



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**  
**INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA**



**MAESTRÍA EN CIENCIAS**  
**NEUROBIOLOGIA**

**EFFECTO DEL BLOQUEO DE LOS RECEPTORES  $\beta$ -ADRENÉRGICOS EN LA**  
**CORTEZA PREFRONTAL SOBRE LA FORMACIÓN DE MEMORIAS DE**  
**AVERSION AL SABOR.**

**TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRIA EN CIENCIAS**  
**(NEUROBIOLOGIA)**  
**PRESENTA**

**MED. JULIAN V. REYES LÓPEZ**

**DIRECTORA DE TESIS:**  
**DRA. MARÍA ISABEL MIRANDA SAUCEDO**

**JURADO:**  
**DRA. GINA LORENA QUIRARTE**  
**PRESIDENTE.**  
**DRA. MARTHA LILIA ESCOBAR RODRIGUEZ**  
**VOCAL**  
**DR. JOSÉ GERARDO ROJAS PILONI**  
**SUPLENTE**  
**DRA. JOSEFINA RICARDE GARCELL**  
**SUPLENTE**



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: Julian V. Reyes López, cuyo título es: “Efecto del bloqueo de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos en la corteza prefrontal sobre la formación de memorias de aversión al sabor” se presenta como uno de los requisitos para obtener el grado de Maestría 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 (Tutor)

Dra. María Isabel Miranda Saucedo \_\_\_\_\_

Vocal

Dra. Martha Lilia Escobar Rodríguez. \_\_\_\_\_

Suplente

Dr. José Gerardo Rojas Piloni. \_\_\_\_\_

Suplente

Dra. Josefina Ricardo Garcell \_\_\_\_\_

Aprobado por el Comité Académico

\_\_\_\_\_  
Coordinador del Programa

Dedicatoria.

A Arafat.  
Con todo mi amor,  
Con mis defectos y virtudes,  
Te dedico este trabajo, parte de mí.  
Gracias por ser ese sol  
Que dio luz a mis días,  
Por ser inspiración  
Y fuente de vida.

*“Si puedes concentrarte, entonces ven  
Juntaremos las manos  
Y veremos la salida del Sol  
Desde el fondo del océano  
Pero antes, dime ¿has vivido la experiencia?  
Yo si  
Es probable que llores y grites  
Y que tu pequeño mundo no te permita venir  
Ya puedo escuchar a lo lejos trompetas y violines  
Me parece que nos están llamando  
Quizá no puedas oírlos pero lo harás  
No te preocupes; es realmente bello”*

*James Marshall Hendrix (1942 - 1970)*

Agradezco:

A mi familia, mis padres Elvia y Valeriano así como mi hermana Ana Lucia.

Por compartir un estado psicótico prolongado, durante la realización de este proyecto.

A mi tutora: Dra. María Isabel Miranda Saucedo.

Por la libertad y confianza que me otorgo, para la realización de este proyecto.

Al Dr. José Antonio Flores Gallardo.

Quien me enseñó la importante lección de anudar mi corbata entre otras cosas menos importantes como fueron la dedicación, el esfuerzo y la disciplina.  
(Su esfuerzo no fue en vano)

Un agradecimiento muy especial a la Dra. Josefina Ricardo y el Dr. Larriva.

Por lograr una reconciliación espiritual entre la neuroanatomía y mi persona. Jamás habían sido expresadas con tal arte y magia las circunvoluciones cerebrales, y jamás se había entonado con tal pasión el trayecto de las fibras arciformes.

Al Dr. Piloni.

Por su perspectiva certera, puntual y sincera, en la organización de este trabajo, sin sus acertadas observaciones, aun estaría nadando a la deriva entre los conceptos, la información, balanceándome peligrosamente en ese mar embravecido de los antecedentes y los resultados.  
(ODL)

Al Dr. Pardes.

Por su colaboración para un adecuado análisis estadístico de los datos, así como sus observaciones durante estos dos años de tutorales.

A la Dra. Gina Quirarte.

Por su contribución en los conocimientos teóricos de memoria y aprendizaje y por sus  
acertadas observaciones que permitieron enriquecer la discusión de esta tesis.

Al Dr. Luis Nuñez.

Por sus enseñanzas más allá de lo técnico, un tanto más dirigido hacia las energías  
sutiles de lo que realmente es importante.

A la M.C. Mireya Romero.

Por su apoyo técnico y amistad durante estos tres años de estancia en el laboratorio.

A mis compañeros de laboratorio. Gabriela, Nadia, Alex y Belen.

Por su compañía durante este camino, con esa conducta que nos distinguió  
Al ser poco precavidos de las contingencias del ambiente,  
Con el eterno grito de “ranas saltan”  
Lanzándonos a aventuras  
En inhóspitos terrenos  
Y en bacanales  
Encuentros de gula...

A Elida:

Por enseñarme que la vida  
Es un más que iones  
Moviéndose  
A través membrana.

A mis musas y mis brujas, pasadas y presentes:

Sin ustedes no sería lo que hoy soy,  
Gracias por su amistad,  
Por su vacío,  
Por su indiferencia,  
Su alegría,  
Sus sueños  
Y sus pesadillas.

A mis eternos maestros:

Alejandro Jodorowsky  
Dr. Ernesto Licon.  
Dr. John Grinder.  
Dr. Jorge Bucay.  
Dr. Manuel Rosales.  
Dra. Carmen Bostic Sinclair  
Dra. Rosalba Rodriguez  
Lic. Ricardo Soriano.

A mis siempre amigos:

Alejandro.  
Gustavo.  
Omar.

Un agradecimiento muy especial al laboratorio C-03 del Dr. Manuel Salas, por las facilidades brindadas para la utilización del criostato.

Al personal de la biblioteca por las facilidades brindadas para las consultas realizadas durante el periodo de maestría en especial a: Román Pacheco Barrita, por todo su apoyo para la consulta de material.

Al MVZ . José Martín García Servín, por las facilidades brindadas para la obtención de los sujetos experimentales, muchas veces solicitados fuera de tiempo y número convenido por el laboratorio.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología  
Becario No: 228471

A la Dirección General de Estudios de Posgrado de la UNAM  
Becario No:508001604

A los donativos: CONACyT 46161M y 41754Q, CONACyT 54524, DGAPA – PAPIIT  
IN201308.

## Resumen.

La corteza prefrontal medial (CPFm) participa de manera importante en procesos cognitivos, la cual posee una diversidad de interacciones con diferentes áreas del SNC. De manera particular la conexión entre la CPFm con la corteza insular, un área vital para el aprendizaje y memoria del sabor. La CPFm participa durante la extinción del condicionamiento de aversión a los sabores (CAS), el cual es un modelo de memoria, donde los animales aprenden a evitar un sabor novedoso que se asocia a un malestar visceral. Debido a que la CPFm es modulada por proyecciones directas del locus coeruleus (LC), en este trabajo analizamos el efecto del propranolol (antagonista beta adrenérgico) en la CPFm en dos tipos de aprendizaje del sabor: asociativo bajo el paradigma del CAS e incidental con el modelo de inhibición latente (LI) (la pre-exposición a un estímulo disminuye futuras asociaciones del mismo con cualquier otro) del CAS. Para lograrlo, se administró propranolol (20  $\mu$ g/ 0.5  $\mu$ g) 10 minutos antes de la adquisición o bien 10 minutos antes de la prueba de memoria del CAS. En la IL del CAS, se infundió propranolol (misma dosis y tiempos) previo a la pre-exposición. Nuestros datos revelan que el propranolol antes adquisición y la prueba de memoria, bloquea la formación/consolidación del CAS y la evocación del CAS respectivamente. Durante la IL del CAS, el propranolol administrado en la pre-exposición carece de efecto en la IL del CAS. Esto sugiere que los receptores beta adrenérgicos tienen un efecto diferencial en la CPFm dependiendo de tipo si el aprendizaje es asociativo o incidental.



## Abstract

The medial prefrontal cortex (mPFC) has a role in cognitive processes, and it is interconnected with several areas, such the insular cortex implicated in taste memory formation. The mPFC also has a role during the extinction of conditioned taste aversion (CTA), a memory model where animals learn to avoid a new taste associated with visceral malaise. An important noradrenergic modulation of mPFC has been suggested through direct projections from the locus coeruleus (LC) to the mPFC. We have interest in the effects of propranolol (beta-adrenergic antagonist) in mPFC in two kinds of taste learning: associative and incidental. For associative learning, we used CTA model. Propranolol infusions (20  $\mu$ g/ 0.5  $\mu$ l) were applied 10 min before CTA acquisition, and 10 min before CTA retrieval. For incidental taste learning we used the latent inhibition (LI) process. LI is an incidental learning where stimulus pre-exposure induces a decrease in subsequent association between the same stimulus and another one. of CTA model. Our study reveals that the infusions of propranolol in mPFC before CTA acquisition disrupt the acquisition and/ or the consolidation of CTA memory, while infusions of propranolol before the retrieval test disrupt the memory recovery process. Propranolol infusions (at the same dose) before taste pre-exposure did not have any effect on LI of CTA. Our results indicate a differential function of noradrenergic receptors in mPFC during taste aversive or incidental memory formation.

## CONTENIDO

DEDICATORIA.....	III
AGRADECIMIENTOS.....	IV
RESUMEN ESPAÑOL.....	VII
ABSTRACT.....	VIII
1 ABREVIATURAS.....	4
2 INTRODUCCION.....	7
2.1 APRENDIZAJE Y MEMORIA.....	7
2.2 CONDICIONAMIENTO DE AVERSIÓN A LOS SABORES.....	11
2.3 INHIBICIÓN LATENTE E INHIBICIÓN LATENTE DEL CAS.....	12
2.4 NEUROANATOMÍA DE LA RUTA DEL SABOR.....	17
2.5 NEUROANATOMÍA DE LA CORTEZA PREFRONTAL.....	20
2.6 PAPEL DEL SISTEMA $\beta$ -ADRENÉRGICO DURANTE EL CONDICIONAMIENTO DE AVERSIÓN A LOS SABORES Y LA INHIBICION LATENTENTE DEL CAS.....	27
3 ANTECEDENTES.....	30
3.1 CORTEZA PREFRONTAL Y SU FUNCIÓN EN LA INTEGRACIÓN DE LOS ESTÍMULOS GUSTATIVOS.....	30
3.2 CORTEZA PREFRONTAL Y CONDICIONAMIENTO DE AVERSIÓN A LOS SABORES.....	33
3.3 ASOCIACIÓN CPF Y NORADRENALINA.....	37
4 JUSTIFICACIÓN.....	40
5 HIPÓTESIS.....	42
6 OBJETIVOS.....	42
6.1 OBJETIVOS GENERALES.....	42
6.2 OBJETIVOS PARTICULARES.....	42
7 MATERIALES Y MÉTODOS.....	43
7.1 SUJETOS.....	43
7.2 CIRUGÍA.....	44
7.3 INFUSIONES.....	44
7.4 PARADIGMAS CONDUCTUALES.....	45

7.4.1	CONDICIONAMIENTO DE AVERSIÓN DEL SABOR.....	45
7.4.2	MODELO DE PERCEPCIÓN DEL SABOR.....	46
7.4.3	INHIBICIÓN LATENTE DEL CONDICIONAMIENTO DE AVERSIÓN A LOS SABORES.....	47
7.5	HISTOLOGIA.....	49
7.5.1	ANÁLISIS HISTOLÓGICO .....	50
7.6	ANÁLISIS DE DATOS .....	52
8	EXPERIMENTOS .....	53
8.1	EFFECTOS DE LAS INFUSIONES DE PROPRANOLOL ANTES DE LA ADQUISICIÓN- CONSOLIDACIÓN Y LA EVOCACIÓN DEL CONDICIONAMIENTO DE AVERSIÓN A LOS SABORES.....	53
8.1.1	EXPERIMENTO 1. (INFadq).....	53
8.1.2	EXPERIMENTO 2 (INFev) .....	57
8.1.3	EXPERIMENTO 3. PERCEPCIÓN DEL SABOR .....	59
8.1.4	EXPERIMENTO 4. PRUEBA DE DEPENDENCIA DE ESTADO .....	60
8.2	EFFECTOS DE LA INFUSIÓN DE PROPRANOLOL EN LA INHIBICIÓN LATENTE DEL CAS 62	
8.2.1	EXPERIMENTO 5. INHIBICIÓN LATENTE DEL CAS .....	62
9.	DISCUSIÓN.....	67
10.	CONCLUSIONES .....	75
11.	BIBLIOGRAFIA .....	76
12.	LISTA DE FIGURAS .....	82
13.	APENDICES.....	83
13.1	APÉNDICE 1. NORADRENALINA.....	83
13.1.1	RECEPTORES NORADRENERGICOS .....	83
13.1.2	RECEPTORES $\beta$ -ADRENÉRGICOS.....	85
13.1.3	LOCALIZACIÓN DE NA EN EL SNC .....	85
13.2	APÉNDICE 2. LA INHIBICIÓN LATENTE COMO MODELO DE ESTUDIO DE ESQUIZOFRENIA. ....	87
13.3	APÉNDICE3 . EJEMPLO DEL ANÁLISIS DE DATOS, COMPARACIÓN POR GRUPOS Y POR HISTOLOGÍA.....	89

# 1 ABREVIATURAS

AA	Área amigdalina anterior
AC	Corteza cingulada anterior
AC	División ventral dorsal
ACd	Área cingulada anterior porción dorsal
ACh	Acetilcolina
ACT	Corteza entorrinal.
Agm	Área medial agranular
AGm	Corteza frontal agranular
AHN	Núcleo anterior del hipotálamo
AI d v	Corteza insular zona a granular división ventral
Ald y p	Corteza insular agranular división dorsal, posterior y ventral
AIL y/o AI	Área infralímbica
AM	Amígdala
AM	Núcleo antero medial del tálamo
AON	Núcleo olfatorio anterior
AVE	Aferente visceral especial
BLA	Amígdala basolateral
BLA	Núcleo basolateral de la amígdala
BMA	Núcleo basal medial de la amígdala
BO	Bulbo olfatorio
BST	Núcleo de la estría terminalis
C	Cerebelo
CA1	CA1. Cuerno de ammon
CAS	Condicionamiento de aversión al sabor
Cc	Cuerpo calloso
CeA	Núcleo central de la amígdala
CEM	Núcleo central medial del tálamo
CGA	Área gustativa de la corteza insular
CI	Corteza insular
CIL	Corteza infralímbica
CL	Núcleo central del tálamo
CLA	Clastrum
CLi	Núcleo central linear
COA	Núcleo cortical de la amígdala
CP	Caudado putamen
CP	Cuerda del tímpano
CPF	Corteza prefrontal
Cpfl	CPF lateral
CPFm	CPF medial
DBh	Núcleo de la banda diagonal

DMH	Núcleo dorso medial del hipotálamo
DR	Núcleo dorsal del rafe
DR	Núcleos del rafe
EC	Estímulo condicionado
EI	Estímulo incondicionado
EN	Núcleo endo piriforme
FPm	Corteza frontal medial polar.
FR2	Área medial precentral también llamada corteza frontal área 2
GABA	Ácido gama-aminobutírico
GSP	Rama petrosa
HL	Hipotálamo lateral
HL	Hipotálamo lateral
IAM	Núcleo interanteromedial del tálamo
IC	Colículo inferior
Ihy	Área hipotalámica lateral
IIE	Intervalo interestímulo
IMD	Núcleo intermedio dorsal del tálamo
InL	Inhibición latente
IP	Núcleo Inter peduncular
IP	Núcleo interpeduncular
KA	Kainato
LA	Núcleo lateral de la amígdala
LC	Locus coeruleus
LDT	Núcleo laterodorsal tegmental
LHy	Núcleo lateral del hipotálamo
LM	Núcleo lateral mamilar del hipotálamo
LPo	Área preóptica lateral
LPO	Áreas pre ópticas
LS	Núcleo lateral septal
LS	Septum lateral
MD	Núcleo medio dorsal del talamotálamo
MEA	Núcleo medial de la amígdala
MO	Área orbital medial
MO	Corteza orbital medial
MPO	Área pre óptica medial
MPO	Área preóptica medial
MR	Núcleo medial del rafe
MS	Septum medial
N7	Núcleo del facial
NA	Noradrenalina
Nac	Núcleo accumbens
NG	Rama lingual del glossofaríngeo
NI	Núcleo incierto
NLS	Nervio laríngeo superior
NPB	Núcleo parabraquial

NPO	Núcleo oral del puente
NT	Neurotransmisores
NTS	Núcleo del tracto solitario
NVPM	Núcleo ventral posteromedial del tálamo
OT	Tubérculo olfatorio
PAG	Sustancia gris periacueductal
Pbm	Núcleo para braquial división medial y lateral
Pfx	Región peri fornix del hipotálamo
PH	Núcleo posterior del hipotálamo
PL	Área prelímbica
PL	Corteza prelímbica
PLd	Parte dorsal del area prelímbica
PLv	Parte ventral de area prelímbica
PN	Núcleo pontino
PRC	Corteza Perihinal
PT	Núcleo paratenial del talamotálamo.
PV	Núcleo paraventricular del talamotálamo
RE	Núcleo reuniens del talamotálamo
RH	Núcleo romboide del hipotálamo
RSC	Corteza retroeplenica
SI	Sustancia innominada
SLN	Núcleo supra lemniscal
SNc	Sustancia nigra pars compacta
SUB	Subiculum
SUM	Núcleo supra mamilar
SUM	Núcleo supramamilar del hipotálamo
TTd	Taenia tecta dorsal
VLO	Corteza orbital ventral y lateral
VO	Corteza orbital ventral
VP	Pálido ventral
VTA	Área ventral tegmental

## 2 INTRODUCCION

### 2.1 APRENDIZAJE Y MEMORIA

La base de la evolución es la adaptación. La supervivencia de las especies depende de su habilidad para adaptarse a los requerimientos de su ambiente. Hay, sin embargo, muchos caminos que llevan a esa adaptación. A través de los lentos procesos de las mutaciones genéticas y la selección natural, las especies pueden adquirir los mecanismos fisiológicos necesarios para hacer frente a muchas condiciones del ambiente. Estas adaptaciones son particularmente aparentes en el comportamiento. Sin embargo dada la complejidad del ambiente y la lentitud de los procesos evolutivos, esta adaptación nunca es mediata lo cual puede ser fatal para los organismos. Así que, la base más flexible para la adaptación individual, fue dada por la evolución a través de la capacidad de los organismos de variar sus respuestas de comportamiento en función de los requerimientos del ambiente, esto es aprender.

La ventaja del aprendizaje es su velocidad en comparación con los procesos evolutivos. Mientras que la adaptación poblacional a una condición ambiental toma generaciones, un organismo que puede aprender es capaz de modificar su comportamiento para hacer frente a una gran cantidad de condiciones ambientales (McGaugh, 1989).

Actualmente no existe una definición aceptada universalmente de aprendizaje y memoria, ya que las diferentes definiciones tienen su origen en diferentes campos de estudio (Sweatt, 2003; Vanderwolf y Cain, 1994).

Dudai, nos presenta tres definiciones de aprendizaje (Dudai, 2002):

1. El acto o el proceso de inducción de una alteración (modificación) duradera en el comportamiento o en el potencial de comportamiento, debido a la experiencia conductual del individuo
2. La adquisición de información o la reorganización de la información que resulta en un nuevo conocimiento.

3. La generación de representaciones internas duraderas dependientes de la experiencia, o modificaciones posteriores de dichas representaciones.

La primera definición de aprendizaje Dudai podríamos decir que es conductual (Bower, 1981; Dudai, 2002), en donde el término “experiencia conductual” se refiere la gama de eventos sensoriales, motores, emocionales y cognitivos que suceden a lo largo de la vida del sujeto. El término comportamiento se utiliza con la finalidad de eliminar la necesidad de especificar que no es debido a un proceso patológico, efecto farmacológico, o de maduración. Las definiciones dos y tres son variantes de la definición de tipo informacional, en las cuales se refiere a la ejecución de la conducta y la capacidad de comportamiento en términos de conocimiento (Dudai, 2002; Squire, 1987). La tercera definición, expresa el aprendizaje en términos de representaciones internas, las cuales están codificados neuronalmente por modelos estructurales del mundo, los cuales pueden potencialmente guiar el comportamiento (Dudai, 1989; 2002). Dadas las anteriores definiciones es necesario mencionar que el aprendizaje puede ser materia de clasificación, de acuerdo a diversos parámetros que van desde perspectivas psicológicas hasta neuro-funcionales.

De manera habitual el aprendizaje se divide en dos grandes categorías en función de la relación que realiza el sujeto entre un estímulo y sus posibles consecuencias; dichas categorías son el aprendizaje asociativo y el aprendizaje no asociativo (Figura 1).



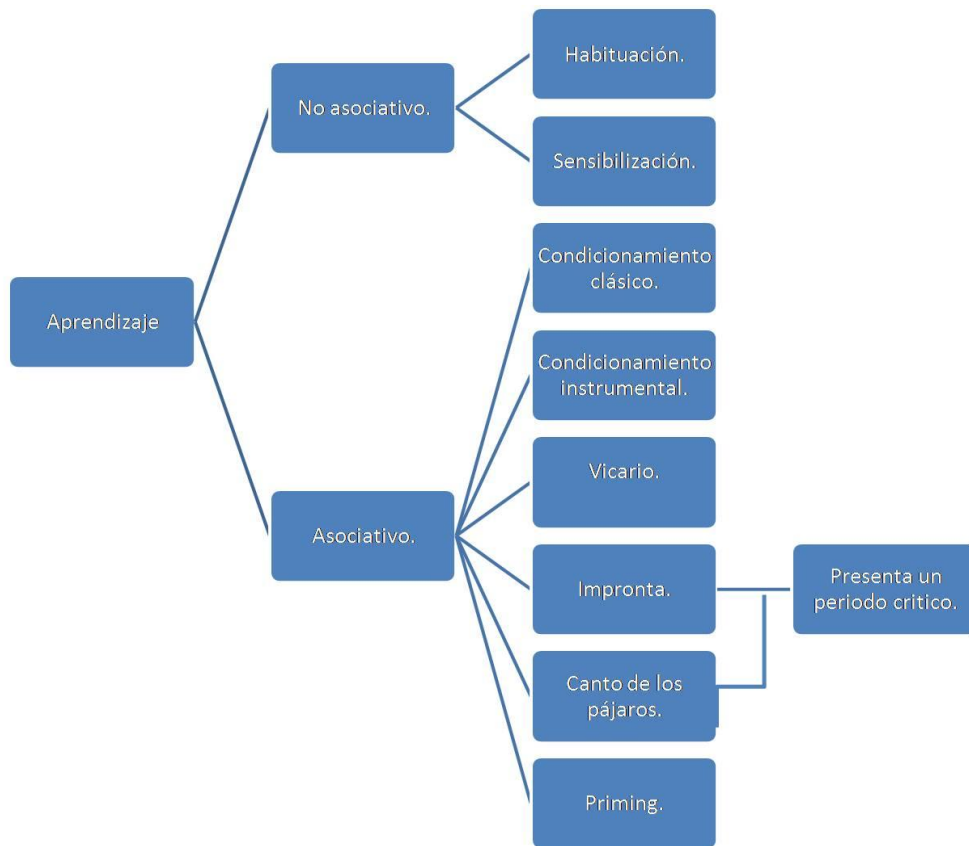


Figura 1. Clasificación y sub clasificación de aprendizaje. Se presenta la clasificación y sub clasificación de aprendizaje de acuerdo a criterios asociativos y no asociativos. Modificado de Sweatt, 2003

En el caso de la memoria, también existen tres definiciones dentro de las mismas características para la clasificación del aprendizaje, como lo es la definición conductual, la otra en términos de información, y la última con una visión neurobiológica (Dudai, 2002).

