. C., Smith, M., Saleem, K. S., & Hikosaka, O. (2011). Negative reward signals from the lateral habenula to dopamine neurons are mediated by rostromedial tegmental nucleus in primates. *Journal of Neuroscience*, 31(32), 11457-11471.
- Jhou, T. C., Fields, H. L., Baxter, M. G., Saper, C. B., & Holland, P. C. (2009a). The rostromedial tegmental nucleus (RMTg), a GABAergic afferent to midbrain dopamine neurons, encodes aversive stimuli and inhibits motor responses. *Neuron*, 61(5), 786-800.
- Jhou, T. C., Geisler, S., Marinelli, M., Degarmo, B. A., & Zahm, D. S. (2009b). The mesopontine rostromedial tegmental nucleus: a structure targeted by the lateral habenula that projects to the ventral tegmental area of Tsai and substantia nigra compacta. *Journal of Comparative Neurology*, 513(6), 566-596.
- Ji, H., & Shepard, P. D. (2007). Lateral habenula stimulation inhibits rat midbrain dopamine neurons through a GABA_A receptor-mediated mechanism. *Journal of Neuroscience*, 27(26), 6923-6930.
- Justel, N., & Ruetti, E. (2012). La memoria del sabor. *Revista Argentina de Ciencias del Comportamiento*, 4(1), 31-43.
- Kandel, E. R., & Schwartz, J. H. (1982). Molecular biology of learning: modulation of transmitter release. *Science*, 218(4571), 433-443.
- Kandel, E. R., Schwartz, J. H., & Jessell, T. M. (2000). Principles of neural science. United States of America. McGraw-Hill.
- Karimnamazi, H., & Travers, J. B. (1998). Differential projections from gustatory responsive regions of the parabrachial nucleus to the medulla and forebrain. *Brain research*, 813(2), 283-302.
- Kaufling, J., Veinante, P., Pawlowski, S. A., Freund-Mercier, M. J., & Barrot, M. (2009). Afferents to the GABAergic tail of the ventral tegmental area in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 513(6), 597-621.
- Kim, U., & Lee, T. (2012). Topography of descending projections from anterior insular and medial prefrontal regions to the lateral habenula of the epithalamus in the rat. *European Journal of Neuroscience*, 35(8), 1253-1269.
- Kolb, B., & Nonneman, A. J. (1975). Prefrontal cortex and the regulation of food intake in the rat. *Journal of comparative and physiological psychology*, 88(2), 806.
- Kosar, E., Grill, H. J., & Norgren, R. (1986). Gustatory cortex in the rat. II. Thalamocortical projections. *Brain research*, 379(2), 342-352.
- Lammel, S., Lim, B. K., Ran, C., Huang, K. W., Betley, M. J., Tye, K. M., Deisseroth, K. & Malenka, R. C. (2012). Input-specific control of reward and aversion in the ventral tegmental area. *Nature*, 491(7423), 212-217.
- Lasiter, P. S. (1992). Postnatal development of gustatory recipient zones within the nucleus of the solitary tract. *Brain research bulletin*, 28(5), 667-677.
- Lasiter, P. S., & Kachele, D. L. (1988). Organization of GABA and GABA-transaminase containing neurons in the gustatory zone of the nucleus of the solitary tract. *Brain research bulletin*, 21(4), 623-636.
- Lecca, S., Melis, M., Luchicchi, A., Ennas, M. G., Castelli, M. P., Muntoni, A. L., & Pistis, M. (2011). Effects of drugs of abuse on putative rostromedial tegmental neurons, inhibitory afferents to midbrain dopamine cells. *Neuropsychopharmacology*, 36(3), 589-602.
- Lecourtier, L., & Kelly, P. H. (2007). A conductor hidden in the orchestra? Role of the habenular complex in monoamine transmission and cognition. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 31(5), 658-672.
- Lecourtier, L., DeFrancesco, A., & Moghaddam, B. (2008). Differential tonic influence of lateral habenula on prefrontal cortex and nucleus accumbens dopamine release. *European Journal of Neuroscience*, 27(7), 1755-1762.
- LeDoux, J. E. (2001). Synaptic self: How our brains become who we are. Viking, New York

- Li, Y., Zhong, W., Wang, D., Feng, Q., Liu, Z., Zhou, J., Jia, C., Hu, F., Zeng, J., Guo, Q., Fu, L., & Luo, M. (2016). Serotonin neurons in the dorsal raphe nucleus encode reward signals. *Nature communications*, 7(1), 1-15.
- Ling, S. C., & Li, Q. S J.W. (1995) The collateral projection from the parafascicular thalamic nucleus and the lateral habenular nucleus to the midbrain periaqueductal gray and nucleus raphe magnus in the rat—a fluorescent double-labeling study. *Chin J Neur* 11 (3): 231–234
- Lourenco, F., & Casey, B. J. (2013). Adjusting behavior to changing environmental demands with development. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 37(9), 2233-2242.
- Lubow, R. E. (1973). Latent inhibition. *Psychological bulletin*, 79(6), 398.
- Lubow, R. E. (1989). *Latent inhibition and conditioned attention theory* (No. 9). Cambridge University Press.
- Lubow, R. E., & Moore, A. U. (1959). Latent inhibition: the effect of nonreinforced pre-exposure to the conditional stimulus. *Journal of comparative and physiological psychology*, 52(4), 415.
- Lubow, R. E., Weiner, I., & Schnur, P. (1981). Conditioned attention theory. In *Psychology of learning and motivation* (Vol. 15, pp. 1-49). Academic Press.
- Lubow, R.E. (2005). Construct validity of the animal latent inhibition model of selective attention deficits in schizophrenia. *Schizophr Bull*, 31:139-53
- Lütjens, G., Krauss, J. K., & Schwabe, K. (2011). Lesions of the entopeduncular nucleus in rats prevent apomorphine-induced deficient sensorimotor gating. *Behavioural brain research*, 220(2), 281-287.
- Ma, H., Yang, R., Thomas, S. M., & Kinnamon, J. C. (2007). Qualitative and quantitative differences between taste buds of the rat and mouse. *BMC neuroscience*, 8(1), 1-13.
- Mackintosh, N. J. (1971). An analysis of overshadowing and blocking. *Quarterly Journal of Experimental Psychology*, 23(1), 118-125.
- Margules, D. L. (1971). Localization of anti-punishment actions of norepinephrine and atropine in amygdala and entopeduncular nucleus of rats. *Brain research*, 35(1), 177-184.
- Maroteaux, M., & Mameli, M. (2012). Cocaine evokes projection-specific synaptic plasticity of lateral habenula neurons. *Journal of Neuroscience*, 32(36), 12641-12646.
- Mathis, V., Barbelivien, A., Majchrzak, M., Mathis, C., Cassel, J. C., & Lecourtier, L. (2017). The lateral habenula as a relay of cortical information to process working memory. *Cerebral Cortex*, 27(12), 5485-5495.
- Matsumoto, M., & Hikosaka, O. (2007). Lateral habenula as a source of negative reward signals in dopamine neurons. *Nature* 447, 1111–1115.
- Matsumoto, M., & Hikosaka, O. (2009). Representation of negative motivational value in the primate lateral habenula. *Nat Neurosci* 12, 77–84.
- Matsunami, H., Montmayeur, J. P., & Buck, L. B. (2000). A family of candidate taste receptors in human and mouse. *Nature*, 404(6778), 601-604.
- May, O. L., Erisir, A., & Hill, D. L. (2007). Ultrastructure of primary afferent terminals and synapses in the rat nucleus of the solitary tract: comparison among the greater superficial petrosal, chorda tympani, and glossopharyngeal nerves. *Journal of Comparative Neurology*, 502(6), 1066-1078.
- Maycotte, P. & Morán, J. (2007). Oxidative stress and energy: Determinants in the shape of neuronal death?. En: *The neurochemistry of neuronal death*. Massieu, L., Arias, C., & Morán, J., (Eds). Research Signpost, Kerala, India. pp 95-119.
- Mazur, J. E. (1994). *Learning and Behavior* (3 ed). Englewood Cliffs, NJ: Prentice Hall.
- McGaugh, J. L. (1989). *Neurobiology of learning and memory*. World Scientific.
- Menetrey, D., & Basbaum, A. I. (1987). Spinal and trigeminal projections to the nucleus of the solitary tract: a possible substrate for somatovisceral and viscerovisceral reflex activation. *Journal of Comparative Neurology*, 255(3), 439-450.
- Menetrey, D., & De Pommery, J. (1991). Origins of spinal ascending pathways that reach central areas involved in viscerosensation and viscerosensation in the rat. *European Journal of Neuroscience*, 3(3), 249-259.
- Meye, F. J., Lecca, S., Valentinova, K., & Mameli, M. (2013). Synaptic and cellular profile of neurons in the lateral habenula. *Frontiers in human neuroscience*, 7, 860.
- Mickley, G., Remmers-Roeber, D., Crouse, C. & Peluso, R. (2000). Ketamine blocks a taste recognition memory in fetal rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 67, 575-581.
- Mizumori, S. J., & Baker, P. M. (2017). The lateral habenula and adaptive behaviors. *Trends in neurosciences*, 40(8), 481-493.