1. Cambio duradero en el comportamiento, o potencial de comportamiento, que resulta de la experiencia conductual.
2. Retención a lo largo del tiempo de la información aprendida.
3. Retención a lo largo del tiempo de una experiencia, lo cual es de pendiente de representaciones internas o de la capacidad de reactivar o reconstruir sobre dichas representaciones.

Al igual que el caso del aprendizaje el término “experiencia conductual” es utilizado con el fin de puntualizar a la gama de eventos estrictamente sensoriales, motores,

emocionales y cognitivos; excluyendo otro tipos de experiencias como las debidas a estados patológicos, a fármacos o efectos del desarrollo. Se puede hacer una clasificación de la memoria en función del tiempo como memoria de corto plazo y memoria a largo plazo (McGaugh, 1989; Sweatt, 2003), o bien clasificarla en función de la interacción entre los mecanismos de adquisición, retención y evocación. La gran mayoría de los grupos de investigación del área, se basan, en la clasificación de memoria humana propuesta por Larry Squire, en la que se reconocen dos tipos generales de memoria (Prado, 2001; Robertson, 2002; Sweatt, 2003):

Memoria explicita, también llamada declarativa; esta se divide a su vez en memoria episódica (también llamada autobiográfica) y de hechos y eventos (también llamada semántica). La memoria episódica se refiere a aquella relacionada con eventos y episodios, mientras que la memoria semántica se refiere a los conocimientos de datos objetivos y específicos (por ejemplo, nombre de países, nombres de animales, presidentes de un país, meses del año, etc.) (Robertson, 2002; Sweatt, 2003).

Memoria implícita, también llamada de procedimiento, en la cual las experiencias y/o estímulos pasados influyen en el comportamiento actual, y la única forma de evocación es a través de la ejecución de las tareas. Esta memoria se divide en cuatro subsistemas que son la memoria correspondiente a habilidades, el *priming*<sup>1</sup>, la referente a aprendizajes asociativo y la referente a aprendizajes no asociativos (Sweatt, 2003; Robertson, 2002).

Para fines de este trabajo nos limitaremos a presentar modelos de aprendizaje incidental o asociativo, relacionados a estímulos gustativos asociados con respuestas viscerales los cuales son el condicionamiento de aversión del sabor (CAS) y la Inhibición latente (IL) del CAS.

---

<sup>1</sup> Es un fenómeno por el cual la ejecución de una tarea o un comportamiento es facilitado o entorpecido por información a la que se tuvo acceso anteriormente. Una forma de explicarlo es suponer que representaciones preexistentes, son activadas transitoriamente, por lo cual influyen en la conducta durante un determinado periodo de tiempo; sin embargo, se a observado la presencia de *priming* con elementos que son completamente nuevos y que por lo tanto no se pueden considerar como preexistentes (Prado 2001)

## 2.2 CONDICIONAMIENTO DE AVERSIÓN A LOS SABORES

La existencia de los organismos depende de su capacidad para mantener la homeostasis del ambiente interno a pesar de condiciones continuamente cambiantes del mundo externo (Burés 1998). Para mantener la composición y el balance de energía del organismo dentro de los límites necesarios para las funciones vitales, deben existir procesos que sostengan el equilibrio de sustancias y energía existentes en la interfase organismo-ambiente. La importancia vital de estos procesos condujo al desarrollo de mecanismos de control altamente sofisticados los cuales favorecen, diversas formas de comportamientos de alimentación, como lo son el reconocimiento de las necesidades corporales, identificación de sustancias viables para la ingestión y procesos de regulación haciendo una ingestión directamente proporcional a la intensidad de la necesidad (Burés 1998). De esta manera para llevar a cabo un proceso exitoso de alimentación, debe haber una retroalimentación eficiente entre las propiedades de los alimentos ingeridos y las consecuencias de su ingestión. La identificación de comestibles relevantes para necesidades fisiológicas específicas se lleva a cabo mediante procesos de aprendizaje que asocien las consecuencias tardías del alimento (consecuencia de su ingestión) con propiedades sensoriales mediatas e inmediatas de consumir dicho alimento (sabor). Esto resulta en un rango de discriminaciones básicas entre comestibles y no comestibles y su asociación con valores nutricionales o con sus posibles efectos tóxicos (Burés 1998).

Así se considera al CAS como un aprendizaje asociativo (Dudai, 2002; Fresquet, Yamamoto y Sandner, 2003; Prado, 2001; Sweatt, 2003). Este fenómeno fue descrito por primera vez en la década de los sesenta por John García, mientras trabajaba sobre los efectos de la radiación en los animales. Este autor identificó que los animales que eran irradiados después de comer o beber alimentos o líquidos con algún sabor distintivo, presentaban un rechazo posterior a cualquier alimento o bebida que tuviera el mismo sabor (Prado, 2001). Los factores que hacen del CAS un aprendizaje asociativo son la presencia de un estímulo condicionado (EC) (sabor), el cual es seguido de la presentación de un estímulo incondicionado (EI) (p. e. rayos X, cloruro de

lito), que provoca una reacción visceral que mimetiza un malestar gastrointestinal. Esto genera una respuesta que consiste en el rechazo a dicho alimento o líquido con ese sabor particular (Prado, 2001).

El CAS difiere de otros paradigmas de aprendizaje asociativos en el parámetro del intervalo inter-estímulo (IIE), que se define como el intervalo de tiempo entre el estímulo condicionado (EC) y el estímulo incondicionado (EI) (Dudai, 2002). Esto es debido, a que en general, para los aprendizajes asociativos tanto clásicos como instrumentales, el intervalo de tiempo entre EC y EI es de apenas unos cuantos segundos (Dudai, 2002; McGaugh, 1989). Mientras que el caso del CAS, el IIE puede ser de minutos e incluso horas, tiempo en el cual se logra una adecuada asociación entre ambos estímulos. Sin embargo cuando el IIE es de menor duración (por ej. 10 s) la asociación no es efectiva (Figura 2) (Dudai, 2002; Schafe, Sollars y Bernstein, 1995). El CAS ofrece ventajas significativas para la investigación de los fenómenos y mecanismos implicados en los aprendizajes asociativos. Requiere de un único ensayo lo cual facilita hacer la correlación entre los eventos neuronales con el aprendizaje. Por otra parte el protocolo del CAS, es altamente reproducible y resulta en la formación de una memoria a largo plazo. Gracias a su IIE largo, es posible la disociación entre la fase de adquisición del EC y la fase de asociación entre el EC y el EI (Dudai, 2002).

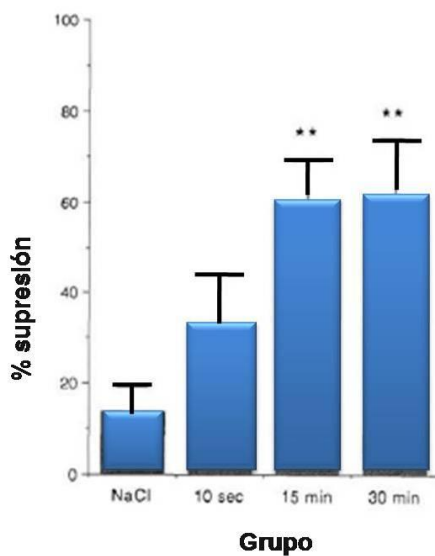


Figura 2. Relación entre el intervalo inter-estímulo y porcentaje de aversión del CAS. Porcentajes de supresión los cuales expresan diferencias entre el consumo de sacarina el día de prueba y el consumo basal de agua. Los grupos experimentales se condicionaron con intervalos inter-estímulo de 10 segundos, 15 minutos o 30 minutos. El EC utilizado fue sacarina 0.15% y el EI fue 7.5 mg/kg de hidrocloreto de apomorfina i.p. El grupo control recibió NaCl 0.9% i.p. \*\* $p < .01$  en relación al grupo control. Modificado de Schafe, et al., 1995 .

## 2.3 INHIBICIÓN LATENTE E INHIBICIÓN LATENTE DEL CAS

En la vida diaria, los sujetos continuamente adquieren información que parece no estar asociada con eventos notables, esto es, se encuentra atendiendo “incidentalmente” a los estímulos sensoriales. El término incidental significa la ausencia de una situación identificable en el contexto de que aporte un conocimiento al individuo. Probablemente, la formación de la memoria de estos eventos ocurre solamente por tener alguna importancia potencial. Generalmente, las consecuencias conductuales de este aprendizaje incidental son latentes (Dudai, 2002).

Edward C. Tolman, en 1930, demostró la existencia del aprendizaje latente y dio las bases que explican los mapas cognoscitivos. Sostenía que en algunos casos el aprendizaje está almacenado de algún modo, y sólo en el momento necesario los sujetos lo demuestran al realizar tareas nunca antes 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). Uno de los aspectos beneficiosos del aprendizaje latente en nuestra rutina cotidiana, es que nos permite asignarle el grado apropiado de relevancia a cada evento gracias al efecto de *inhibición latente* que produce (Gal, Schiller y Weiner, 2005). La inhibición latente (IL) es la atenuación en la posibilidad de asociar un estímulo determinado con algún otro, como resultado de una pre exposición no reforzada de dicho estímulo (Gray y Snowden, 2005; Lubow, 2005; Moser, Hitchcock, Lister y Moran, 2000; Schmajuk, 2005). El fenómeno de inhibición latente está siendo estudiado a través de varias teorías que intentan explicarlo.

### *Teoría de la atención*

Por mucho la teoría más popular ha sido que, durante la fase de pre exposición al estímulo en cuestión, el sujeto aprende a no fijar atención a dicho estímulo, por lo cual disminuye el potencial de asociación de este estímulo con otro estímulo (por ej. EI). Entonces la asociación EC-EI durante la fase de condicionamiento es atenuada. De lo

cual se infiere que la IL, refleja una operación de un proceso de atención que es por sí mismo condicionable. (Gray y Snowden, 2005; Lubow, 1989; Lubow, 1997)

### *Teoría del “switch”*

Weiner y Feldon han sugerido la teoría del *switch*; en esta teoría la asociación entre un EC y la ausencia de un EI, es aprendida durante la pre exposición y controla el comportamiento posterior durante la fase de asociación EC–EI. En el orden de expresar esta contingencia EC-EI, el sujeto debe realizar un *switch* entre la dominancia de la asociación de EC–ausencia de EI y la nueva asociación EC-EI (Gray y Snowden, 2005; Weiner, 1990; Weiner y Feldon, 1997).

De acuerdo con el modelo de *switch*, el paradigma de IL, involucra la adquisición de dos contingencias independientes y conflictivas entre ellas; en la pre exposición (EC-ausencia de EI) y en el condicionamiento (EC-EI), Ambas contingencias compiten por su expresión durante el condicionamiento, cuando surgen diferencias conflictivas dada por la predicción realizada sobre el efecto/consecuencia del EC. Dicho de otra forma la IL es un problema de selección entre la información adquirida en la pre exposición y la información de la fase de condicionamiento (Weiner, 2003; Weiner y Feldon, 1997).

Esta teoría ha encontrado soporte neurobiológico en base a que Weiner y colaboradores (Weiner, 2003) encontraron que el hipocampo es el responsable de detectar la falta de paridad entre EC- ausencia de EI y EC – EI. Así el proceso de *switch* es controlado por la región central del núcleo acumbens, mientras que la región periférica de este mismo núcleo juega un papel regulador en este proceso (Gray y Snowden, 2005; Weiner, 2003).

### *Teoría de escenario de ocasión*

La IL no se forma, cuando existe un cambio de contexto entre la pre-exposición y la fase de aprendizaje (asociación EC-EI). Para dar cuenta de esto, una gran cantidad de teorías alternativas se han propuesto. Una de ellas es que el contexto en el cual el

experimento toma lugar, actúa como un marcador (fijador) de la ocasión, y de esta manera modula la expresión de la IL (Gray y Snowden, 2005; Lubow y Gewirtz, 1995). Entonces, si el aprendizaje toma lugar en el mismo contexto que la pre-exposición, la asociación EC-noEI será más importante) que el aprendizaje (asociación EC-EI), el cual se verá retardado (Gray y Snowden, 2005).

### *Teoría del comparador*

Esta teoría al igual que la del escenario de ocasión, también considera los efectos del contexto, en ella se sugiere que la adquisición de la asociación EC-EI no se pierde en los paradigmas de IL, pero si la expresión de este aprendizaje. De esta forma se propone que el contexto por si mismo entra en una relación asociativa con ambos estímulos EC y EI. Entonces durante la fase de pre-exposición la asociación entre el EC y el contexto se fortalece, lo cual puede enmascarar la posterior relación EC – EI.

Otra teoría que tiene como base una visión sistémica del fenómeno de inhibición latente, sugiere que el sujeto construye un modelo interno de su ambiente, donde la novedad siempre es detectada (esto es que los eventos ambientales actuales están desfasados de los eventos predichos). Ante esto el sujeto emite una respuesta de orientación y el modelo interno es modificado. Ahora bien cuando existe coincidencia entre lo observado (evento real) y lo predicho, el sujeto responde sin necesidad de cambiar su modelo neural del mundo (el engrama previamente estructurado) (Schmajuk, 2005).

La inhibición latente se ha demostrado en una variedad de procedimientos clásicos e instrumentales, entre los cuales se incluyen la evitación pasiva y activa, condicionamiento de aversión a los sabores y olores, aprendizaje de discriminación, entre otros, este proceso también ha sido demostrado en muchos mamíferos incluyendo a los humanos (Lubow, 2005; Weiner, 2003).

Para el caso del CAS, la inhibición latente se presenta cuando los sujetos son pre expuestos al estímulo gustativo (por ej. sacarina, solución salina) y este no es

seguido de ningún estímulo aversivo (por ej. litio o algún otro agente que genere desarrollo de CAS). Esta pre-exposición sin consecuencia aversiva es suficiente para generar una inhibición del CAS. Así durante la presentación subsiguiente el mismo sabor es apareado con un agente irritante (por ej. litio). La aversión a dicho sabor observada en presentaciones posteriores, suele disminuir significativamente al compararla con sujetos que no tuvieron dicha pre-exposición.



## 2.4 NEUROANATOMÍA DE LA RUTA DEL SABOR

Dadas las características de los paradigmas utilizados en este trabajo (CAS e IL del CAS), es necesario realizar una descripción de las diferentes estructuras y circuitos neuronales que los controlan; centrándonos para ello en la ruta central del sabor.

El sabor es un tipo de estímulo que provee información al sistema sensorial, el cual de forma innata y simultánea, evalúa tanto la calidad del estímulo (por ej. contenido energético), así como sus aspectos hedónicos en relación con la recompensa y la aversión. Las vías gustativas centrales se han descrito en primates y roedores, especialmente en ratas. La información visceral general, sigue vías neurales que pueden ser paralelas con las proyecciones gustativas (Yamamoto, 2006).

El primer paso para el reconocimiento del sabor es la estimulación de los receptores de sabor por los iones o las moléculas de alimento en las papilas gustativas; éstos generan un potencial de receptor que inducen potenciales de acción en tres nervios asociados a la percepción de sabores (Burés 1998; Miranda, LaLumiere, Buen, Bermudez-Rattoni y McGaugh, 2003; Snell, 2005)

El nervio facial, en su componente aferente visceral especial (AVE) a través de su rama cuerda del tímpano (CT), recoge la información de los receptores sensoriales en las papilas gustativas fungiformes de los dos tercios anteriores de la lengua, mientras que su rama petrosa (GSP) inerva el paladar. Por su parte el componente AVE del glossofaríngeo (GSF) inerva el tercio posterior de la lengua. Mientras que el nervio laríngeo superior (NLS) rama del vago, en su componente AVE, inerva la laringe, faringe y epiglotis (Burés 1998; Carpenter, 1998; Snell, 2005). Estas ramas nerviosas que conducen impulsos relacionados con el sabor, terminan en una distribución rostro-caudal en el núcleo del tracto solitario, en el denominado núcleo gustativo. La distribución de las ramas de la CT y la GSP terminan densamente en el polo rostral, mientras que las ramas del neumogástrico (NG) y el nervio laríngeo superior (NLS) se proyectan más posteriormente que la CT y la GSP, a una zona que se extiende hacia el área postrema. En la rata, las neuronas de la zona gustativa del NTS se proyectan de forma ipsilateral al núcleo parabraquial (NPB). Es generalmente aceptado que los

estímulos relacionados con el sabor se proyectan a la parte medial de dicho núcleo, mientras que los estímulos viscerales se proyectan a la parte lateral del mismo. En estudios experimentales de lesiones del NPB en su parte lateral y medial, se ha demostrado su importancia en el procesamiento de información relacionada con el sabor y con señales viscerales (Yamamoto, 1999). Desde el NPB se mandan proyecciones al núcleo ventral posteromedial del tálamo (NVPM) el cual recibe entradas del NPB de ambos lados. Finalmente, se realiza un relevo sináptico de la vía de ascenso al área gustativa de la corteza insular (CI). Una representación esquemática del circuito descrito se puede observar en la Figura 3.

Por otra parte las vías de procesamiento del sabor, también presentan interacción con la ruta neuronal del sistema cerebral de recompensas. Así se muestra como componente esencial de este sistema el área ventral tegmental (VTA) del cerebro medio, origen del sistema dopaminérgico mesolímbico, el núcleo acumbens (NAcb), el cual es esencial para la interfase entre la motivación y la acción, y también el núcleo pálido ventral localizado entre NAcb e hipotálamo lateral (HL), conocido como el centro para la alimentación (Yamamoto, 2006). Por su parte la amígdala incluyendo el núcleo basolateral (BLA) y la corteza prefrontal (CPF) incluyendo las cortezas ventrolateral, dorsomedial y CI son los sitios que se cree interactúan para la interfase entre los sistemas neuronales relacionados con los estímulos de sabor, alimentación y recompensa (Yamamoto, 2006).

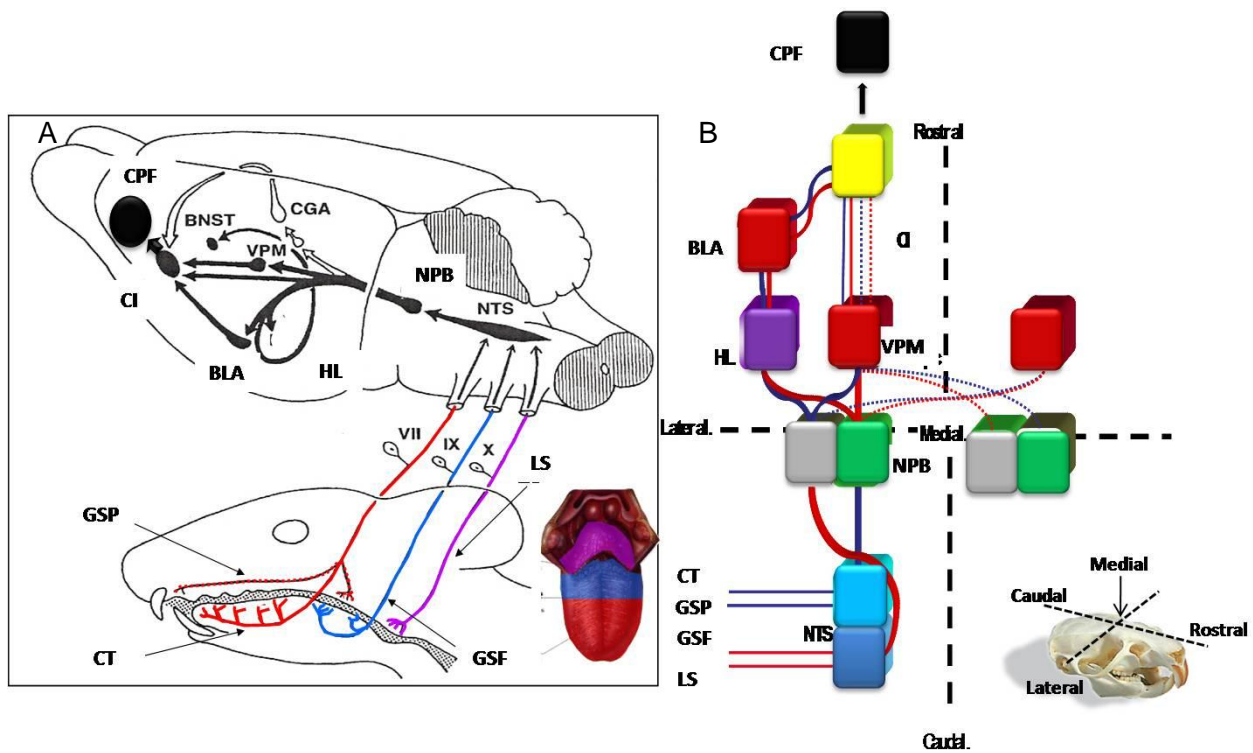


Figura 3. Vías aferentes gustativas en la rata; A. El VII par craneal, incluyendo sus ramas cuerda del tímpano y rama petrosa inervan los dos tercios anteriores de la lengua, mientras que el IX par craneal se encarga de inervar el tercio posterior de la lengua y el X par inerva la región superior de faringe y laringe; los tres nervios envían proyecciones al núcleo del tracto solitario. B. Las ramas del facial (incluyendo la cuerda del tímpano y el nervio petroso) envían proyecciones a la porción ventral del NTS, mientras que el IX y X par envían proyecciones a la porción caudal del NTS; desde ahí la porción ventral y la porción caudal del NTS proyectan a la porción medial y lateral del NPB. El Núcleo parabraquial a su vez envía proyecciones ipsilaterales (línea continua) a la amígdala, así como fibras ipsilaterales y contraletarales (líneas punteadas) al núcleo ventral posteromedial del tálamo (VPM). Desde la Amígdala y el VPM se envían fibras ipsilaterales a la área gustativa de la corteza insular (CI) y desde aquí hay proyecciones a la CPF. Modificado de Burés 1998 .

## 2.5 NEUROANATOMÍA DE LA CORTEZA PREFRONTAL

Actualmente se acepta que la CPF juega una importante función en los procesos relacionados con toma de decisiones, aprendizaje y memoria. Así mismo se asocia con diferentes patologías implicadas en alteraciones de dichos procesos, como lo son la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Pick, la enfermedad de Parkinson, Corea de Huntington y la esquizofrenia (Erberk Ozen y Rezaki, 2007; Fresquet, et al., 2003; Perlstein, Carter, Noll y Cohen, 2001; Perlstein, Dixit, Carter, Noll y Cohen, 2003; Ross, 2006). En mamíferos, la corteza prefrontal ha sido definida y delimitada por diferentes criterios tanto anatómicos como citoarquitectónicas (características de zonas granulares y agranulares) o bien, por sus conexiones con el núcleo talámico medio dorsal, así como por las terminales dopaminérgicas provenientes del mesencéfalo ventral o bien, por una combinación de ellas (Erberk Ozen y Rezaki, 2007; Heidbreder y Groenewegen, 2003; Hoover y Vertes, 2007; Vertes, 2006). En humanos, la corteza prefrontal, es el nombre que recibe la región anterior y proximal de la corteza frontal, así como la superficie orbital. El tamaño de la CPF ha sufrido un incremento de volumen, viendola desde una perspectiva filogenética y es una importante región en el cerebro humano, constituyendo el 29% de la corteza cerebral de nuestra especie (Erberk Ozen y Rezaki, 2007). En el caso de la rata y bajo una perspectiva neuroanatómica, la CPF se puede dividir en tres regiones diferentes de acuerdo con los criterios previamente mencionados.