- Molero-Chamizo, A., & Morón, I. (2015). Latent inhibition of conditioned taste aversion in rats with excitotoxic dorsal hippocampal lesions. *Journal of neuroscience research*, 93(11), 1740-1747.
- Morris, C. G. & Maisto, A. A. (2005). Cap. 3 Sensación y percepción. En *Introducción a la Psicología*. (12ª ed) (pp. 99-143). México. Pearson Educación.
- Morris, J. S., Smith, K. A., Cowen, P. J., Friston, K. J., & Dolan, R. J. (1999). Covariation of activity in habenula and dorsal raphe nuclei following tryptophan depletion. *Neuroimage*, 10(2), 163-172.
- Moser, P.C., Hitchcock, J.M., Lister, S., Moran, P.M. (2000). The pharmacology of latent inhibition as an animal model of schizophrenia. *Brain Res Brain Res Rev* 33:275-307
- Myers, D. G. (2007). *Psychology*. Modules sl: Worth Publishers. 8ed. 978-0716779278
- Nishikawa, T., Fage, D., & Scatton, B. (1986). Evidence for, and nature of, the tonic inhibitory influence of habenulointerpeduncular pathways upon cerebral dopaminergic transmission in the rat. *Brain research*, 373(1-2), 324-336.
- Norgren, R. (1978). Projections from the nucleus of the solitary tract in the rat. *Neuroscience*, 3(2), 207-218.
- Norgren, R., & Leonard, C. M. (1971). Taste pathways in rat brainstem. *Science*, 173(4002), 1136-1139.
- Norgren, R., & Leonard, C. M. (1973). Ascending central gustatory pathways. *Journal of Comparative Neurology*, 150(2), 217-237.
- Norgren, R., & Smith, G. P. (1988). Central distribution of subdiaphragmatic vagal branches in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 273(2), 207-223.
- Norgren, R., & Wolf, G. (1975). Projections of thalamic gustatory and lingual areas in the rat. *Brain research*, 92(1), 123-129.
- Nowlis, G. H., Frank, M. E., & Pfaffmann, C. (1980). Specificity of acquired aversions to taste qualities in hamsters and rats. *Journal of comparative and physiological psychology*, 94(5), 932.
- Núñez-Jaramillo, L., Ramírez-Lugo, L., Herrera-Morales, W. & Miranda, M. (2010). Taste memory formation: Latest advances and challenges. *Behavioural Brain Research*, 207, 232-248.
- Ozaki, N., Sengupta, J. N., & Gebhart, G. F. (1999). Mechanosensitive properties of gastric vagal afferent fibers in the rat. *Journal of neurophysiology*, 82(5), 2210-2220.
- Pavlov, I. P. (1927). *Conditional reflexes* (tr. Ing. GV Anrep). London: Oxford University Press.
- Paxinos, G., & Watson, C. (2014). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. 7 ed., San Diego, California, USA: Academic Press.
- Powley, T. L., Spaulding, R. A., & Haglof, S. A. (2011). Vagal afferent innervation of the proximal gastrointestinal tract mucosa: chemoreceptor and mechanoreceptor architecture. *Journal of Comparative Neurology*, 519(4), 644-660.
- Purves, D., Augustine, G. J., Fitzpatrick, D., Hall, W. C., LaMantia, A. S. & White, L., E., (2016). *Neurociencia*. 5 ed., Editorial Médica Panamericana.
- Quirk, G. J., Reppas, J. C., & LeDoux, J. E. (1995). Fear conditioning enhances short-latency auditory responses of lateral amygdala neurons: parallel recordings in the freely behaving rat. *Neuron*, 15(5), 1029-1039.
- Ramírez-Amaya, V., Alvarez-Borda, B., Ormsby, C. E., Martínez, R. D., Pérez-Montfort, R., & Bermúdez-Rattoni, F. (1996). Insular cortex lesions impair the acquisition of conditioned immunosuppression. *Brain, behavior, and immunity*, 10(2), 103-114.
- Reber, A. S., Walkenfeld, F., F., & Hernstadt, R. (1991). Implicit and explicit learning: Individual differences and IQ. *Journal of Experimental Psychology: Learning, Memory, and Cognition*, 17(5), 888.
- Revusky, S. H., & Bedarf, E. W. (1967). Association of illness with prior ingestion of novel foods. *Science*, 155(3759), 219-220.
- Ricardo, J. A., & Koh, E. T. (1978). Anatomical evidence of direct projections from the nucleus of the solitary tract to the hypothalamus, amygdala, and other forebrain structures in the rat. *Brain research*, 153(1), 1-26.
- Rinaman, L. (2010). Ascending projections from the caudal visceral nucleus of the solitary tract to brain regions involved in food intake and energy expenditure. *Brain research*, 1350, 18-34.
- Rinaman, L., & Schwartz, G. (2004). Anterograde transneuronal viral tracing of central viscerosensory pathways in rats. *Journal of Neuroscience*, 24(11), 2782-2786.
- Rinaman, L., Saboury, M., & Litvina, E. (2009). Ondansetron blocks LiCl-induced conditioned place avoidance but not conditioned taste/flavor avoidance in rats. *Physiology & behavior*, 98(4), 381-385.