La primera división se conoce como corteza prefrontal medial (CPFm) la cual constituye la mayor porción de la pared anterior del hemisferio, que a su vez es anterior y dorsal al *genu* del cuerpo calloso (Erberk Ozen y Rezaki, 2007; Heidbreder y Groenewegen, 2003). La segunda división es una región cortical localizada ventralmente y recibe el nombre de CPF orbital, mientras que la tercera división, es una región cortical localizada lateralmente y recibe el nombre de corteza prefrontal sulcal también conocida como corteza insular agranular; ésta última se denomina igual en humanos y corresponde al área 43 de Broadman (Heidbreder y Groenewegen, 2003; Hoover y Vertes, 2007).

Por su parte, la CPFm, se ha asociado con diversas funciones como son: el control del movimiento ocular, actividad visceromotora y procesos cognitivos, de atención y de selección y toma de decisiones (Hoover y Vertes, 2007). Esta área puede ser a su vez subdividida a en cuatro regiones principales que de acuerdo a Vertes 2006 son:

- El área medial agranular (AGm)
- La división ventral dorsal (AC)
- Cortezas prelímbica (PL)
- Corteza infralímbica (CIL)

Desde una perspectiva cito arquitectónica podemos dividir a la CPFm en 4 regiones (Heidbreder & Groenewegen, 2003):

- El área medial precentral (PrCm) o Fr2
- Área cingulada anterior
- Área prelímbica (APL)
- Área infralímbica (AIL)

Sin embargo existen bases con un criterio anatómico, que sugieren que existe una subdivisión mayor en la CPFm, dando un componente ventral y uno dorsal. Así la región FR2, las áreas cinguladas anterodorsal, y la parte dorsal de la área prelímbica constituyen la división dorsal; mientras que el componente ventral incluye las áreas prelímbica, infralímbica y la área orbital medial Figura 4 (Heidbreder y Groenewegen, 2003; Vertes, 2006)

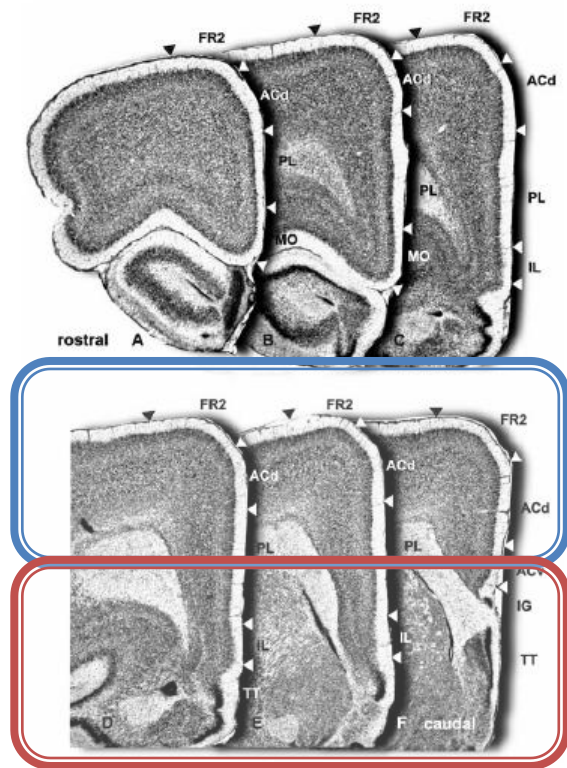


Figura 4 Citoarquitectura de la corteza prefrontal medial de la rata. Se muestran cortes coronales del polo rostral de cerebro de rata, teñidos mediante la tinción de Nilss; Se pueden apreciar las principales subdivisiones de la CPFm, la Figura se ha modificado para distinguir dos subdivisiones; porción dorsal (sombra azul) que corresponden a el área frontal 2 (FR2), Área Cingulada dorsal anterior (ACd), Porción dorsal del la área prelímbica (PL) y los su porción ventral (sombra roja), que corresponden a la porción ventral de PL, área infralímbica (IL) y área orbital medial (MO). Modificado de (Heidbreder y Groenewegen, 2003)

Las diferentes subdivisiones de la CPFm parecen variar tanto en su cito arquitectura como en su papel funcional. De esta forma se habla de un componente dorsal de la CPFm que correspondería a las zonas FR2, cingulada anterior y la porción dorsal de la corteza prelímbica, y un componente ventral constituido principalmente por la porción ventral de la corteza prelímbica y la corteza infralímbica (Gabbott, Warner, Jays y Bacon, 2003; Heidbreder y Groenewegen, 2003; Hernadi, Karadi, Vigh, Petyko, Egyed, et al., 2000; Vertes, 2006).

Existe una clara relación anatómica entre PL y AIL. Algunos autores como Vertes, 2006 y Heidbreder, 2003, proponen una división funcional más exquisita entre ambas cortezas. De esta manera considerando que la PL, además de presentar funciones visceromotora que subyacen en las proyecciones reciprocas con AI, también presenta una clara relación anatómica con la corteza cingulada anterior y FR2, lo cual se conoce como el componente dorsal de la corteza prelímbica. Este componente dorsal estaría ubicado de manera estratégica desde una perspectiva anátomo-funcional, para intervenir directamente en funciones cognitivas de alto orden.

De esta manera las principales eferencias de la corteza prelímbica, se dirigen hacia la corteza orbitofrontal, la corteza insular agranular (divisiones dorsal y ventral), la corteza entorhinal, el cuerpo olfatorio anterior, Núcleo acumbens, núcleos talámicos y amigdalinos (BLA), VTA, SNC, PAG, núcleo supaleminiscal y núcleos del rafe; En el caso de la corteza infralimbica, se considera como un centro visceromotor con robustas proyecciones descendentes, en donde sus principales eferencias se distribuyen significativamente a regiones vecinas de la corteza orbitofrontal, incluyendo PL. También envía proyecciones al núcleo olfatorio anterior, áreas preópticas medial y lateral, sustancia inominata, el núcleo de la estría terminalis (BST), el núcleo accumbens (NAc), la amígdala (AM), el tálamo medial, banda diagonal, núcleos talámicos e hipotalámicos, y núcleos del tallo cerebral como la SNc, NTS, PAG, y células de la columna lateral de la medula espinal . Además el hipocampo (la región ventral CA1 y subiculum) conecta con la región ventral de la CPFm (Akirav, Khatsrinov, Vouimba, Merhav, Ferreira, et al., 2006; Gabbott, et al., 2003; Heidbreder y Groenewegen, 2003; Mickley, Kenmuir, Yocom, Wellman y Biada, 2005; Morgan y LeDoux, 1995; Neafsey, 1990; Ongur y Price, 2000; Sullivan y Gratton, 2002). En la Figura 5 se muestran las principales vías de aferentes de las cortezas infralímibica y prelímbica, mientras que la Figura 6 se muestra las principales eferencias de ambas cortezas (Hoover y Vertes, 2007; Vertes, 2006).

Se puede considerar que la porción dorsal de la CPFm juega un papel preponderantemente mnémico y cognitivo. Esta idea se refuerza en el hecho de que lesiones selectivas de dicha porción, han mostrado un incremento en la respuesta de condicionamiento al miedo, y dificultad en el aprendizaje en tareas de evitación, el bloqueo en la expresión de la sensibilización de cocaína y la disminución de la activación de los receptores canabinoides asociados a proteínas G, retraso en la respuesta a tareas como la evitación inhibitoria y laberinto en T (Fresquet, et al., 2003; Heidbreder y Groenewegen, 2003; Hoover y Vertes, 2007; Vertes, 2006).

Por otra parte, las regiones ventrales de la CPFm se relacionan con el control visceromotor, lo cual ha sido demostrado mediante lesiones selectivas en la región

ventral ( zona ventral de la corteza prelímbica y corteza infralímbica) que incrementan la resistencia a la extinción del condicionamiento al miedo, también después de la lesión hay presencia de taquicardia ante estímulos excitatorios, disrupción en la ejecución de la evitación inhibitoria, le laberinto elevado y en la extinción del condicionamiento de aversión a los sabores (CAS); mientras que su influencia sobre la actividad visceral y autonómica, ha sido demostrada, ya que su estimulación produce cambios en la frecuencia respiratoria, la motilidad intestinal y en la frecuencia cardíaca así como en la presión sanguínea (Akirav, et al., 2006; Heidbreder y Groenewegen, 2003; Hoover y Vertes, 2007; Mickley, et al., 2005; Sullivan y Gratton, 2002; Vertes, 2006).



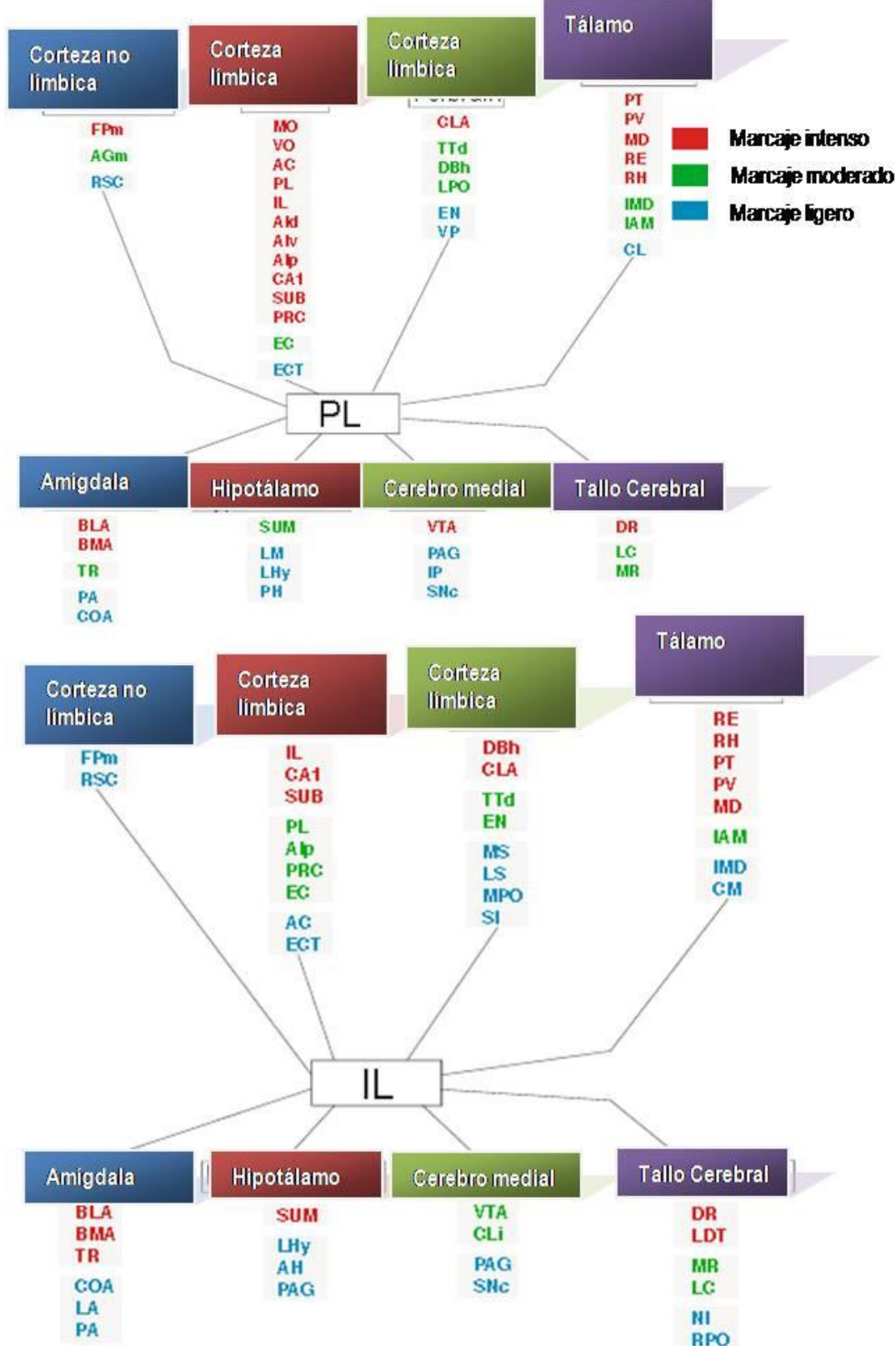


Figura 5 - Principales vías aferentes hacia las cortezas prelímbica (PL) e infralímbica (IL). Se hace referencia a las principales aferencias desde la corteza cerebral, sistema límbico, tallo cerebral y tálamo. Estas vías de aferencias se obtuvieron mediante el trazador fluorescente retrogrado *fluorogold* (Fluoruro de oro) y se clasificaron de acuerdo al marcaje como intenso, moderado o bajo. Se puede observar que tanto PL como IL comparten muchas aferencias, haciendo especial énfasis para fines de este trabajo, las que recibe desde la corteza insular, área ventral tegmental, sustancia nigra pars compacta y el locus coeruleus. Significado de las abreviaturas en la sección correspondiente. Modificado de (Hoover y Vertes, 2007)

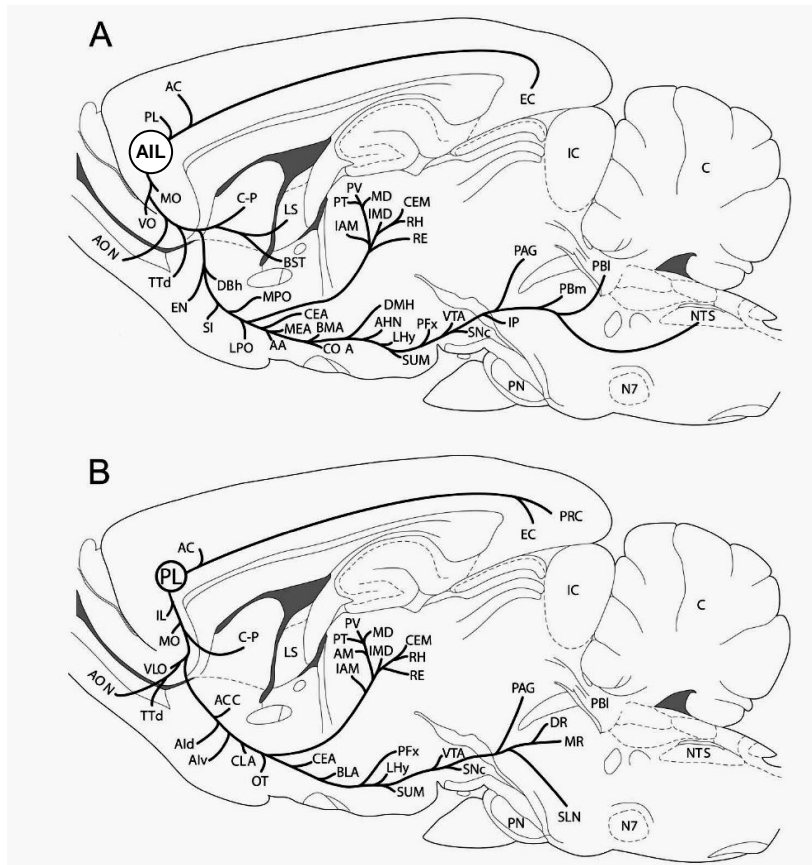


Figura 6. Principales proyecciones de las cortezas AIL y PL. Vista esquemática de un corte sagital, en el que se muestran las principales proyecciones de las cortezas AIL ( A) y PL (B). Abreviaturas: AA: área amigdalina anterior; AHN: núcleo anterior del hipotálamo; AI.d.v: corteza insular zona a granular división ventral; AM: núcleo antero medial del tálamo. AON: núcleo olfatorio anterior; BMA: núcleo basal medial de la amígdala; C: cerebelo; CEM: Núcleo central medial del tálamo; CLA: claustrum; COA: núcleo cortical de la amígdala; CP: caudado putamen; DBh Núcleo de la banda diagonal; DMH núcleo dorso medial del hipotálamo; DR: núcleo dorsal del rafe; EN: núcleo endo piriforme; IAM: núcleo Inter. Antero medial del tálamo; IC: colículo inferior; IMD: núcleo intermedio dorsal del tálamo; IP: núcleo Inter peduncular. LHy: área hipotalámica lateral; LPO: áreas pre ópticas; LS núcleo lateral septal; MEA: núcleo medial de la amígdala; MO: corteza orbital medial; MPO: área pre óptica medial; MR: núcleo medio del rafe; N7: núcleo del facial; OT: Tubérculo olfatorio; PBml; Núcleo para braquial división medial y lateral; PFx: región peri fornix del hipotálamo; PN: Núcleo pontino; PRC: corteza perihinal; RH: núcleo romboide del hipotálamo; SI: Sustancia innominada; SLN: Núcleo supra lemniscal; SUM: núcleo supra mamilar; TTd: taenia tecta; parte dorsal; VLO: corteza orbital ventral y lateral; VO: Corteza orbital ventral. Modificado de Vertes, 2006.

## 2.6 PAPEL DEL SISTEMA $\beta$ -ADRENÉRGICO DURANTE EL CONDICIONAMIENTO DE AVERSIÓN A LOS SABORES Y LA INHIBICION LATENTE DEL CAS

El papel de la noradrenalina (NA) en el hipocampo, la BLA, corteza entorhinal y parietal durante la fase de consolidación y evocación de la memoria se ha demostrado por diversos estudios. Las infusiones de NA en la BLA facilitan la consolidación de la memoria en tareas de miedo al contexto, mientras que antagonistas de la NA bloquean la formación de diversos aprendizajes relacionados con experiencias aversivas como la evitación inhibitoria y el condicionamiento de miedo al contexto (Gallagher et al, 1977; Izquierdo et al, 1992; Introini-Collison et al, 1996; LaLumiere et al, 2003). De esta forma se sabe que el sistema noradrenérgico juega un papel importante en el aprendizaje de eventos de contenido emotivo alto (Ferry y McGaugh, 2000; McGaugh, 2000).

La importancia de la activación noradrenérgica central también ha sido investigada durante el aprendizaje relacionado con sabores. Por ejemplo, en ratones *knockout* a la tiroxina hidroxilasa<sup>2</sup>, en los cuales los niveles de NA están disminuidos en muchas áreas cerebrales, no se logra la formación del aprendizaje del condicionamiento de aversión a los sabores (Kobayashi y Kobayashi, 2001). De manera interesante, la desiperamina, un fármaco que induce la estimulación de actividad noradrenérgica, ha mostrado restaurar la capacidad de aprendizaje del CAS en estos mismos ratones (Kobayashi y Kobayashi, 2001). Por otra parte, en trabajos en los cuales se han utilizado inhibidores de la síntesis de proteínas como la anisomicina y antagonistas de NA como propranolol, se ha demostrado una disrupción en el aprendizaje del CAS (Akirav, et al., 2006; Bahar, Samuel, Hazvi y Dudai, 2003). Lo cual demuestra que para la correcta formación del CAS se requieren tanto síntesis de proteína, como la integridad de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos. El grupo de Bahar demostró que infusiones de propranolol (antagonista  $\beta$ -adrenérgico) en distintas estructuras, tienen efectos diferenciales. En el caso del núcleo central de la amígdala (CeA), el propranolol bloquea la formación del CAS, pero no su extinción, mientras que las infusiones en amígdala

---

<sup>2</sup> Enzima principal en la cascada de síntesis de catecoláminas.

basolateral (BLA) tienen un efecto contrario utilizando una dosis de 20  $\mu\text{g}$ / (Figura 7) (Bahar, et al., 2003). Por otra parte el grupo de Miranda, demostró que el bloqueo de receptores  $\beta$ - adrenérgicos en la BLA bloquean el aprendizaje en el CAS a una dosis de 0.1  $\mu\text{g}$  y mientras que este mismo bloqueo en la CI atenúa la IL del CAS, así como el aprendizaje incidental (Figura 8) (Miranda, et al., 2003; Miranda, Rodriguez-Garcia, Reyes-Lopez, Ferry y Ferreira, 2008). Estos datos nos muestran que el papel funcional de los receptores beta adrenérgicos se da en función de las estructuras involucradas, presentando diferentes grados de sensibilidad de dichas estructuras al bloqueo de los receptores beta adrenérgicos en función de la dosis infundida.

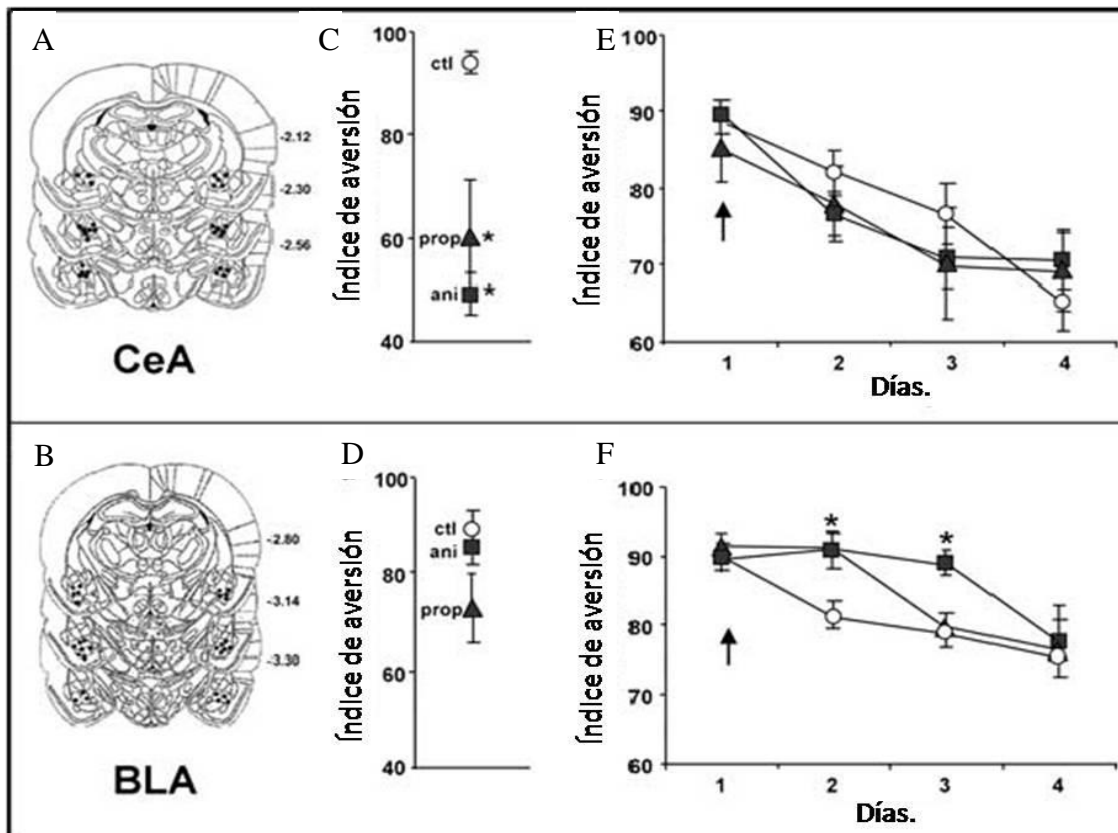


Figura 7 . Infusiones de propranolol ejercen un efecto diferente en la formación y extinción del CAS. Dependiendo del núcleo amigdalino infundido. En A y B se muestra un esquema del sitio de aplicación de los fármacos para el núcleo central de la amígdala y amígdala baso lateral, respectivamente. En C y D se muestra el efecto de infusiones de propranolol y anisomicina en el núcleo central de la amígdala y BLA respectivamente. Se puede observar que las infusiones del antagonista  $\beta$ , en la CeA, bloquean la formación del CAS pero no su extinción (E); mientras que las infusiones de propranolol en la BLA no tienen un efecto significativo durante la formación del CAS, pero sí durante la extinción del mismo (F). La dosis utilizada de propranolol fue de 20 $\mu\text{g}$ /0.5  $\mu\text{l}$ . \*  $p < 0.05$ . Modificado de Bahar, et al., 2003 .