- Robertson, L., T. (2002). Memory and the brain. *J Dent Educ.* 66:30-42
- Roman, C. W., Derkach, V. A., & Palmiter, R. D. (2016). Genetically and functionally defined NTS to PBN brain circuits mediating anorexia. *Nature communications*, 7(1), 1-11.
- Roper, S. D. (2007). Signal transduction and information processing in mammalian taste buds. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*, 454(5), 759-776.
- Rozin, P. (1968). Specific aversions and neophobia resulting from vitamin deficiency or poisoning in half-wild and domestic rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 66, 82-88.
- Saper, C. B., & Loewy, A. D. (1980). Efferent connections of the parabrachial nucleus in the rat. *Brain research*, 197(2), 291-317.
- Schier, L. A., & Spector, A. C. (2019). The functional and neurobiological properties of bad taste. *Physiological reviews*, 99(1), 605-663.
- Schmajuk, N. (2005). Brain-behaviour relationships in latent inhibition: a computational model. *Neurosci Biobehav Rev* 29:1001-20
- Schultz, W. (1998). Predictive reward signal of dopamine neurons. *Journal of neurophysiology*, 80(1), 1-27.
- Selby, G. (1968). *Handbook of Clinical Neurology*. Vinken, P., J., Bruyn, G., W. (Eds). Vol. 6. Amsterdam: North Holland Publishing Company. p. 173-211.
- Shapiro, R. E., & Miselis, R. R. (1985). The central neural connections of the area postrema of the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 234(3), 344-364.
- Shumake, J., Ilango, A., Scheich, H., Wetzell, W., & Ohl, F. W. (2010). Differential neuromodulation of acquisition and retrieval of avoidance learning by the lateral habenula and ventral tegmental area. *Journal of neuroscience*, 30(17), 5876-5883.
- Sohn, J. W., Elmquist, J. K., & Williams, K. W. (2013). Neuronal circuits that regulate feeding behavior and metabolism. *Trends in neurosciences*, 36(9), 504-512.
- Stamatakis, A. M., & Stuber, G. D. (2012). Activation of lateral habenula inputs to the ventral midbrain promotes behavioral avoidance. *Nature neuroscience*, 15(8), 1105-1107.
- Sweatt, J., D. (2003). *Mechanisms of memory*. Academic Press.
- Sweatt, J., D. (2010). *Mechanisms of memory*. (2 Ed.) Academic Press.
- Tandon, S., Keefe, K. A., & Taha, S. A. (2017). Excitation of lateral habenula neurons as a neural mechanism underlying ethanol-induced conditioned taste aversion. *The Journal of physiology*, 595(4), 1393-1412.
- Tassoni, G., Lorenzini, C. A., Baldi, E., Sacchetti, B., & Bucherelli, C. (2000). Role of the perirhinal cortex in rats' conditioned taste aversion response memorization. *Behavioral neuroscience*, 114(5), 875.
- Thorndike, E. L. (1898). Animal intelligence. *Psychological Review Monograph*, 2 (4, whole No. 8).
- Thornton, E. W., & Evans, J. A. C. (1984). The effects of lesions of the habenula nucleus on lever press behaviour during a tandem operant schedule with contrasting response requirements. *Behavioural brain research*, 12(3), 327-334.
- Tokita, K., & Boughter Jr, J. D. (2016). Topographic organizations of taste-responsive neurons in the parabrachial nucleus of C57BL/6J mice: an electrophysiological mapping study. *Neuroscience*, 316, 151-166.
- Tokita, K., Inoue, T., & Boughter Jr, J. D. (2010). Subnuclear organization of parabrachial efferents to the thalamus, amygdala and lateral hypothalamus in C57BL/6J mice: a quantitative retrograde double labeling study. *Neuroscience*, 171(1), 351-365.
- Tolman, E. C., & Honzik, C. H. (1930). Introduction and removal of reward, and maze performance in rats. *University of California publications in psychology*. 4,257-275.
- Traverso, L. M., Quintero, E., Vargas, J. P., De la Casa, L. G., & Lopez, J. C. (2010). Taste memory trace disruption by AP5 administration in basolateral amygdala. *Neuroreport*, 21(2), 99-103.
- Turgeon, S. M., Kegel, G., & Davis, M. M. (2001). Electrolytic lesions of the medial septum enhance latent inhibition in a conditioned taste aversion paradigm. *Brain research*, 890(2), 33.
- Ullsperger, M., & Von Cramon, D. Y. (2003). Error monitoring using external feedback: specific roles of the habenular complex, the reward system, and the cingulate motor area revealed by functional magnetic resonance imaging. *Journal of Neuroscience*, 23(10), 4308-4314.
- Vanderwolf C. H., Cain, D. P. (1994). The behavioral neurobiology of learning and memory: a conceptual reorientation. *Brain Res Brain Res Rev* 19:264-97