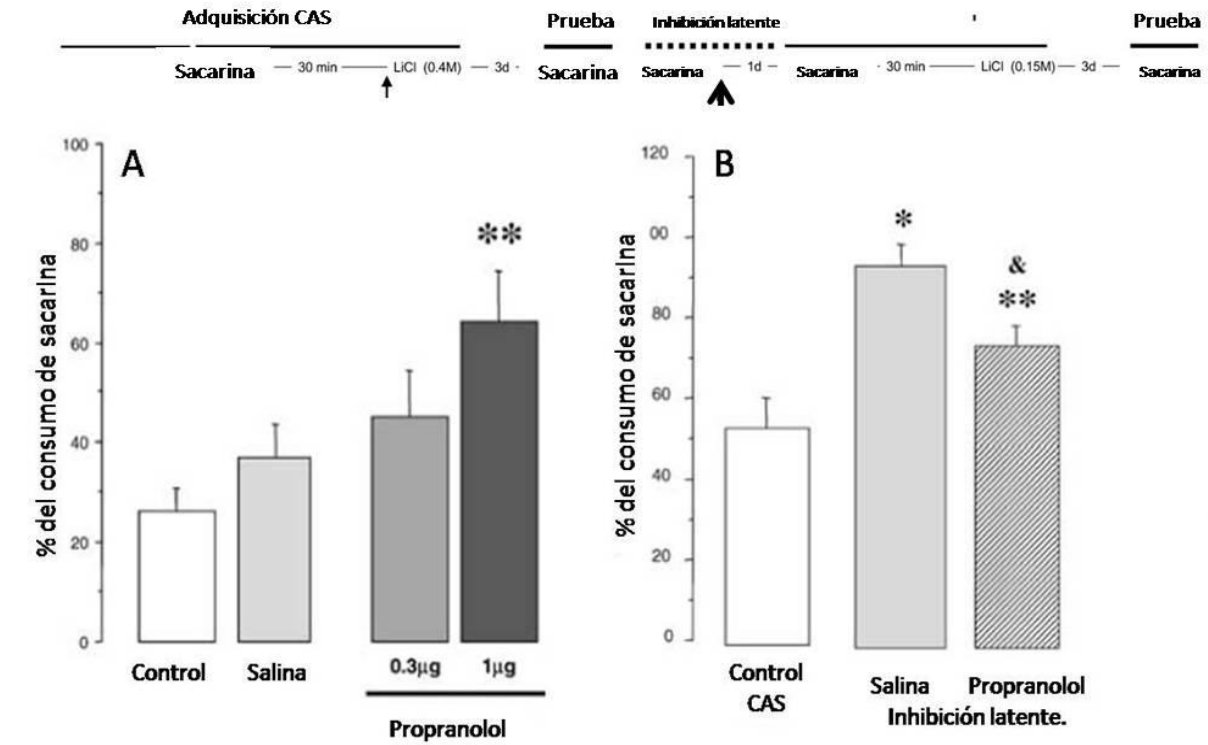


Figura 8 .Efectos de infusiones de propranolol en memorias gustativas. (A) Infusiones de propranolol en la BLA bloquean la adquisición y/o consolidación del CAS, así como también provocan atenuación de la IL del CAS (B), y muestra afectar aprendizajes incidentales (C) cuando es infundido en CI. (A) \*\*  $p < 0.01$  comparado con el grupo control intacto. (B) \*  $p < 0.01$  \*\*  $p < 0.01$  cuando se comparo el grupo propranolol pre expuesto contra el grupo salina pre expuesto en el modelo de IL. +  $p < 0.05$  cuando se compara grupo propranolol pre expuesto contra el grupo control CAS. (C) \*  $p < 0.05$  cuando se comparan ambos grupos pre expuestos; \*\*  $p < 0.05$  cuando se compara grupo propranolol pre expuesto contra grupo no manipulado. Modificado de Miranda, et al., 2003; Miranda, et al., 2008 .

### 3 ANTECEDENTES

#### 3.1 CORTEZA PREFRONTAL Y SU FUNCIÓN EN LA INTEGRACIÓN DE LOS ESTÍMULOS GUSTATIVOS

El punto de partida, para establecer la relación entre la función de una región neuroanatómica y los procesos funcionales relacionados con determinado proceso ya sea fisiológico o cognitivo, es el conocer si existe una relación anatomo-funcional de la estructura de interés con el resto de estructuras que se sabe, forman parte del circuito de procesamiento de dichos procesos. De esta forma actualmente se sabe que la CI en su área gustativa manda axones a la CPF y que las neuronas de la zona dorsomedial de CPF responden a estímulos gustativos (Akirav, et al., 2006; Gabbott, et al., 2003; Hernadi, et al., 2000; Yamamoto, 2006). En este sentido la CI se conecta con la CPFm específicamente con la PL y la AIL de una manera topográficamente organizada (Allen, Saper, Hurley y Cechetto, 1991; Gabbott, et al., 2003; Yasui, Breder, Saper y Cechetto, 1991). De esta forma, Gabbot demostró, mediante el uso de trazadores retrógrados, que la porción rostral de la CI (principalmente la corteza insular en su porción dorsal) proyecta principalmente a la corteza prelímbica, mientras que la porción caudal de la CI (principalmente la corteza insular en su porción posterior) envía proyecciones hacia corteza infralímbica (Gabbott, et al., 2003) Cabe mencionar que estas vías de conexión son recíprocas entre la CPFm y la CI; (Figuras 9 y 10). La CPFm también presenta interconexiones con áreas subcorticales relacionadas con la alimentación como son la AM, el área ventral tegmental y el núcleo Acumbens (NAc) (Figura 11). Se ha demostrado que la CPF está asociada con varios mecanismos en el control central de la alimentación (Hernadi, et al., 2000; Schul, Slotnick y Dudai, 1996; Yamamoto, 2006). Por ejemplo, Karadi y su grupo demostraron en parte el papel funcional de la CPF en la conducta de alimentación, mediante lesiones con estreptomycinina de la CPF centro lateral, reportaron alteraciones en la conducta alimenticia, las cuales se desplegaban con alteraciones en la percepción del sabor (Figura 12) (Karadi, Lukats, Papp, Szalay, Egyed, et al., 2005). Por su parte el grupo de Hernadi demostró que al generar diversos patrones lesiones en la CPF dorso medial se altera la formación del CAS (Hernadi, et al., 2000; Karadi, et al., 2005; Yamamoto, 2006).

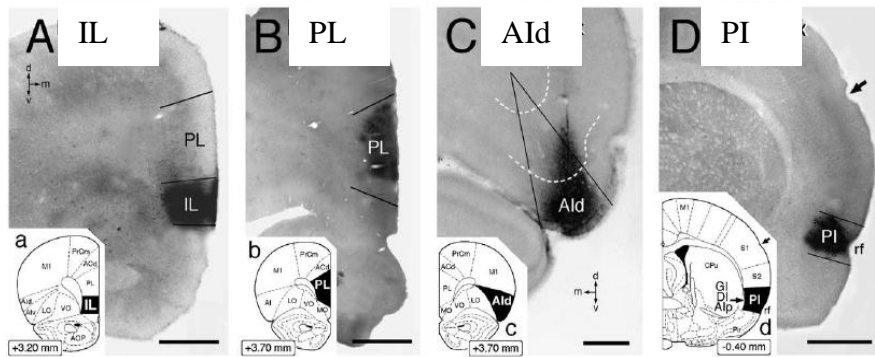


Figura 1. Interacciones anatómicas entre la CPFm y la corteza insular. Se muestran los sitios de aplicación del marcador retrógrado. En las imágenes insertas se muestra la localización de cada corteza de acuerdo al atlas de Paxinos; (A) Corresponde a la corteza infralímbica, (B) corresponde a la corteza prelímbica. (C y D) corresponden a la corteza insular dorsal (Ald) y posterior (pAI). Considerando los sitios de marcaje se puede realizar un correlato anatómico en cuanto a la existencia de conexiones entre ambas estructuras CI y CPFm. Tomado de Gabbott, et al., 2003 .

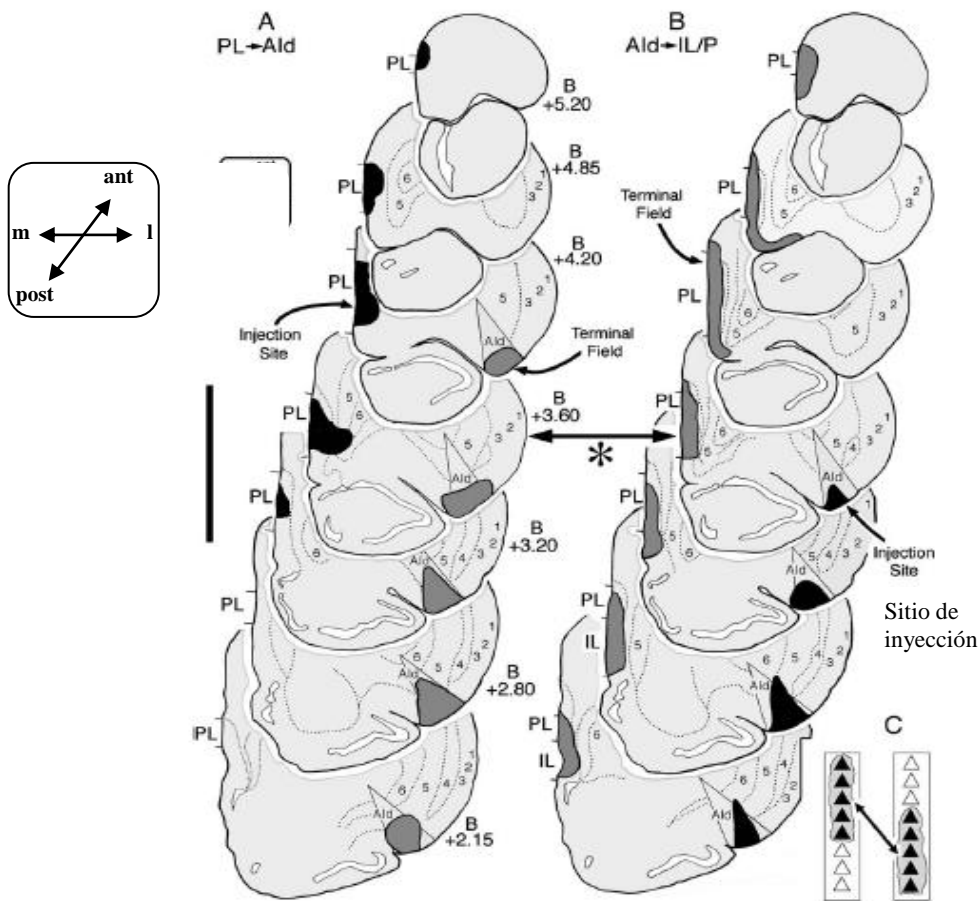


Figura 2. Interacciones anatómicas entre la CPFm y la corteza insular. (A) Se muestra un diagrama que representa las áreas de inyección del marcador retrógrado (regiones negras) dentro de la corteza prelímbica y el marcaje resultante (área gris) en la corteza insular agranular (porción dorsal); de la misma forma (B) se muestra el patrón de marcaje cuando la inyección del trazador se realizó en corteza insular agranular (región negra en B), y el marcaje resultante en corteza prelímbica. (C) Se muestra un diagrama con la interacción en ambos sentidos entre la corteza prelímbica y la corteza insular a granular. Modificado de Gabbott, et al., 2003 .

Debido al traslape de las proyecciones y las interconexiones de la CPF con las áreas involucradas en el procesamiento de información gustativa (por ej. Amígdala, NTS) (Hernádi, et al, 2000), se puede inferir que la CPF juega un papel importante en el procesamiento de memorias gustativas.

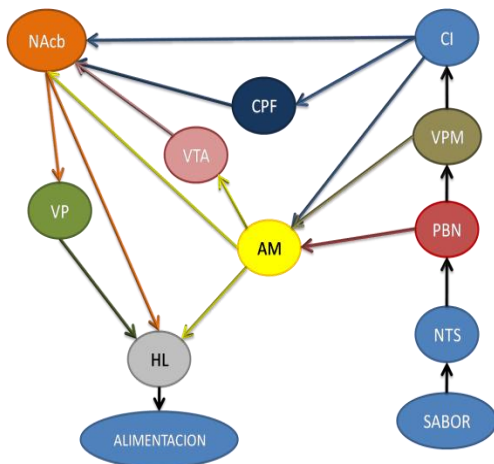


Figura 3. Estructuras relacionadas con el procesamiento de información gustativa. Diagrama en el que se presentan las estructuras relacionadas con el procesamiento de información gustativa, en el cual se puede observar la interacción propuesta entre la corteza insular y la corteza prefrontal, y como ambas estructuras envían proyecciones al núcleo accumbens. Abreviaturas: NTS: núcleo del tracto solitario, PBN: núcleo parabraquial, PFC: corteza prefrontal, AM: amígdala, VTA: área tegmental ventral, NAcb: núcleo accumbens, VP: pallidum ventral, HL: hipotálamo lateral. Modificado de Yamamoto, 2006 .

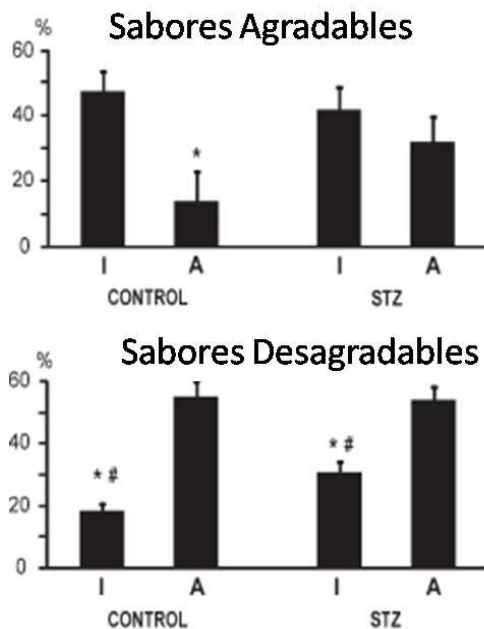


Figura 4. Alteraciones en la conducta alimenticia por lesiones citotóxicas en corteza orbitofrontal de la rata. Se evaluó de forma arbitraria las respuestas placenteras (porcentaje mayor) y respuestas de aversión (porcentajes menores) en grupos tratados STZ (n=8) comparados con grupos control (n=8); A. Patrones conductuales de aversión. I. Patrones conductuales de ingestión. #\* p < 0.05. Modificado de Karadi, et al., 2005 .



### 3.2 CORTEZA PREFRONTAL Y CONDICIONAMIENTO DE AVERSIÓN A LOS SABORES

En la actualidad son pocos los estudios que se han centrado en analizar el papel que juega la CPFm en el procesamiento de información gustativa, especialmente en la fase de extinción del CAS. Entre los trabajos existentes se pueden hacer notar aquellos en los cuales se realizaron lesiones citotóxicas (Hernadi, et al., 2000) o mecánicas (Fresquet, et al., 2003) para valorar el papel de esta corteza en la formación y extinción del CAS, con resultados no siempre concluyentes y en ocasiones contradictorios, con respecto a otros grupos de investigación. En este sentido el grupo de Hernádi 2000, demostró que lesiones citotóxicas en la CPFm mediante ácido kainico<sup>1</sup> y 6 hidroxidopamina<sup>2</sup> (6-OHDA) afectan la IL del CAS. De esta forma, se realizaron lesiones micro-iontoforéticas con los fármacos ya mencionados. Sus datos revelaron que los sujetos que sufrieron lesiones citotóxicas por ambos fármacos presentan una mayor IL con respecto a los grupos control operados y controles *falsos operados* (Hernadi, et al., 2000) (Figura 13).

Por otra parte el trabajo de Fresquet en el 2003 se centró en estudiar el efecto de lesiones en la CPFm en la adquisición y extinción del CAS, utilizando sacarosa al 3.5% como estímulo gustativo. Sus datos muestran que lesiones en la corteza frontal y prefrontal carecen de efecto sobre la adquisición y extinción del CAS, independientemente la extensión de la lesión (Fresquet, et al., 2003).

---

<sup>1</sup> Acido Kainico es el agonista principal de los receptores kainato del glutamato, a grandes dosis ha demostrado ser citotóxico.

<sup>2</sup> La 6 hidroxidopamina, es una neurotoxina que lesiona las neuronas catecolaminérgicas.

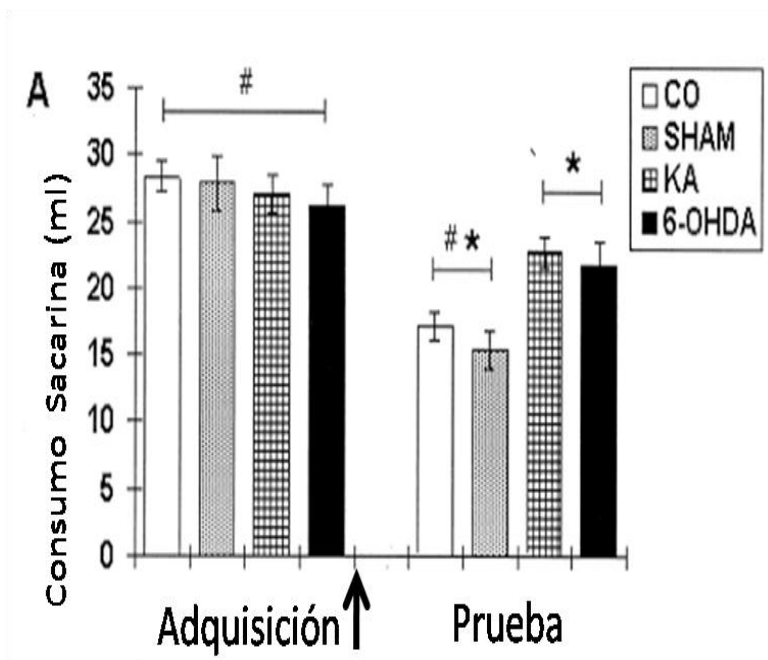


Figura 5. Lesiones citotóxicas en CPFm. Se muestra el consumo de sacarina (0.25%) para cada uno de los grupos durante el día de adquisición y su posterior consumo durante la prueba. Todos los grupos fueron pre expuestos a la solución de sacarina 24 hrs antes de la adquisición. Se puede observar que los grupos lesionados tanto con kainato (KA) como con 6-OHDA muestran la presencia de IL del CAS.  $p < 0.05$ , # $p < 0.01$ . Modificado de Hernadi, et al., 2000 .

Sin embargo estos resultados son contradictorios con los obtenidos más recientemente, en los cuales se demuestra que la CPFm juega un papel necesario en la fase de extinción del CAS. En su estudio, Akirav y su grupo infundieron en la CPFm (corteza prelímbica y corteza infralímbica) un inhibidor de la síntesis de proteínas (anisomicina) inmediatamente después de la prueba de memoria del CAS. Estos resultados muestran que los sujetos que recibieron el inhibidor de la síntesis de proteínas extinguen el CAS (disminución de la aversión) más lentamente con respecto a sus grupos control (Figura 14); de lo cual se puede inferir que durante la extinción del CAS, es necesaria la integridad funcional de la CPFm (Akirav, et al., 2006). De igual forma, se realizó una aproximación al papel que juega la CPFm en el paradigma del CAS y su subsecuente extinción. De esta forma se demostró que hay actividad en la transcripción del gen c-fos en PL y AIL durante la extinción del CAS, y que este aumento en la transcripción está relacionado con la contingencia del estímulo gustativo (Figura 15) (Mickley, et al., 2005).

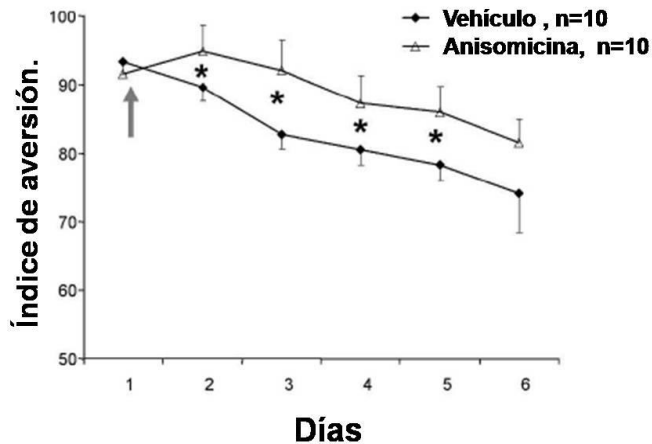
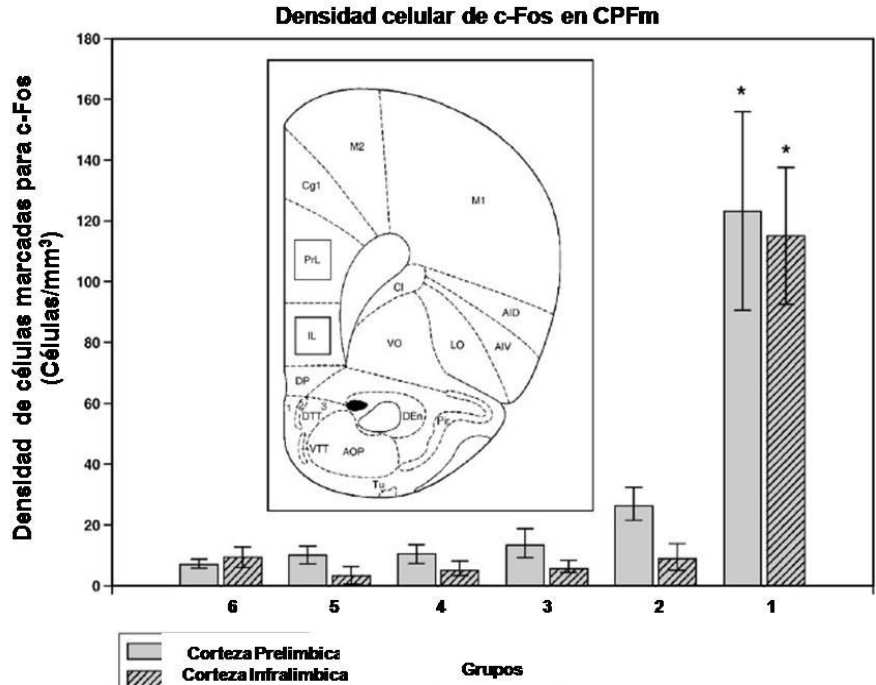


Figura 6. La extinción del CAS es dependiente de la síntesis de proteínas en la CPFm. En este experimento se muestra que los sujetos infundidos con anisomicina (100 $\mu$ g/m 0.5  $\mu$ l) en la CPFm, inmediatamente después del día de prueba del CAS, muestran una extinción más lenta (un mayor índice de aversión), en comparación con los sujetos que recibieron infusiones de vehículo. \* =  $p > 0.05$ , tomado de Akirav, et al., 2006 .

De los estudios antes expuestos se puede inferir que la CPF tiene un papel activo en el procesamiento de información gustativa, y que dicho papel va desde los procesos perceptuales, en el caso de la corteza orbitofrontal, hasta los procesos cognitivos relacionados con la memoria del sabor (para el caso de la CPFm). Sin embargo dichos estudios no se han centrado en la fase de adquisición del CAS, que es el momento del paradigma, donde se lleva a cabo la primera asociación entre el sabor y su consecuencia visceral. Cabe mencionar también, que los estudios mediante lesiones de la CPFm no han sido concluyentes, en cuanto al papel de la corteza en el procesamiento de información gustativa, entre los diferentes grupos de investigación.



Grupo	Ratas	Tratamiento día 1	Tratamiento día 2	Tratamiento día 3	Tratamiento día 4	Tratamiento día 5	Tratamiento día 6	Líquido el día 7 antes de sacrificio	Líquido consumido el día de sacrificio
1.- CAS + Extinción	5	SAC + LICL	AGUA	SAC + LICL	AGUA	SAC + LICL	AGUA	SACARINA	SACARINA
2.- CAS + no Extinción.	9	SAC + LICL	AGUA	SAC + LICL	AGUA	SAC + LICL	AGUA	AGUA	SACARINA
3.- No pariado explicito Sacarina (EI + Sac)	8	SAC	LICLY AGUA	SAC	LICLY AGUA	SAC	LICLY AGUA	SACARINA	SACARINA
4.- No pariado explicito no sacarina (EI + no Sac)	7	SAC	LICLY AGUA	SAC	LICLY AGUA	SAC	LICLY AGUA	AGUA	SACARINA
5.- Control CAS	6	SAC + LICL	AGUA	SAC + LICL	AGUA	SAC + LICL	AGUA		SACARINA
6.- Solo Sacarina	7	SAC		SAC		SAC			SACARINA

Figura 7. Inmuno reactividad para c-Fos en la PL y la AIL ante la extinción del CAS. La gráfica muestra la media de la densidad de células que expresan inmuno reactividad para c-Fos en la PL y la AIL ante la extinción del CAS. La expresión de c-Fos fue estadísticamente significativa únicamente en la extinción del CAS. \*  $p < 0.05$ . Por su parte en la tabla se muestran los diferentes grupos utilizados en este protocolo experimental. Modificado de Mickley, et al., 2005 .

### 3.3 ASOCIACIÓN CPF Y NORADRENALINA.

La CPFm recibe inervación noradrenérgica del *locus coeruleus* (LC) principal núcleo de síntesis de este neurotransmisor. La corteza cingulada anterior presenta una baja densidad de innervación noradrenérgica, mientras que la corteza cingulada posterior recibe una mayor densidad de axones noradrenérgicos. En el caso de la corteza PL, la mayor densidad de proyecciones noradrenérgicas de esta corteza se encuentran entre las cortezas cingulada anterior y la posterior (Heidbreder y Groenewegen, 2003; Morrison, Grzanna, Molliver y Coyle, 1978; Morrison, Molliver, Grzanna y Coyle, 1979; Steketee, 2003). A su vez, el LC recibe inervación recíproca desde la CPFm donde hay una mayor tendencia de las cortezas AIL y PL a enviar proyecciones de entrada a este núcleo (Figura 16) (Heidbreder y Groenewegen, 2003). Por otro lado la estimulación del LC produce decremento en la actividad basal de las neuronas de la AIL y la PL, e incrementa los niveles extracelulares de noradrenalina (NA) y dopamina (DA) en la AIL y la PL (Gresch, Sved, Zigmond y Finlay, 1995; Heidbreder y Groenewegen, 2003; Mantz, Milla, Glowinski y Thierry, 1988; Steketee, 2003; Thierry, Godbout, Mantz, Pirot y Glowinski, 1992). Lo anterior sugiere que la NA liberada en las cortezas AIL y PL puede modular la liberación de dopamina. En este sentido, estudios mediante la técnica de microdiálisis, donde se administro farmacológicamente carbacol (agonista de receptores muscarinicos) en el LC y se observo que la liberación de NA en CPFm coincidía con aumentos en la liberación de DA, mientras que una disminución en la liberación de NA en CPFm por efecto de clonidina (agonista de receptores  $\alpha$ -adrenérgicos) en LC, también provocaba disminución en la liberación de DA en CPFm (Figura 17); En otro experimento se administró directamente en la CPFm, desipramina (inhibidor de la recaptura de NA), lo cual provoco un aumento en los niveles de NA y DA en esta corteza, en este mismo experimento también administraron idaxozan (antagonista de receptores  $\alpha$ 2-adrenérgicos) lo cual provoco disminución en los niveles de dopamina en CPF. De los datos obtenidos en ambos experimentos demuestran que tanto la estimulación de LC como el uso de inhibidores de la captura de NA en CPFm provocaba aumento de NA como de DA en la CPFm ipsilateral al sitio de la estimulación, mientras que la

inactivación del LC o bien la infusión con antagonistas de receptores  $\alpha$ -adrenérgicos en la CPFm provoca una disminución de ambos neurotransmisores; lo cual permite inferir el papel de la NA como modulador de la liberación de DA en CPFm (Gresch, et al., 1995; Heidbreder y Groenewegen, 2003; Kawahara, Kawahara y Westerink, 2001).

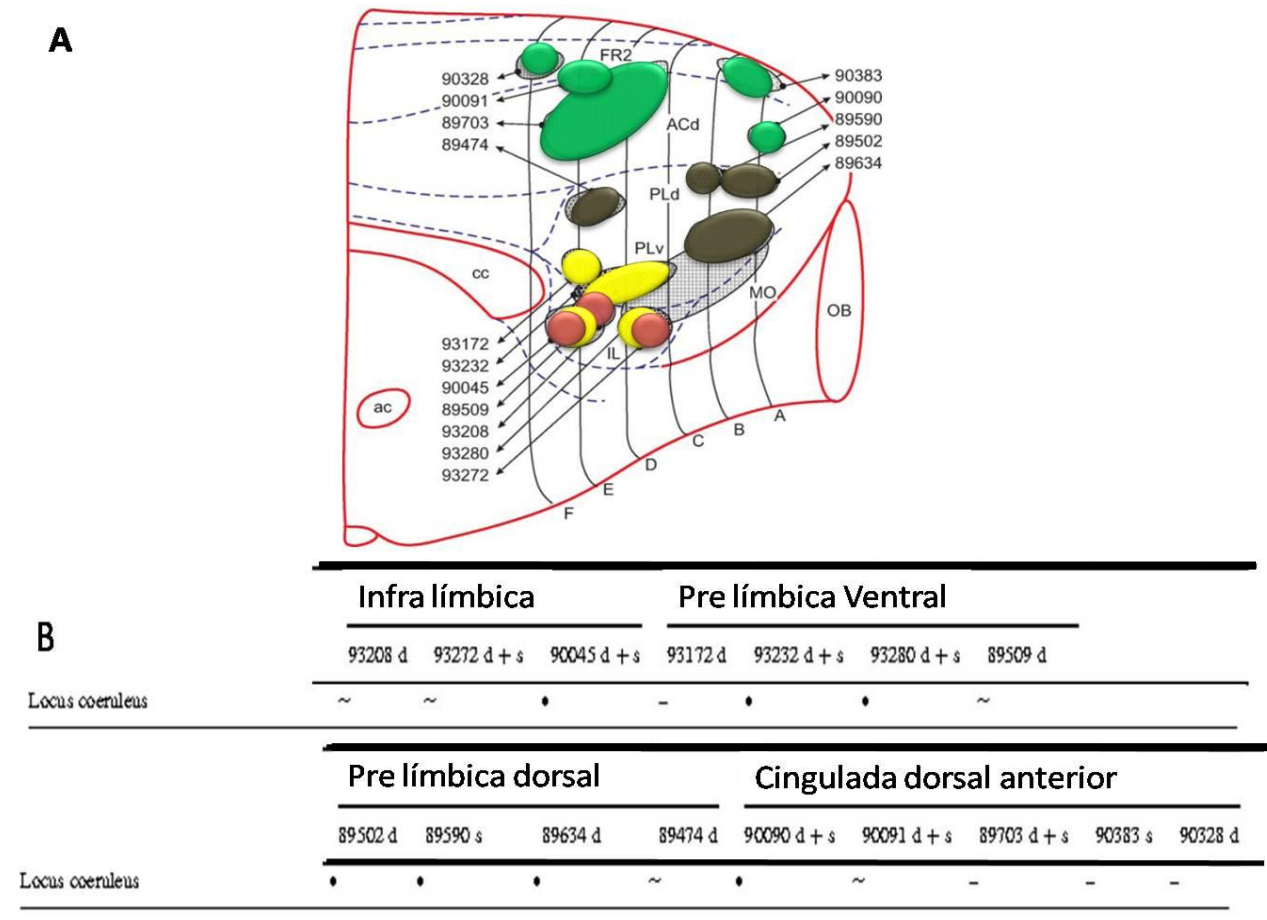


Figura 8 Interacción entre CPFm y LC. Se identificaron fibras que proyectan desde CPFm hacia LC, estas fibras se identificaron mediante inyecciones de marcadores anterógrafos Faseolus Vulgaris Leucoaglutinina (PHA-L) y dextran-amina biotinilada (DBA) en diferentes regiones de CPFm y FR2. (A) Se muestra una vista medial de de la parte rostral del hemisferio de la rata. En ella se han marcado las localizaciones aproximadas de los sitios donde se inyectaron los marcadores. Los niveles de las secciones (A – F) se muestran en la Figura 4. (B) Se muestra la densidad relativa de fibras y terminales desde CPFm y FR2 hacia el locus coeruleus. La localización de las inyecciones está representada en la sección A. La densidad de fibras desde cada zona inyectada hacia el LC está representada bajo el siguiente patrón: (-) Ausencia de marcaje, (≈) Fibras esporádicas, (•) Presencia de fibras. El número de cada región inyectada es seguida por “d” y/o “s” indicando la localización de las inyecciones: (d) capas profundas de la corteza o capas superficiales (s). Modificado de (Heidbreder y Groenewegen, 2003)

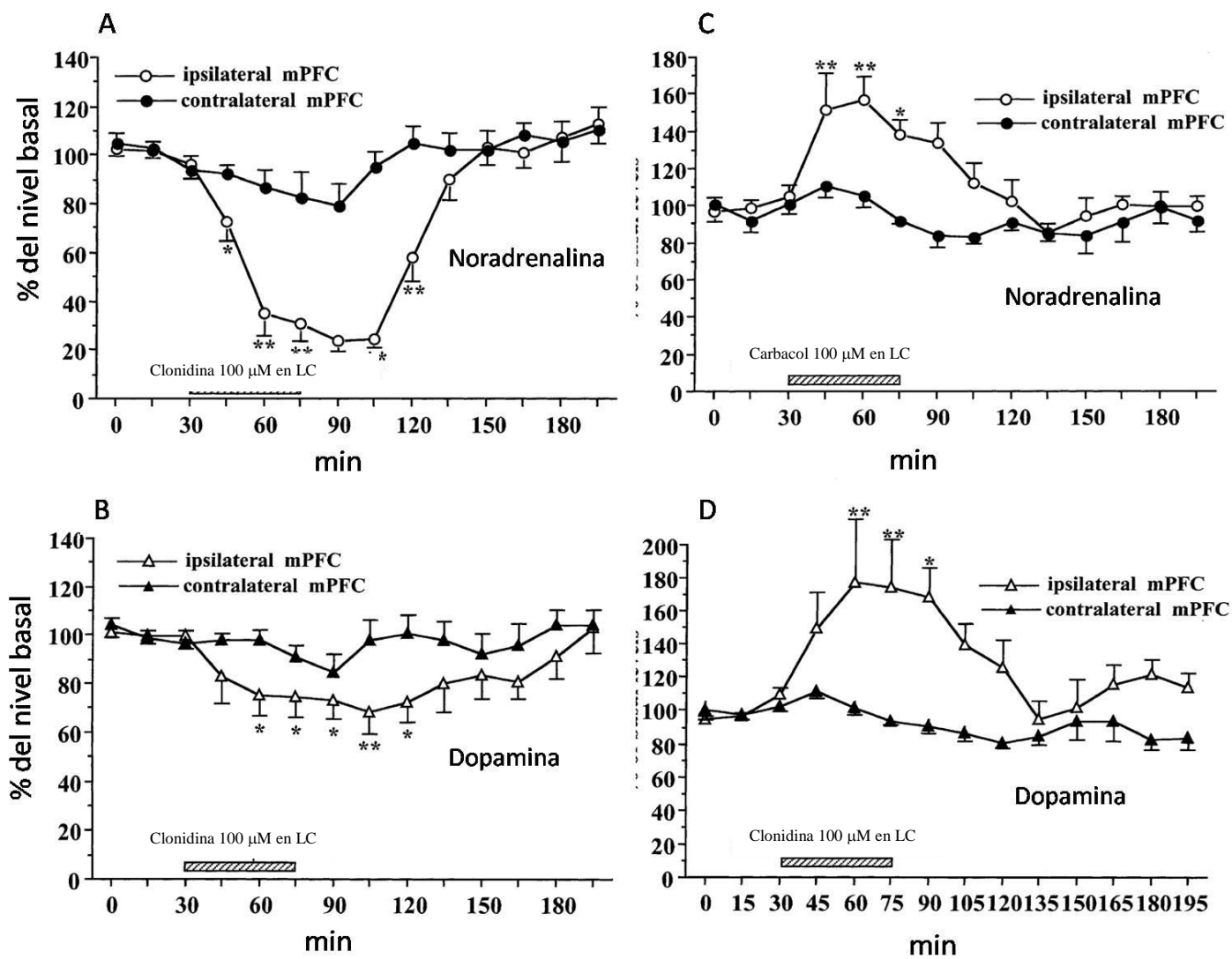


Figura 9. La liberación de NA provocada por la estimulación del LC promueve la liberación de DA en la CPFm. (A) Durante la inactivación del LC mediante clonidina provoca una disminución en la liberación de NA en la CPFm ipsilateral. (B) La inactivación del LC con clonidina provoca una disminución en la liberación de DA en la CPFm ipsilateral. (C) la activación del LC con carbacol estimula la liberación de NA en la CPFm ipsilateral, lo cual a su vez también estimula la liberación de DA en esta misma corteza (D) Tomado de Kawahara, et al., 2001 .

## 4 JUSTIFICACIÓN

Existe suficiente evidencia experimental que relaciona a la CPFm con funciones alimenticias y memorias relacionadas al sabor. Sin embargo la función específica de las neuronas de esta área cerebral y de la actividad catecolaminérgica en el procesamiento central de la información gustativa, aún no está definido (Hernádi, et al, 2000). Los estudios existentes han explorado el papel de la CPFm enfocándose casi exclusivamente en la fase de extinción del CAS, sin explorar su papel durante la fase de adquisición de dicho condicionamiento. Tampoco se ha explorado la función del sistema noradrenérgico, específicamente de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos en la adquisición y/o consolidación del CAS. En relación al fenómeno de IL; los datos indican que el neurotransmisor que juega un papel principal en este fenómeno es la dopamina, de esta forma lesiones puntuales en la CPFm o uso de agonistas dopaminérgicos provocan una disminución de la IL en animales, y este proceso puede ser revertido por el uso de antagonistas dopaminérgicos como haloperidol. Sin embargo se ha demostrado mediante estudios de microdiálisis que existe modulación de los niveles de dopamina en la CPFm en función con los niveles de NA liberados por el LC en la CPF (Kawahara, Kawahara y Westerink, 2000; Kawahara, et al., 2001; Westerink, Kawahara, De Boer, Geels, De Vries, et al., 2001). En función de ello, es necesario explorar el papel de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos de la CPFm en la formación y expresión de la IL; el cual es un fenómeno que se presenta tanto en humanos como en animales, y la IL en ambos modelos se genera por mecanismos y variables semejantes. Esto indica que la rata es un modelo adecuado para el estudio neuroquímico y neuroanatómico de la IL del CAS. Así mismo, es útil para los estudios de patologías como la esquizofrenia la cual es una enfermedad neuro-psiquiátrica en la cual se ve afectada la expresión de la IL, en pacientes de reciente inicio (Lubow, 2005). En este proyecto, se investigó el papel de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos de la CPFm en dos procesos:

- a) El papel de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos en la CPF en las fases de adquisición (formación y/o consolidación) y evocación del CAS.



- b) El papel de los receptores  $\beta$ - adrenérgicos de la CPF durante la pre-exposición de la IL del CAS.

Esta investigación permitirá conocer la función de los receptores beta adrenérgicos en la corteza prefrontal durante la formación de la memoria incidental y la memoria de aversión al sabor.

## 5 HIPÓTESIS

El bloqueo de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos en la CPF mediante propranolol, antagonista  $\beta$ -adrenérgico, impedirá el aprendizaje del CAS.

El bloqueo de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos en la CPF mediante propranolol, antagonista  $\beta$ -adrenérgico, impedirá la evocación del CAS.

El bloqueo de receptores  $\beta$ -adrenérgicos en la CPF mediante propranolol, antagonista  $\beta$ -adrenérgico, potenciará la IL del CAS.

## 6 OBJETIVOS

### 6.1 OBJETIVOS GENERALES.

Estudiar la función de la actividad noradrenérgica mediada por los receptores  $\beta$ -adrenérgicos en la CPFm durante la formación y expresión de la memoria aversiva del sabor.

Estudiar la función de la actividad noradrenérgica mediada por los receptores  $\beta$ -adrenérgicos en la CPFm durante la formación de la memoria incidental del sabor.

### 6.2 OBJETIVOS PARTICULARES.

Evaluar los efectos de la administración de un antagonista  $\beta$ -adrenérgico (propranolol), , durante la fase de adquisición (aprendizaje y consolidación) y la fase de evocación del condicionamiento de aversión al sabor

Evaluar los efectos de la administración de un antagonista  $\beta$ -adrenérgico (propranolol), , durante la pre-exposición del sabor en la inhibición latente del CAS.

## 7 MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio se enfocó en valorar los efectos del propranolol en dos formas de aprendizaje gustativo, tanto asociativo como incidental. Para analizar dichos efectos sobre el aprendizaje asociativo se realizaron dos experimentos de memoria gustativa. En el experimento 1 se evaluaron los efectos del propranolol sobre la adquisición y/o consolidación del CAS (infusiones antes de la adquisición - INFAdq); mientras que en el experimento 2 se evaluó el efecto del propranolol sobre la evocación del CAS (Infusiones antes de la evocación de la memoria de aversión del sabor - INFev). Dados los resultados obtenidos en estos experimentos se decidió analizar los posibles efectos del propranolol en la percepción del sabor (experimento 3) y sobre el efecto de dependencia de estado (experimento 4). Con el fin de analizar los efectos del bloqueo de receptores  $\beta$ -adrenérgicos en aprendizajes incidentales se realizó un experimento dentro de un protocolo de IL del CAS (experimento 5).

### 7.1 SUJETOS

Se utilizaron ratas macho de la cepa Sprague-Dawley, con un peso entre 250 y 300 g. al momento de su ingreso al laboratorio, se separaron en cajas individuales con alimento y agua *ad libitum*. Durante un periodo de una semana se habituaron al *vivarium* del laboratorio, manteniendo en ciclo invertido de 12 horas de oscuridad / 12 horas de luz, con una temperatura promedio de 23 °C. Tanto las manipulaciones y los procedimientos de experimentación fueron realizadas durante el ciclo activo de las ratas. Todas las manipulaciones y experimentos fueron realizados bajo la autorización del comité de ética del Instituto de Neurobiología UNAM, de acuerdo a los lineamientos del NIH

## 7.2 CIRUGÍA

Las ratas se anestesiaron con una solución compuesta de ketamina (Cheminova) 70 mg/Kg i.p. y xilacina (Cheminova) 6 mg/Kg i.p. Posteriormente, basándose en las coordenadas del atlas de Paxinos (Paxinos, 1998) para CPF (AP +3, LAT +-.5, DV -2 desde bregma) y a través de un estereotáxico se les implantó de forma bilateral, cánulas de acero inoxidable de 12 mm y 30 gauge de diámetro. Las cánulas se anclaron al cráneo de los sujetos mediante acrílico dental y dos tornillos de acero inoxidable. Una vez fijas las cánulas se les insertaron estiletes de acero inoxidable (12 mm longitud) para evitar el taponamiento de las cánulas. Posteriormente pasaron al post operatorio inmediato<sup>1</sup> en un periodo de recuperación de 7 días con alimento y agua *ad libitum*.

## 7.3 INFUSIONES

Las infusiones se realizaron mediante la inserción de inyectores de 15 mm, 30 gauge de diámetro a cada una de las cánulas. Dichos inyectores fueron diseñados para sobresalir 2 mm por debajo del borde inferior de la cánula, con la finalidad de llegar a la CPFm (Porción ventral de PL y dorsal de AIL). Los inyectores se fabricaron con agujas dentales, las cuales se conectaron mediante un tubo de polipropileno a una jeringa Hamilton de 10 µl. El flujo de la jeringa se controla mediante una bomba de infusión (Microprocessor Controlled Syringe pumps 100 series).

El propranolol se infundió a una concentración de 20 µg/5 µl de solución salina fisiológica (esta dosis mostro efectos previos en los trabajos de Bahar 2003 y Miranda 2008) (Bahar et al., 2003, Miranda et al., 2008), en los sujetos control se infundió solución salina. El volumen infundido fue de 0.5 µl en cada hemisferio con un tiempo de infusión de 60 seg, posterior a este tiempo los inyectores se mantuvieron en posición durante 60 seg permitiendo así una correcta difusión del fármaco en la CPF.

---

<sup>1</sup> Post operatorio inmediato.- Periodo de recuperación de un procedimiento quirúrgico, el cual es posterior a la recuperación del estado anestésico y hasta 7 días posterior a la cirugía.

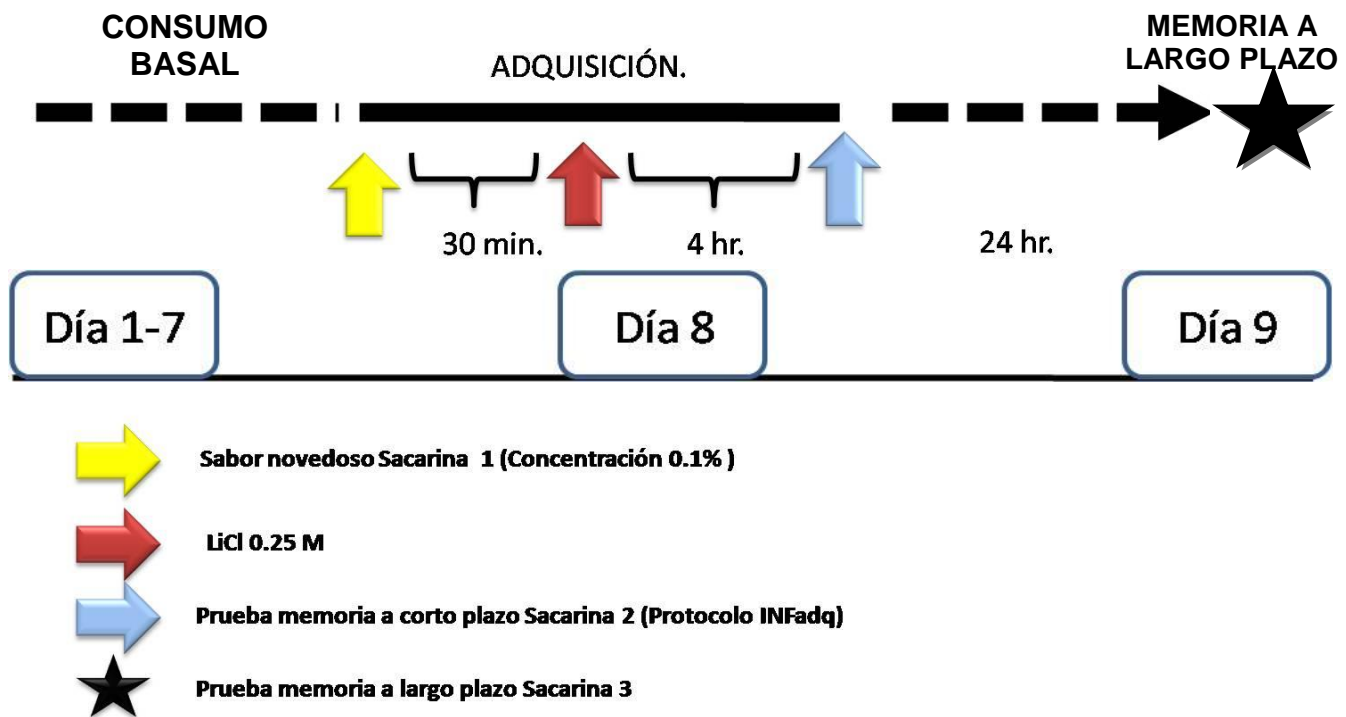
## 7.4 PARADIGMAS CONDUCTUALES

### 7.4.1 CONDICIONAMIENTO DE AVERSIÓN DEL SABOR

Los sujetos se privaron de agua durante 24 horas, y posteriormente fueron habituados a consumir agua durante un periodo de 20 min al día. El periodo de habituación fue de 7 días y estos consumos fueron considerados para establecer una línea basal de consumo. El octavo día (adquisición), se realizó la presentación del sabor novedoso (EC) sacarina 0.1% durante 20 minutos, media hora después del consumo los sujetos fueron expuestos al EI, inyectándolos con una solución de cloruro de litio (0.25 M/3 ml) i.p., la cual provoca irritación visceral. El noveno día (24 horas después de la adquisición) se realizó la prueba de memoria a largo plazo, para ello nuevamente se les presentó la solución de sacarina a la misma concentración que el día de adquisición, se les permitió beber durante 20 minutos y se cuantificó el consumo, el cual se utilizó como un parámetro de la asociación entre el EC y el EI; de esta forma consumos menores durante la prueba de memoria indicaron una asociación (aprendizaje) mayor (Figura 18).