- Varga, V., Kocsis, B., Sharp, T. (2003). Electrophysiological evidence for convergence of inputs from the medial prefrontal cortex and lateral habenula on single neurons in the dorsal raphe nucleus. *European Journal of Neuroscience* 17:280–286.
- Vera-Rivera, G., Miranda, M. I., Rangel-Hernández, J. A., Badillo-Juárez, D., Fregoso-Urrutia, D., & Caynas-Rojas, S. (2020). Effects of caloric or non-caloric sweetener long-term consumption on taste preferences and new aversive learning. *Nutritional neuroscience*, 23(2), 128-138.
- Vincis, R., & Fontanini, A. (2019). Central taste anatomy and physiology. *Handbook of clinical neurology*, 164, 187-204.
- Voshart, K., & Van Der Kooy, D. (1981). The organization of the efferent projections of the parabrachial nucleus to the forebrain in the rat: a retrograde fluorescent double-labeling study. *Brain research*, 212(2), 271-286.
- Wang, D., Li, Y., Feng, Q., Guo, Q., Zhou, J., & Luo, M. (2017). Learning shapes the aversion and reward responses of lateral habenula neurons. *Elife*, 6, e23045.
- Wang, S., Liu, M. Z., & Jiang, Y. (1980) Spontaneous discharges of habenular nucleus and its inhibitory action on nucleus raphe magnus. *Sci Bull* 25:83–88
- Weiss, T., & Veh, R. W. (2011). Morphological and electrophysiological characteristics of neurons within identified subnuclei of the lateral habenula in rat brain slices. *Neuroscience*, 172, 74-93.
- Welzl, H., D'Adamo, P., & Lipp, H. P. (2001). Conditioned taste aversion as a learning and memory paradigm. *Behavioural brain research*, 125(1-2), 205-213.
- Yanez, J. & Anadon, R. (1994). Afferent and efferent connections of the habénula in the larval sea lamprey (*Petromyzonmarinus* L.): an experimental study. *J. Comp. Neurol.* 345,148–160
- Zahm, D. S., & Root, D. H. (2017). Review of the cytology and connections of the lateral habenula, an avatar of adaptive behaving. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 162, 3-21.
- Zhang, C., Truong, K. K., & Zhou, Q. Y. (2009). Efferent projections of prokineticin 2 expressing neurons in the mouse suprachiasmatic nucleus. *PloS one*, 4(9), e7151.
- Zhou, X., Hollern, D., Liao, J., Andrechek, E., & Wang, H. (2013). NMDA receptor-mediated excitotoxicity depends on the coactivation of synaptic and extrasynaptic receptors. *Cell death & disease*, 4(3), e560-e560.

11. Glosario

Adquisición: proceso por el cual la información nueva se incorpora y procesa en el sistema nervioso, mediada a través de los estímulos sensoriales.

Aprendizaje: cambio en la conducta más o menos permanente, resultante de la experiencia y que no es debido a la maduración, fatiga, drogas y/o enfermedad.

Aversión condicionada al sabor (CAS): Asociación aprendida entre un sabor novedoso de cierto alimento (EC) y la sensación de malestar gástrico (EI), incluso si solo hubo un apareamiento de los estímulos condicionados e incondicionado.

Condicionamiento clásico: Tipo de aprendizaje en el que una respuesta provocada de manera natural por un estímulo llega a ser provocada por un estímulo diferente previamente neutral.

Condicionamiento operante: tipo de aprendizaje en el cual las conductas son emitidas (en presencia de estímulos específicos) para obtener recompensa o evitar un castigo.

Condicionamiento: la adquisición de patrones específicos de conducta ante la presencia de estímulos bien definidos.

Consolidación: proceso por el cual la información adquirida (memoria de corto plazo) se mantiene e incorpora a una memoria de largo plazo, la cual es estable y resistente a cualquier interferencia.

Estímulo condicionado (EC): Un estímulo originalmente neutral que se pareo con un estímulo incondicionado y a la larga produce la respuesta deseada en un organismo cuando se presenta solo.

Estímulo incondicionado (EI): estímulo que invariablemente ocasiona que un organismo responda de manera específica.

Evocación: proceso mediante el cual la información previamente procesada y almacenada, es recuperada (extraída) y expresada en la forma de una conducta determinada cuando se necesita.

Participación diferencial de la habénula lateral durante la formación de la memoria de aversión al azúcar y durante la inhibición latente inducida por la familiarización a este sabor

Extinción: un decremento en la fuerza o frecuencia de una respuesta aprendida a causa de no continuar el pareamiento del EI y el EC (condicionamiento clásico), o de retener el reforzamiento (condicionamiento operante).

Glutamato: Neurotransmisor aminoácido que actúa para excitar a las neuronas, además, es considerado el principal mediador de la información sensorial, la coordinación motora, las emociones y la cognición, incluida la formación y recuperación de la memoria.

Gusto: experiencia química que incluye las cualidades básicas: dulce, ácido, amargo, salado y umami.

Habénula lateral: estructura pequeña ubicada en el epítalamo a lado de la glándula pineal, la cual se ha visto implicada en el procesamiento de información aversiva y gratificante a través de la modulación de sistemas de dopamina y serotonina.

Inhibición latente: disminución en la capacidad de asociar un estímulo determinado con algún otro, debido a la preexposición no reforzada (familiaridad) de dicho estímulo.

Memoria: procesos a través de los cuales se almacena la información aprendida.

Papilas gustativas: Estructuras sobre la lengua que contienen las células receptoras del gusto.

Receptores NMDA: Receptores de N-metil-D-aspartato (NMDA), una de las tres clases principales de receptores a glutamato que han sido implicados en actividades que van desde el aprendizaje y la memoria hasta el desarrollo y especificación de contactos nerviosos en un animal en desarrollo.

Respuesta condicionada (RC): después del condicionamiento, la respuesta que produce el organismo cuando solo se presenta un estímulo condicionado.

Respuesta incondicionada (RI): Respuesta que tiene lugar en un organismo siempre que se presenta un estímulo incondicionado.

Sabor: combinación compleja entre el gusto, olfato, temperatura y textura de los alimentos.