Bajo este paradigma se realizaron dos experimentos diferentes, el primero para valorar los efectos del propranolol sobre la fase de adquisición y/o consolidación del CAS (INFadq), mientras que en el segundo experimento se valoraron los efectos del propranolol durante la fase de evocación (INFev).

También como parte del experimento 1 se realizó una prueba de memoria a corto plazo, en la cual cuatro horas después de la adquisición, se les dio a beber sacarina y al igual que en las pruebas de memoria a largo plazo, los consumos fueron parámetros de la aversión de los sujetos hacia el sabor.



**Figura 1 . Procedimiento del CAS.** Diagrama que muestra el procedimiento general del condicionamiento de aversión a los sabores. Después de siete días de línea base de consumo de agua, se continúa con la fase de adquisición, en la cual los sujetos son expuestos a un sabor novedoso (sacarina 0.1%) que se asocia con un malestar visceral (LiCl 0.25 M). En este protocolo se pueden realizar pruebas de memoria a corto plazo (cuatro horas después de la adquisición) o bien pruebas de memoria a largo plazo.

#### 7.4.2 MODELO DE PERCEPCIÓN DEL SABOR

Al igual que en el CAS, los sujetos se privaron de agua durante 24 h, posterior a ello se estableció la línea base de consumo de agua durante 7 días (una sola presentación de agua al día, con una duración de 20 min). Al octavo día los sujetos fueron expuestos durante 20 min a un sabor que naturalmente les provoca aversión (quinina). Se cuantificó su consumo durante esta exposición el cual se comparará con el consumo basal, teniendo así un parámetro del rechazo o preferencia del nuevo sabor presentado. El noveno día los sujetos fueron expuestos nuevamente al sabor durante 20 min y se cuantificó su consumo, el cual fue un parámetro para verificar la existencia de rechazo a dicho sabor.

### 7.4.3 INHIBICIÓN LATENTE DEL CONDICIONAMIENTO DE AVERSIÓN A LOS SABORES

Al igual que en los protocolos anteriores, los sujetos se privaron de agua durante 24 h, durante los siguientes días se habituaron a beber agua una sola vez al día durante un periodo de 20 min, condición que se mantuvo durante todo el experimento variando únicamente la naturaleza del líquido ingerido. Durante todo el experimento se mantuvieron con alimento *ad libitum*, se estableció una línea base de consumo de 7 días (un consumo diario con una duración de 20 min). El octavo día se realizó la fase de pre-exposición al sabor, en la cual se presentó un estímulo gustativo (sacarina al 0.1%) el cual no es asociado a ninguna consecuencia visceral, 20 min después se cuantifica el consumo. El siguiente día (Adquisición del CAS), los sujetos fueron expuestos nuevamente a una solución de sacarina al 0.1%, durante 20 min, y media hora después a la ingesta, los animales fueron inyectados con LiCl 0.25 mMol (1.059 g/100 ml) i.p., a una dosis de 9.5 ml/Kg, (0.75% del peso corporal). Veinticuatro horas después se les sometió a la prueba de memoria, presentándoles una vez más la solución de sacarina. La cantidad de ingesta durante este día reveló el grado de inhibición latente en los sujetos (Figura 19).

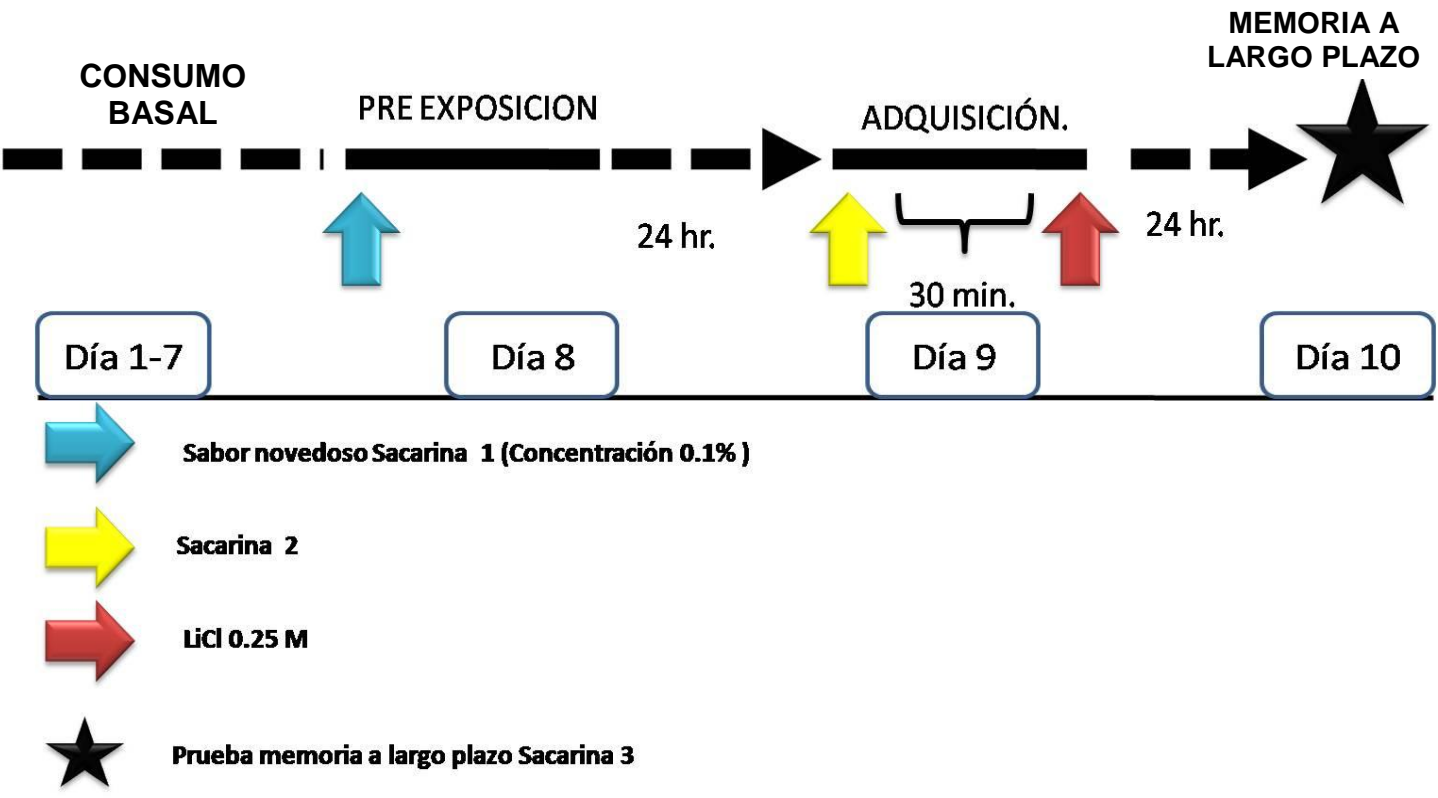


Figura 2. Diagrama de la Inhibición latente del CAS. Después de una línea base de consumo de agua (7 días) los sujetos fueron expuestos a un sabor novedoso, en este caso sacarina al 0.1%, el cual no fue seguido por ninguna consecuencia (fase de pre exposición), 24 h después se realizó la fase de adquisición en la cual se realizó una segunda presentación del sabor, pero el estímulo gustativo fue seguido por una consecuencia visceral (LiCl 0.25M), Pasadas 24 h (décimo día) se llevó a cabo la prueba de memoria para ello se dio una tercera presentación del sabor, y es durante esta fase donde se puede valorar la inhibición latente en los sujetos.



## 7.5 HISTOLOGIA

Con la finalidad corroborar los sitios donde fueron implantadas las cánulas, se sacrificaron a los sujetos de experimentación mediante perfusión intracardiaca, para ello, previamente se inyectó una sobredosis de pentobarbital sódico (100 mg/Kg\_i.p) (Miranda & McGaugh, 2004). Posterior a la sobredosis del anestésico, los sujetos se perfundieron con solución fisiológica, fueron decapitados y los cerebros se extrajeron manualmente, para colocarse en formaldehído al 4% por un periodo de 4 días y posteriormente en una solución de sacarosa al 30% durante 4 días, esto como una medida de crio protección (Miranda & McGaugh, 2004). Posteriormente se realizaron cortes de 50 micras mediante un criostato. Los cortes obtenidos, fueron montados en un orden de 6 cortes en un portaobjetos y posteriormente fueron sometidos a tinción con el método de violeta de cresilo. Al terminar el proceso de tinción los cortes fueron analizados bajos criterios histológicos, descritos en la sección siguiente.

## 7.5.1 ANÁLISIS HISTOLÓGICO

Con la finalidad de realizar el análisis estadístico considerando únicamente sujetos en los cuales las infusiones fueron realizadas en la estructura anatómica de interés (la CPFm), se procedió a realizar un análisis histológico de cada cerebro obtenido. Para ello se observaron las laminillas al estereoscopio, comparándose con el atlas de Paxinos en los cortes correspondientes a la corteza infralímbica y prelímbica, desde + 3.2mm hasta +2.2mm desde bregma, (Paxinos, 1998). Se analizó la presencia de los trayectos de las cánulas y de los inyectores a través del parénquima cerebral, así como los sitios de difusión (propranolol o solución salina), en todos estos análisis, se tenía conocimiento de que lado era el derecho y cual el izquierdo en cada corte; Bajo este criterio los resultados se catálogosaron de la siguiente manera:

<b>Clasificación</b>	<b>Interpretación</b>		
<b>+</b>	Cánulas, inyectores y difusión de fármaco en sitio anatómico adecuado.		
<b>x</b>	Cánula, inyector y difusión de fármaco en sitio inadecuado.		
<b>¿?</b>	No se observa trayecto de cánula y/ o inyector, pero si el sitio de difusión.		
<b>Categoría Histológica</b>	<b>Lado 1</b>	<b>Lado 2</b>	<b>Interpretación.- El lado derecho de los cortes corresponde al lado derecho de los portaobjetos</b>
Histología adecuada.	<b>+</b>	<b>+</b>	Cánulas, inyectores y difusión de fármaco en sitio anatómico adecuado. (Bilateral)
Probable inclusión.	<b>+</b>	<b>¿?</b>	Cánula, inyector y difusión de fármaco en adecuado de un lado y cánula o inyector no visible de lado contrario, pero sitio de difusión visible acorde a CPFm
Probable inclusión.	<b>¿?</b>	<b>¿?</b>	No se observa trayecto de cánula, ni inyector en ambos lados, pero sitios de difusión visibles y acordes a CPFm
Catalogar como fuera de lugar o lesión en sitio de interés.	<b>x</b>	<b>x</b>	Cánula, inyector y difusión de fármaco en sitio inadecuado. (Bilateral), Criterio de exclusión Inmediata
Catalogar como fuera de lugar o lesión en sitio de interés.	<b>x</b>	<b>¿?</b>	Cánula, inyector y difusión de fármaco en sitio inadecuado en un hemisferio, con cánula o inyector no visible contra lateral. Criterio de exclusión inmediata.

Un ejemplo del análisis histológico realizado se puede observar en la Figura 20.

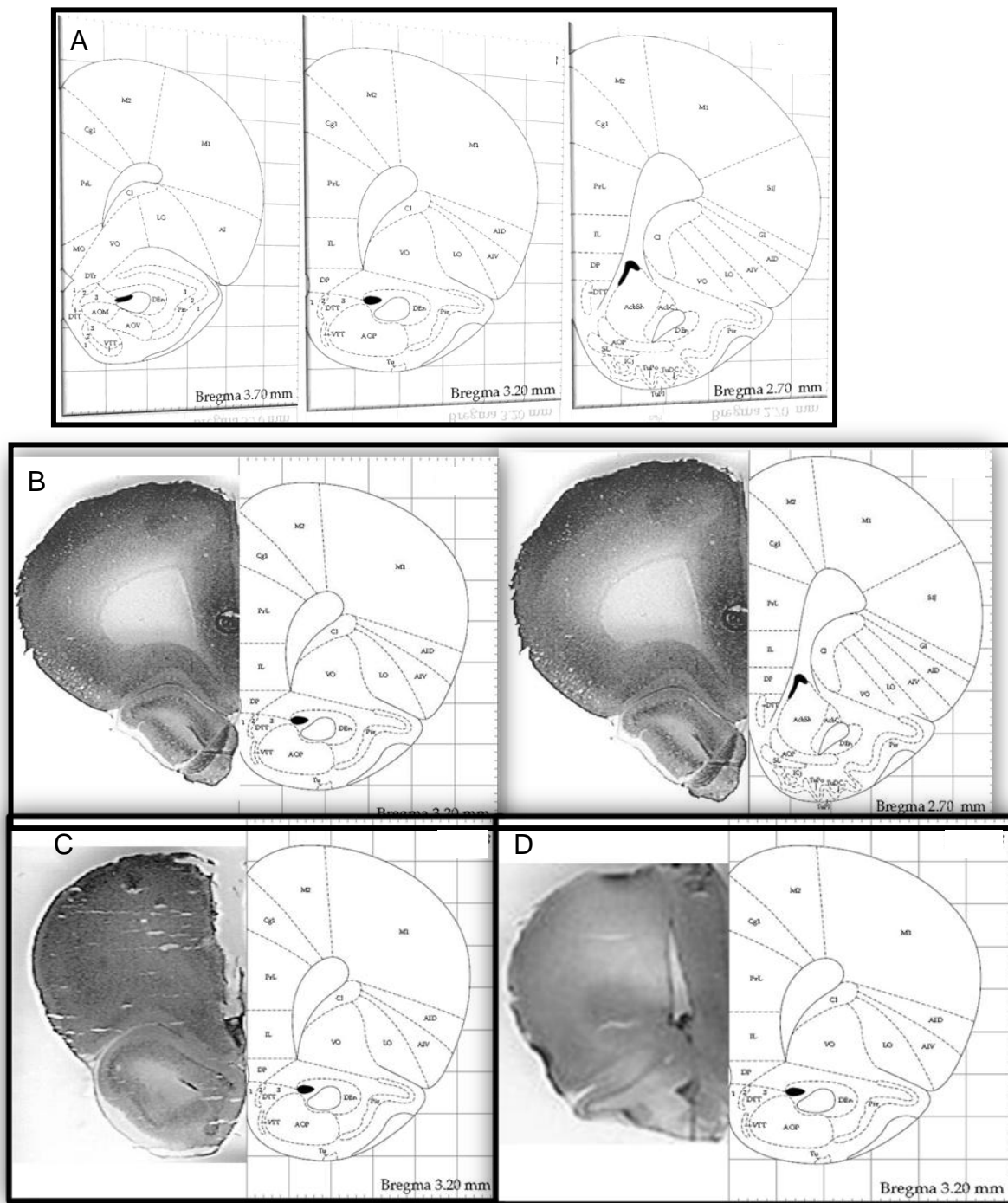


Figura 3. Análisis histológico. (A) Cortes de Paxinos correspondientes a la CPF, desde +3.2 mm hasta +2.7 mm anterior a bregma. (B) Ejemplo de un análisis histológico, en el cual se puede observar tanto el trayecto del inyector como el sitio de infusión, este corte esta en un punto intermedio entre + 3.2 y +2.7 mm desde Bregma. Se puede corroborar que el sitio de infusión se encuentra en los límites entre PL e IL. (C) Ejemplo de un cerebro en el que el trayecto de la cánula lesionó la región de interés. (D) Ejemplo de una implantación fuera del lugar de interés, en este caso la cánula se encontró sobre el cuerpo calloso.

## 7.6 ANÁLISIS DE DATOS

Una vez realizado el análisis histológico, se procedió a realizar el análisis de datos, para ello se utilizó el consumo neto de líquido para cada una de las fases (días) de los diferentes experimentos. Se realizó la prueba estadística ANOVA de medidas repetidas para identificar diferencias entre los grupos, diferencias de los sujetos a lo largo de las fases del experimento (tiempo) y si existía interacción entre el tratamiento recibido y el tiempo. Una vez obtenidos los datos del ANOVA de medidas repetidas, se realizó prueba post hoc LSD de Fisher para cada una de las fases de los protocolos, para identificar diferencias entre los grupos. Se consideraron datos significativos con una  $p < 0.05$ . En la Tabla 1 se muestran los detalles de los procedimientos estadísticos realizados para cada experimento.

<i>Experimento</i>	<i>Grupos</i>	<i>Fases</i>	<i>Prueba Estadística</i>
<i>INFadq</i>	• <i>Control</i> • <i>Propranolol</i>	• <i>Basal de agua, adquisición, memoria a corto plazo, memoria a largo plazo</i>	<i>ANOVA de medidas Repetidas, Post Hoc de Fisher</i>
<i>INFev</i>	• <i>Control</i> • <i>Propranolol</i>	• <i>Basal de agua, adquisición, memoria a largo plazo</i>	
<i>Percepción del sabor</i>	• <i>Control</i> • <i>Propranolol</i>	• <i>Basal de agua, Quinina 1, Quinina 2</i>	
<i>Dependencia de estado.</i>	• <i>Control</i> • <i>Dependencia de estado</i>	• <i>Basal de agua, adquisición, memoria a largo plazo</i>	
<i>IL-CAS</i>	• <i>Control- CAS</i> • <i>Propranolol-control</i> • <i>Control-IL</i> • <i>Propranolol-IL</i>	• <i>Basal de agua, pre- exposición, adquisición, memoria a largo plazo, extinción</i>	<i>ANOVA de medidas Repetidas, ANOVA Factorial para cada fase y Post Hoc de Fisher</i>

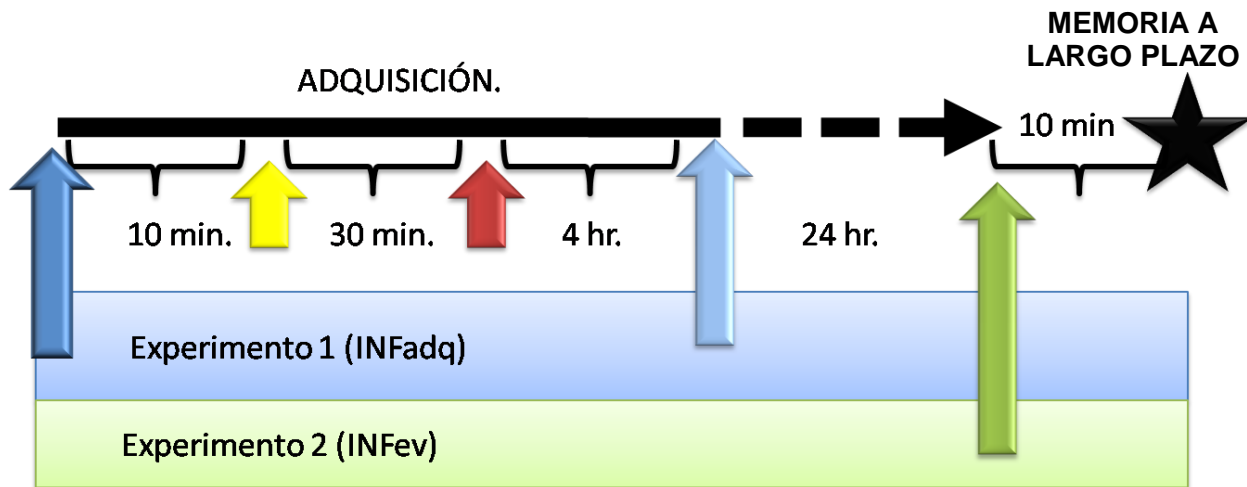
Tabla 1. Se muestra los diferentes protocolos experimentales, los grupos incluidos en cada protocolo, así como las fases de tiempo de cada protocolo. En la última columna se muestra las pruebas estadísticas utilizadas para cada protocolo experimental.

## **8 EXPERIMENTOS**

### **8.1 EFECTOS DE LAS INFUSIONES DE PROPRANOLOL ANTES DE LA ADQUISICIÓN-CONSOLIDACIÓN Y LA EVOCACIÓN DEL CONDICIONAMIENTO DE AVERSIÓN A LOS SABORES**

#### **8.1.1 EXPERIMENTO 1. (INFadq)**

Este experimento tubo como finalidad el conocer los efectos de las infusiones de propranolol en la CPFm durante la fase de adquisición y/o consolidación del CAS. Para ello, posterior a las cirugías y después de la línea base de agua, durante la fase de adquisición del CAS, los sujetos se dividieron aleatoriamente en el grupo experimental y grupo control (grupo propranolol (n= 25) y grupo control (n= 16) respectivamente) y recibieron infusiones bajo el procedimiento mencionado en el apartado 7.3. Diez min después de las infusiones se continuó con el protocolo del CAS. Cuatro horas posteriores a la fase de adquisición (fase de asociación entre el sabor novedoso y el LiCl), se realizó una segunda presentación de sacarina al 0.1% con la finalidad de evaluar la memoria a corto plazo; 24 h después durante el día de prueba se les presentó nuevamente la solución de sacarina al 0.1% y se cuantificó su consumo (Figura 21).









-  Infusiones propranolol 20 mg/ 0.5 ml (Protocolo INFadq)
-  Infusiones propranolol 20 mg/ 0.5 ml (Protocolo INFev)
-  Sabor novedoso Sacarina 1 (Concentración 0.1%)
-  LiCl 0.25 M
-  Prueba memoria a corto plazo Sacarina 2 (Protocolo INFadq)
-  Prueba memoria a largo plazo Sacarina 3

Figura 1. Diagrama de los experimentos 1 (INFadq) y 2 (INFev). Se puede observar el protocolo general del CAS, así como las diferentes intervenciones durante los protocolos INFadq e INFev. Bajo el primer protocolo, se realizan infusiones 10 min previas a iniciar con la fase de adquisición del CAS, y se realizan pruebas de memoria tanto de corto como a largo plazo. Bajo el protocolo INFev las infusiones se realizaron 10 min antes de la prueba de memoria a largo plazo.

### 8.1.1.1 RESULTADOS DEL EXPERIMENTO 1 (INFadq)

En la Figura 22 se muestran los resultados del protocolo INFadq; el análisis de ANOVA de medidas repetidas dos por cuatro, mostró que existen diferencias en entre los grupo control (n=16) y propranolol (n=25) ( $F_{(1,39)} = 10.14$ ;  $p < 0.01$ ) , también se encontraron diferencias de los sujetos a lo largo del tiempo ( $F_{(1,39)} = 91.23$ ;  $p < 0.0001$ ), e interacción entre el tratamiento recibido (grupo) y el tiempo ( $F_{(1,39)} = 7.56$ ;  $p < 0.0005$ ).

Cuando se realizo la prueba post hoc LSD de Fisher para cada uno de los días del protocolo, se encontró que no había diferencias entre los grupos durante el consumo basal, ni durante la adquisición ( $p > 0.05$ ). Sin embargo, durante la evocación el grupo con infusión de propranolol presentó un incremento significativo en el consumo de sacarina en la prueba de memoria a corto plazo ( $p < 0.05$ ), así como también un incremento en el consumo durante la prueba de memoria a largo plazo ( $p < 0.001$ ).

## Efecto del propranolol en la CPFm Experimento 1 (INFadq)

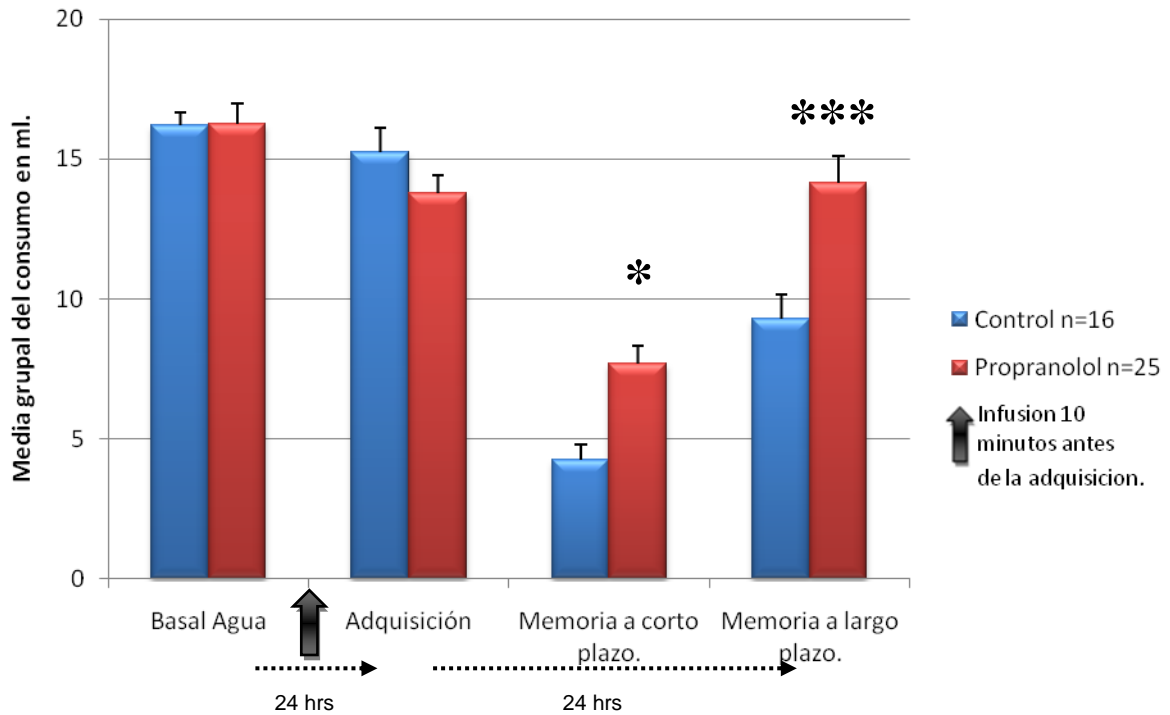


Figura 2 . Efecto de infusiones de propranolol en CPFm protocolo INFadq. El consumo de agua, durante la línea base y el día de adquisición del CAS no presentó diferencias significativas entre los grupos. La flecha indica el momento de la infusión 10 min previos a la presentación del sabor novedoso. Efectos del propranolol antes de la adquisición del CAS sobre la memoria a corto y a largo plazo. El \* indica diferencia con el control \*  $p < 0.05$ ; \*\*\*= $p < 0.001$ .



## 8.1.2 EXPERIMENTO 2 (INFev)

Este experimento se realizó con la finalidad de conocer los efectos de las infusiones de propranolol en la CPFm en la fase de evocación del CAS. Para ello los sujetos fueron divididos aleatoriamente en grupo control (n= 10) y grupo propranolol (n= 10), y se llevó a cabo el protocolo del CAS, realizando las infusiones diez min antes de la prueba de memoria a largo plazo (Figura 21).

### 8.1.2.1 RESULTADOS DEL EXPERIMENTO 2.

Al realiza la prueba de ANOVA de medidas repetidas dos por cuatro, no se encontraron diferencias significativas entre los grupos ( $F_{(1,18)}=0.42$ ;  $p>0.05$ ), pero si un efecto a través del tiempo ( $F_{(1,3)}=31.78$ ;  $p<0.0001$ ) e interacción entre el grupo y el tiempo ( $F_{(1,3)}=3.85$ ;  $p>0.05$ ) (Figura 23).

## Efecto de infusiones de propranolol en CPFm Experimento 2 (INFev)

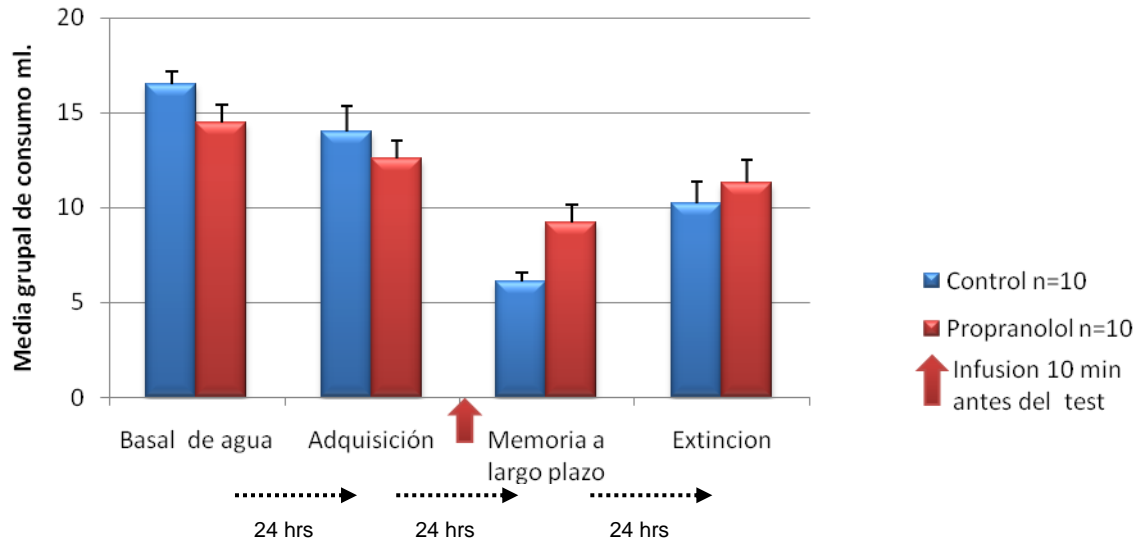


Figura 3. El propranolol infundido antes de la prueba de memoria a largo plazo, carece de efecto en la evocación del CAS. La flecha indica el momento de la infusión: 10 min antes de la prueba de evocación. No se encontraron diferencias entre los grupos a través del tiempo.

### 8.1.3 EXPERIMENTO 3. PERCEPCIÓN DEL SABOR

Dados los resultados de los experimentos anteriores, en los cuales el propranolol mostro efectos en la fase de adquisición y tendencia de efecto durante la evocación, se realizó un tercer experimento con un procedimiento de percepción del sabor. Para descartar que el efecto observado en los grupos propranolol, se debiera a un efecto sobre algún proceso perceptual más que sobre un proceso mnémico. Para ello 11 sujetos fueron privados de agua durante 24 h, durante los siguientes 7 días se habituaron a beber agua una sola vez al día durante un periodo de 20 min en una probeta graduada, condición que se mantuvo durante todo el experimento, así como alimento con *ad libitum*. El octavo día se realizaron infusiones bajo el procedimiento explicado en el apartado correspondiente, al grupo control (n=5) y propranolol (n=6); 10 minutos después, se les dio de beber una solución de quinina al 0.009%, a la cual se ha demostrado que los sujetos presentan aversión innata. Posterior a la ingesta se cuantificó el consumo. Al siguiente día, se presentó nuevamente la quinina y se cuantificó el consumo, esto para conocer como decrecía la aversión a dicho sabor (habituaación o atenuación de la neofobia).

#### 8.1.3.1 EFECTOS DE LA INFUSION DE PROPRANOLOL EN LA PERCEPCIÓN DEL SABOR

El análisis de ANOVA de medidas repetidas dos por tres, reveló que no hubo diferencias en entre los grupos control y propranolol ( $F_{(1,9)} = 0.960$ ;  $p > 0.05$ ), hay diferencias significativas en el consumo a lo largo del tiempo ( $F_{(1,2)} = 57.68$ ;  $p < 0.001$ ), pero no hay interacción entre el factor tiempo y el grupo ( $F_{(1,2)} = 0.426$ ;  $p > 0.05$ ), esto nos indica que el propranolol no afecta la percepción del sabor (Figura 24).

## Efecto de las infusiones de propranolol en la CPFm en la percepción del sabor.

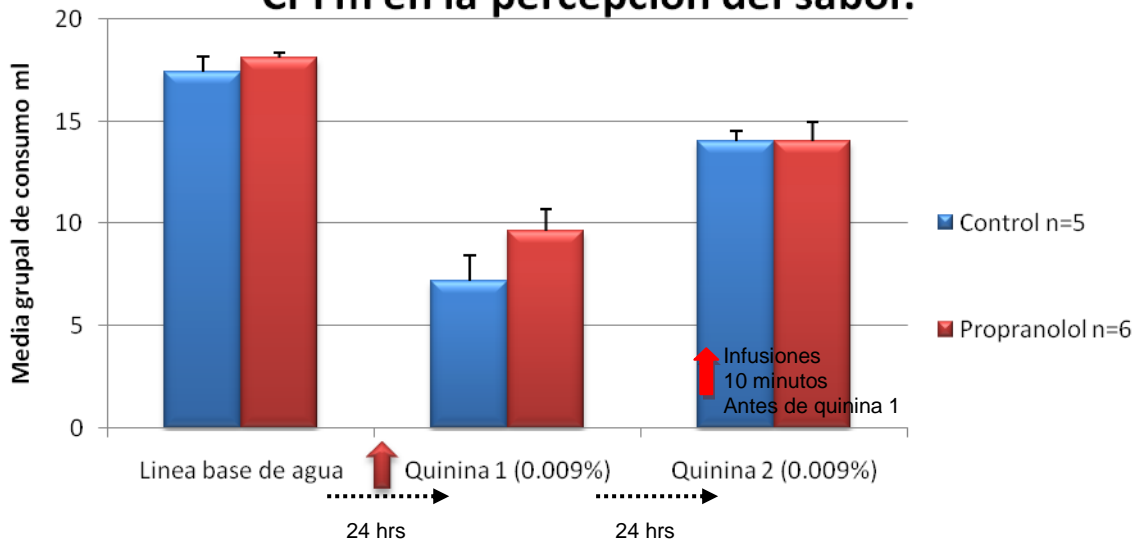


Figura 4. El propranolol en la CPFm no altera el consumo de quinina (0.009%). La flecha indica el momento de las infusiones, diez min previos a la presentación de quinina.

### 8.1.4 EXPERIMENTO 4. PRUEBA DE DEPENDENCIA DE ESTADO

Dado que se ha demostrado que el aprendizaje y la memoria pueden estar sujetos a dependencia de estado (Rezayat et al., 2009), y en función de que en el experimento uno, el fármaco fue administrado antes del aprendizaje, fue necesario descartar éste efecto por parte de las infusiones de propranolol sobre la CPFm, para lo cual se utilizó un protocolo de dependencia de estado, en la cual los mismos sujetos recibieron infusiones bajo el procedimiento ya descrito, 10 min antes de la adquisición y 10 min antes de la fase de evocación del protocolo del CAS.

### 8.1.4.1 RESULTADOS DEL EXPERIMENTO 4. DEPENDENCIA DE ESTADO

El ANOVA de medidas repetidas dos por tres, mostro diferencias entre los grupos control y propranolol (grupo dependencia de estado) ( $F_{(1,17)} = 14.7$ ;  $p < 0.05$ ), también diferencias a lo largo del tiempo ( $F_{(1,2)} = 71.76$ ;  $p < 0.0001$ ) e interacción entre el grupo y el tiempo ( $F_{(1,2)} = 9.65$ ;  $p < 0.001$ ); la prueba post hoc LSD de Fisher mostró que no hubieron diferencias significativas ni durante la línea base ni durante la fase de adquisición del CAS ( $p > 0.05$ ). Por otra parte, el día de prueba de memoria a largo plazo, el grupo propranolol mostró un consumo significativamente mayor de sacarina en comparación con el grupo control ( $p < 0.0001$ ) (Figura 25).

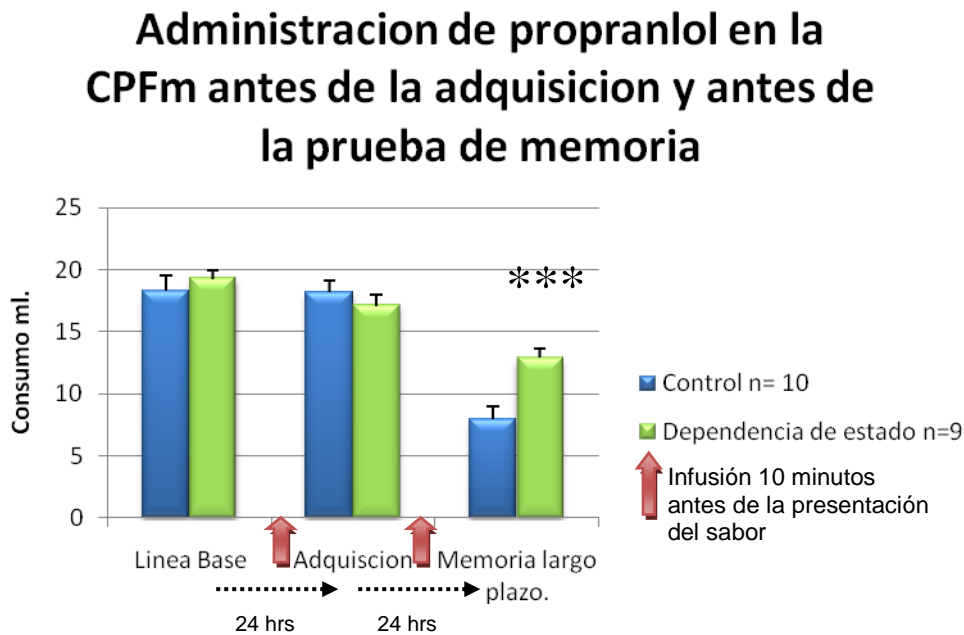


Figura 5. Experimento de dependencia de estado. Las flechas indican los momentos de las infusiones diez minutos antes de la adquisición y diez minutos antes de la prueba de memoria a largo plazo. Diferencia con el grupo control

\*\*\*  $p < 0.0001$ .

## **8.2 EFECTOS DE LA INFUSIÓN DE PROPRANOLOL EN LA INHIBICIÓN LATENTE DEL CAS**

### **8.2.1 EXPERIMENTO 5. INHIBICIÓN LATENTE DEL CAS**

Este experimento tuvo como finalidad el conocer los efectos de las infusiones de propranolol sobre la fase de pre-exposición en el modelo de inhibición latente del CAS.

Una vez establecida una línea base de consumo, los grupos se dividieron de manera aleatoria en cuatro grupos y se realizó la fase de pre-exposición de inhibición latente (octavo día), la cual consistió en la infusión de propranolol (grupos propranolol-control n=12 y propranolol IL n=17) o solución salina (grupos Control CAS n=11, Control IL n=13), previa a la pre-exposición del sacarina al 0.1% para los grupos Control IL y IL propranolol, o agua a los grupos Control CAS y propranolol-control. Al siguiente día, (Adquisición) todos los grupos bebieron una solución de sacarina al 0.1%, durante 20 minutos, 30 minutos posteriores a la ingesta, los animales fueron inyectados i.p. con cloruro de litio (LiCl) (0.25 mMol, 1 g/100 ml). A una dosis de 9.5 ml/Kg, (0.75% del peso corporal). Veinticuatro horas después se les sometió a la prueba de memoria de aversión, presentándoles de nuevo la solución de sacarina. La cantidad de ingesta durante este día reveló la intensidad de aversión así como el grado de inhibición latente, en los grupos pre-expuestos a la sacarina (Figura 26).

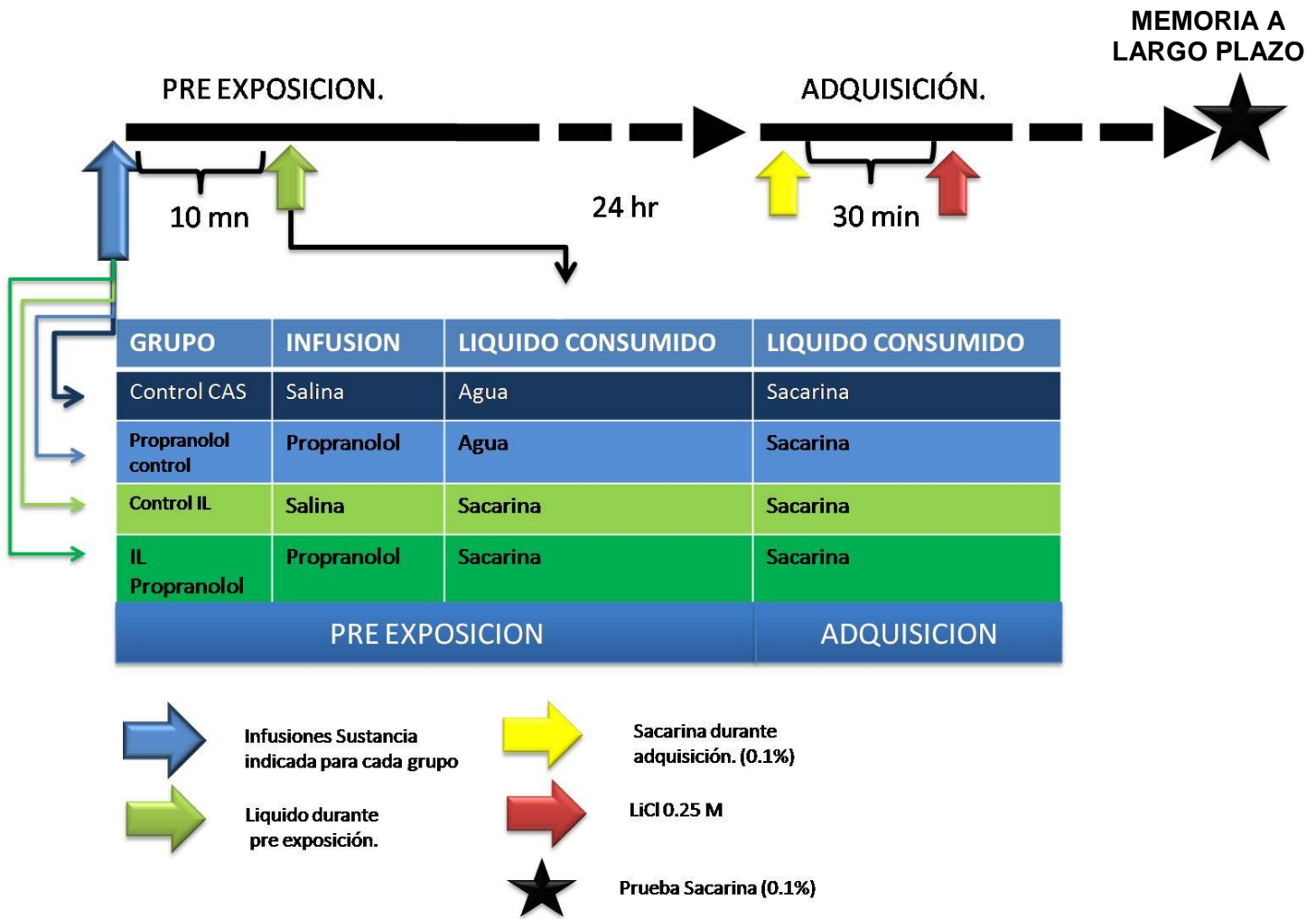


Figura 6. Inhibición latente del CAS. Se muestra un diagrama del protocolo seguido durante el experimento 5 en las fases de pre exposición, adquisición y prueba de memoria.

### 8.2.1.1 RESULTADOS DEL EXPERIMENTO 5

El ANOVA de medidas repetidas muestra que existen diferencias significativas entre los diferentes grupos ( $F_{(3, 49)} = 6.88$ ;  $p < 0.001$ ), también existen diferencias de los sujetos a lo largo de cada una de las fases del protocolo ( $F_{(3, 4)} = 64.43$ ;  $p < 0.0001$ ), e interacción entre los grupos y el tiempo (fases del protocolo) ( $F_{(3, 4)} = 3.6$ ;  $p < 0.0001$ )

Al realizar el ANOVA factorial de una vía para cada una de las fases del protocolo, se encontró que los consumos de los grupos son similares durante la línea base ( $p > 0.05$ ); por otra parte las infusiones de propranolol en la CPFm antes de la fase de pre-exposición carece de efectos sobre el posterior consumo de agua o sacarina durante esta fase ( $p > 0.05$ ) (Figura 27)

El análisis de ANOVA factorial de una vía de los consumos durante la adquisición, mostró diferencias significativas entre los grupos ( $F_{(3, 49)} = 4.153$ ;  $p < 0.05$ ), y al realizar la prueba post hoc LSD de Fisher, se encontraron diferencias significativas entre el grupo control CAS y los grupos pre-expuestos a sacarina, control IL ( $p < 0.01$ ) y propranolol IL ( $p < 0.01$ ). También se encontraron diferencias entre el grupo control propranolol y el grupo control IL ( $p < 0.05$ )

Durante la prueba de memoria a largo plazo, la ANOVA factorial de una vía mostró diferencias significativas entre los grupos ( $F_{(3, 49)} = 14.186$ ;  $p < 0.0001$ ); y al realizar LSD de Fisher se encontraron diferencias significativas entre el grupo control IL y el control CAS ( $p < 0.0001$ ) y control propranolol ( $p < 0.005$ ); también hubieron diferencias significativas entre el grupo propranolol IL y los grupos control CAS y control propranolol ( $p < 0.0001$ ).

El análisis estadístico de la fase de extinción, mostró que existen diferencias significativas entre los grupos ( $F_{(3, 49)} = 4.711$ ;  $p < 0.01$ ). Al realizar prueba de Fisher se encontraron diferencias significativas entre el grupo control CAS con respecto al resto de los grupos, control propranolol ( $p < 0.05$ ), control IL ( $p < 0.01$ ) y el grupo propranolol IL ( $p < 0.001$ ) (Figura 28).



## Infusiones de propranolol en CPFm Protocolo IL del CAS.

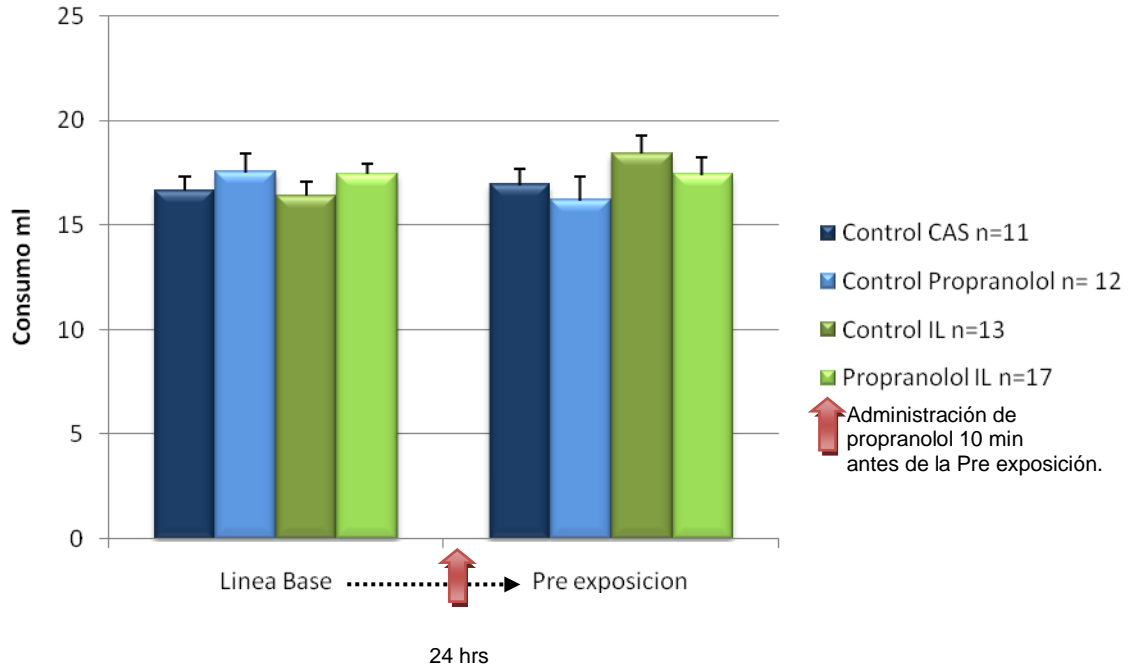


Figura 7. Consumos durante la IL del CAS. La flecha indica el momento de las infusiones.

## Infusiones de propranolol en CPFm Protocolo IL del CAS.

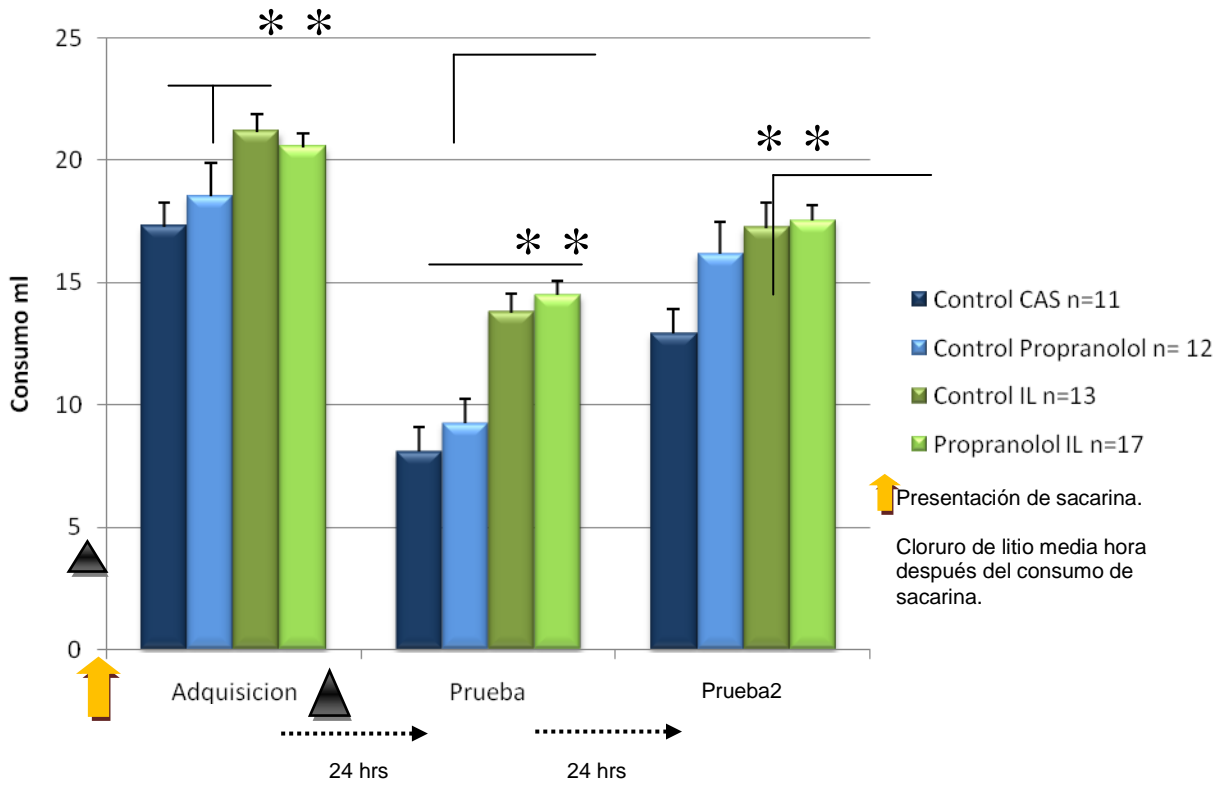


Figura 8 . Efecto del propranolol en CPFm en la IL del CAS durante la adquisición, la prueba de memoria a largo plazo y la extinción. El triángulo indica el momento de la aplicación de LiCl el cual fue 30 minutos después de la presentación de sacarina (flecha) durante la fase de adquisición.

## 9 DISCUSIÓN

El reconocimiento del sabor, es un aspecto de la conducta alimenticia de enorme importancia para la supervivencia de los sujetos (Burés 1998); hecho que es verificable en el potencial efecto negativo, resultado de la ausencia de este reconocimiento por ej. La presencia de intoxicación, enfermedad, o hasta la muerte del sujeto. En este sentido, es sobresaliente la complejidad de los mecanismos involucrados en el procesamiento de información gustativa, ya que tanto estructuras subcorticales (por ej. NTS, amígdala, tálamo), como estructuras corticales (por ej. corteza insular), tienen una función relevante en el procesamiento de la información gustativa (Burés 1998, Sakai and Yamamoto, 1999, Sakai and Imada, 2003, Yamamoto, 2006). Asimismo, otra de las estructuras que se sabe está relacionada, al menos en parte, con el procesamiento de información gustativa es la corteza prefrontal medial (Hernadi et al., 2000, Fresquet et al., 2003, Karadi et al., 2005, Akirav et al., 2006, Yamamoto, 2007). Los estudios sobre el papel funcional de la CPFm en la memoria del sabor se han enfocado casi exclusivamente en el proceso de extinción del CAS, y han abordado el problema mediante la inducción de lesiones tanto mecánicas (Fresquet et al., 2003), como citotóxicas (Hernadi et al., 2000), con una menor atención a los mecanismos subyacentes (por ej. mecanismos moleculares o genéticos) en el papel que juega la CPFm en el CAS. Por ejemplo, Mickley y su grupo, demostraron un aumento en la expresión de C-fos en CPFm durante la extinción del CAS (Mickley et al., 2005). Otro caso es el de Akirav y su grupo, quienes demostraron la necesidad de síntesis de proteínas en CPFm durante la extinción del CAS y que los procesos de extinción son independientes del funcionamiento de receptores NMDA (Akirav et al., 2006).

Por otra parte, existe suficiente evidencia científica del papel del sistema noradrenérgico en los procesos mnémicos (Cairncross et al., 1973, Mason and Iversen, 1975, Mason and Fibiger, 1979, Archer et al., 1983b, Davies et al., 1985, McGaugh and Cahill, 1997, Feenstra et al., 1999, McGaugh, 2000, LaLumiere et al., 2003), como la evitación inhibitoria (Quirarte et al., 1997, Quirarte et al., 1998) y el condicionamiento al miedo (Cahill and McGaugh, 1995, 1996a, b, McGaugh and Cahill, 1997, Feenstra et

al., 1999, Ferry and McGaugh, 2000, McGaugh, 2000, McGaugh and Izquierdo, 2000, Miranda et al., 2003), así como el procesamiento de información gustativa, estudiado a través de modelos como el CAS, preferencia del sabor o extinción del CAS (Mohammed et al., 1984, Archer et al., 1986, Miranda et al., 2003, Miranda et al., 2008). La participación del sistema noradrenérgico durante la memoria del sabor ha sido demostrada en estructuras como la amígdala (Bahar et al., 2003, Miranda et al., 2003) y la corteza insular (Miranda et al., 2008). Las evidencias hasta ahora apoyan la idea de que el sistema noradrenérgico también tiene una función importante en el procesamiento de la información gustativa en la CPFm, esto fue demostrado por el grupo de Kobayashi en ratones *knockout* a la tiroxina hidroxilasa<sup>1</sup>, en los cuales los niveles de NA están disminuidos en muchas áreas cerebrales, y como consecuencia no se logra la formación de condicionamiento de aversión a los sabores (Kobayashi and Kobayashi, 2001). Este aprendizaje se restituye cuando se aplica, desiperamina, un fármaco que induce la estimulación de actividad noradrenérgica. Ahora bien, si consideramos el hecho de que se ha demostrado la existencia de receptores  $\beta$ -adrenérgicos en la CPFm (Rainbow et al., 1984, Kalaria et al., 1989, Carr et al., 2007), así como también proyecciones directas desde el LC a CPFm (Swanson and Hartman, 1975, Morrison et al., 1979, 1981, Kawahara et al., 2000, Pudovkina et al., 2001), con la subsecuente liberación de NA en esta corteza cuando se estimula el LC (Jodo and Aston-Jones, 1997, Kawahara et al., 2001) esto da sustento a la idea del papel funcional de la NA en CPFm a través de sus receptores  $\beta$ -adrenérgicos. Sin embargo, a pesar de la gran cantidad de información que involucra a la CPFm y al sistema noradrenérgico en el procesamiento de la memoria del sabor, no existe actualmente ningún estudio en el que se haya explorado el papel de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos de la CPFm en la fase de adquisición y evocación del CAS.

Sin embargo para lograr una mayor comprensión del papel funcional del sistema noradrenérgico en la CPFm y su relación con memorias del sabor, ya sea en el modelo del CAS o como aprendizaje incidental dentro del complejo fenómeno de la IL, se debe

---

<sup>1</sup> Enzima principal en la cascada de síntesis de catecoláminas.

considerar a cada uno de los subtipos de receptores adrenérgicos, tanto  $\alpha$ -adrenérgicos como  $\beta$ -adrenérgicos, de manera individual; esto es debido a que cada receptor presenta tanto características farmacocinéticas diferentes (Katzung, 2007, Ramos and Arnsten, 2007, Rang, 2008), así como distribución anatómica diferente, dado lo cual, su activación genera procesos moleculares diferentes, teniendo como resultado final una actividad estructural y orgánica diferente a través de las estructuras corticales o subcorticales (Ramos and Arnsten, 2007). Aun la afinidad de la NA es diferente para cada uno de los receptores, siendo en orden decreciente  $\alpha_2$ ,  $\alpha_1$ ,  $\beta$ -adrenérgicos (Katzung, 2007, Ramos and Arnsten, 2007). En cuanto a los mecanismos moleculares que se despliegan ante la activación de los diferentes receptores adrenérgicos, actualmente se conoce que tanto los receptores  $\alpha_1$  como  $\beta$ -adrenérgicos se activan ante situaciones de estrés (Birnbaum et al., 1999, Ramos and Arnsten, 2007), desencadenando cascadas moleculares ya sea por la vía del inositol trifosfato (IP3) en el caso de los receptores  $\alpha_1$  o bien incrementando los niveles de adenosin monofosfato cíclico (AMPc), como es el caso de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos (acoplados a proteínas Gs); por lo contrario la activación de receptores  $\alpha_2$  al estar acoplados a proteínas Gi disminuye los niveles de AMPc (Ramos and Arnsten, 2007). El resultado conductual de esta diferente gama de activaciones y cascadas de señalización desplegadas, se ve reflejado en la ejecución de diferentes tareas dependientes de la CPF; en ese sentido se conoce que la activación de receptores  $\alpha_1$ , mejora la ejecución de tareas relacionadas con memoria de trabajo y atención (Carr et al., 2007, Ramos and Arnsten, 2007, Wang et al., 2007), mientras que para los procesos de consolidación de la memoria a largo plazo, bajo condiciones de estrés, tanto en roedores como en otras especies como aves, se requiere de la participación de los receptores  $\alpha_1$  y  $\beta$ -adrenérgicos (Gibbs and Summers, 2003, Tronel et al., 2004). De esta forma la actividad de la CPF estaría siendo regulada de manera distinta en condiciones basales, con un aumento en la actividad de los receptores  $\alpha_2$ , mientras que bajo condiciones de estrés y en los procesos de consolidación de memorias aversivas, los niveles de NA aumentan en comparación a condiciones basales y esto genera una reducción en la actividad de la CPF mediada por la activación de los receptores  $\alpha_1$  y  $\beta$ -adrenérgicos principalmente (Gibbs and Summers, 2003, Ramos and Arnsten, 2007).

Un dato importante es el hecho de que el funcionamiento de la CPF parece disminuir bajo condiciones de estrés, esto puede ser debido a que las condiciones neuroquímicas adecuadas para su funcionamiento pueden ser diferentes de otras áreas y estructuras corticales y subcorticales, de esta manera bajo una liberación basal de NA se activarían principalmente los receptores  $\alpha$ 2-adrenergicos en la CPF, lo cual se traduce en actividad de esta corteza, mientras que en otras estructuras diferentes esta liberación basal no implicaría un aumento de actividad en las mismas. Por otra parte ante un aumento en la liberación de NA en la CPF bajo condiciones de estrés, habría una mayor activación de receptores  $\alpha$ 1 y  $\beta$ -adrenérgicos, lo cual generaría una reducción en la actividad de esta corteza, pero con aumento de actividad en estructuras como amígdala (Quirarte et al., 1997), hipocampo, corteza sensorimotora, facilitando tareas y procesos dependientes de estas estructuras (Ramos and Arnsten, 2007). De esta manera ante situaciones de aprendizaje relacionado con estrés o alto contenido emotivo, lo cual puede tener un alto valor en situaciones de supervivencia, en donde se frenarían procesos relacionados con la reflexión y toma de decisiones o selección de opciones (funciones propias de la CPF), para dar un mayor peso a conductas instintivas o habituales (funciones que están relacionadas con la actividad de estructuras subcorticales como amígdala o hipocampo) (Ramos and Arnsten, 2007)

Es necesario recordar que el propranolol (fármaco utilizado en los experimentos presentados en esta tesis) es el prototipo de un antagonista de receptores  $\beta$ -adrenérgicos, el cual presenta igual afinidad para los receptores  $\beta$ 1 y  $\beta$ 2 (Katzung, 2007, Rang, 2008), siendo los primeros los que presentan una mayor expresión en la corteza de la rata (Ramos and Arnsten, 2007), sin embargo este fármaco carece de acción alguna sobre los receptores  $\alpha$ -adrenérgicos (Katzung, 2007, Rang, 2008), los cuales se ha demostrado son requeridos para un adecuado aprendizaje de diferentes tareas como la evitación inhibitoria, donde se ha demostrado que los receptores  $\alpha$ 1-adrenergicos juegan un papel en la regulación de la formación del aprendizaje y memoria de este paradigma. (Ferry and McGaugh, 2008)

De tal manera, que en este trabajo se enfocó en el papel de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos, intentando aportar un estudio más completo sobre la función de estos receptores en la memoria gustativa. Los presentes resultados muestran que la inactivación temporal de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos en la CPFm antes de la adquisición del CAS (protocolo INFadq), interrumpe su formación y/o consolidación, dato que concuerda con los resultados previos que han demostrado efectos similares en otras estructuras que tienen un papel preponderante en el procesamiento de la información gustativa, y que son necesarias para la adecuada formación del CAS, tal es el caso de la amígdala (Bahar et al., 2003, Miranda et al., 2008) o la corteza insular (Miranda et al., 2008), y que a su vez comparten conexiones bilaterales con la CPFm, hecho que permite establecer a la CPFm como parte del circuito que subyace a la integración y procesamiento de la información gustativa.

Nuestros datos aportan información del efecto del propranolol y por lo tanto de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos, durante la evocación de la memoria de aversión del sabor a largo plazo (protocolo INFev), demostrando que es necesaria la integridad de los receptores beta-adrenérgicos para una adecuada adquisición, mas no para la evocación del CAS.

Una posible explicación de los datos obtenidos en los experimentos iniciales de este trabajo, es que el propranolol estuviera afectando procesos perceptuales. Sin embargo, la prueba de percepción del sabor, donde las infusiones de propranolol no impiden percibir y por lo tanto rechazar un sabor amargo (Figura 24), que presenta una aversión innata, nos permite concluir que los efectos observados en las pruebas de memoria, son resultado del efecto de la inactivación de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos por el propranolol, sobre procesos mnémicos. También podemos descartar el hecho de que el propranolol provoque un efecto dependiente de estado, ya que los sujetos que recibieron infusiones antes de la fase de adquisición y la fase de evocación, presentaron un bloqueo en la formación y expresión del CAS, al igual que los sujetos de los experimentos 1 (INFadq), los cuales recibieron infusiones de propranolol antes de la fase de adquisición del CAS (Figura 25). En lo que respecta a la inhibición latente, hay diferentes estudios que relacionan a la CPF con este modelo de aprendizaje

incidental (Ellenbroek et al., 1996, Weiner and Feldon, 1997, Perlstein et al., 2001, Perlstein et al., 2003, Erberk Ozen and Rezaki, 2007). Por ejemplo, se ha reportado que tanto en sujetos humanos y animales, cuando hay alteraciones de la CPF se ve alterada la expresión de la IL. En este sentido se sabe que en humanos con alteraciones patológicas de la CPF, como es el caso de trastornos psicóticos incluyendo la esquizofrenia, se han asociado también con alteraciones de aprendizaje y memoria (Erberk Ozen and Rezaki, 2007); estas alteraciones en la CPF se han correlacionado con bloqueos en la expresión de la IL (Moser et al., 2000). De igual forma hay datos que demuestran modificaciones en la expresión de la IL en animales y humanos, cuando se hacen manipulaciones del sistema dopaminérgico en la CPF (Dunn, 1988, Weiner, 1990, Ellenbroek et al., 1996, Schmajuk et al., 1998, Steketee, 2003, Weiner, 2003, Schmajuk et al., 2005). Sin embargo, algunos grupos reportan ausencia de efectos bajo manipulaciones similares (Ellenbroek et al 1996). Al enfocarnos en el sistema noradrenérgico y su relación con IL, las evidencias obtenidas mediante microdiálisis (Gresch et al., 1995, Kawahara et al., 2001) demuestran la existencia de una correlación entre los niveles de NA en CPFm y los niveles de dopamina en esta misma corteza, indicando que el aumento de NA en la CPFm, ya sea por estimulación del LC (Kawahara et al., 2000, 2001) o bien por el uso de antagonistas de la recaptura de NA (Gresch et al., 1995), genera un aumento en los niveles de dopamina en la CPFm ipsilateral a la manipulación, con lo cual se puede inferir que, al menos en cierto nivel, la IL puede estar modulado por el sistema noradrenérgico en la CPFm. Desafortunadamente, hasta la fecha no hay evidencias en las que se haya explorado esta posibilidad. En nuestros resultados se muestra que las infusiones de propranolol en CPFm durante la pre-exposición en el modelo de IL del CAS, no afectan la adquisición de memorias incidentales, ya que los grupos pre-expuestos a sacarina (tanto los que recibieron infusión de propranolol como los grupos control de inhibición latente), muestran un mayor consumo de sacarina el día de adquisición del CAS, en comparación con los grupos que no fueron pre-expuestos a la sacarina que no muestran esta respuesta apetitiva (control CAS y propranolol control) reflejo de una memoria apetitiva para la sacarina durante la segunda exposición a este sabor (fase de adquisición). Asimismo nuestros resultados demuestran que el propranolol no produce



cambios en la adquisición y/o consolidación de la inhibición latente del CAS, ya que ambos grupos pre-expuestos (grupos infundidos con salina o propranolol) presentan niveles semejantes de consumo durante la prueba de memoria; De acuerdo a estos datos, el bloqueo de receptores  $\beta$ -adrenérgicos a la dosis utilizada en la CPFm, carece de efecto sobre el aprendizaje incidental y la IL. Estos datos sugieren que la función de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos en la CPFm, en el procesamiento de información gustativa y de asociación de estímulos, es diferente a otras estructuras, como la amígdala en donde infusiones de propranolol bloquean tanto el aprendizaje incidental como la IL o bien en la CI donde el propranolol bloquea el aprendizaje incidental (Miranda et al., 2003, Miranda et al., 2008).

En conjunto, los resultados obtenidos a través de estos experimentos demuestran que los receptores  $\beta$ -adrenérgicos, en la CPFm son necesarios para el procesamiento de la memoria gustativa, también se puede inferir que estos receptores tienen una función diferente en los procesos de adquisición y/o consolidación y evocación de la memoria de aversión del sabor. Podemos inferir a partir de estos resultados, que el papel funcional de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos es diferente de acuerdo al tipo de aprendizaje, siendo necesarios al parecer durante la adquisición y/o consolidación de un aprendizaje asociativo de carácter aversivo como es el CAS, lo cual se puede relacionar con la necesidad de la activación de receptores  $\beta$ -adrenérgicos para la consolidación de memorias aversivas (Gibbs and Summers, 2003). Por otra parte, durante el aprendizaje incidental del sabor, los datos obtenidos en el protocolo de IL del CAS, demuestran que el bloqueo de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos (al menos con las dosis de propranolol utilizadas) juegan un papel diferente al observado en aprendizajes aversivos, puesto que no bloquean la adquisición y/o consolidación de la memoria incidental del sabor (por ej. durante la fase de pre-exposición). Al parecer las relaciones existentes entre el sistema noradrenérgico en la CPFm y la función de esta estructura durante la inhibición latente o aprendizajes incidentales, podrían requerir de una modulación más fina y/o específica para controlar los diferentes procesos que se dan durante la presentación de un estímulo no asociado a una consecuencia. Tomando como referencia los datos que apoyan una posible modulación noradrenérgica en la

liberación de dopamina (neurotransmisor que tiene mayor relación directa con el fenómeno de IL) en CPFm y considerando que lesiones del sistema noradrenérgico han afectado directamente mecanismos de la IL provocando su atenuación (Mason and Lin, 1980, Archer et al., 1983a, Lorden et al., 1983, Moser et al., 2000); así como datos que demuestran la co-localización de receptores  $\beta$ -adrenérgicos y receptores dopaminérgicos D2 en células de la CPF de la rata, (Montezinho et al., 2006), se puede inferir que posiblemente el propranolol estaría alterando los niveles de dopamina en la CPFm, sin embargo los resultados de este trabajo muestran que a la dosis utilizada de propranolol no afecta la IL del CAS, y posiblemente sería necesario utilizar dosis diferentes de propranolol para observar un efecto sobre la IL del CAS.

En función de las ideas presentadas en párrafos anteriores, el trabajo presentado en esta tesis, se centro en explorar de manera puntual y desde una perspectiva farmacológica, el papel de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos de la CPFm en el procesamiento de información gustativa en dos tipos de aprendizaje; siendo el aporte principal de este trabajo el demostrar que la integridad de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos tienen una participación funcional diferente dependiendo del tipo de aprendizaje que experimente el sujeto. De esta forma la integridad de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos es necesaria para que se lleve a cabo una adecuada fase de adquisición y o consolidación del CAS, lo cual se ve reflejado tanto en la prueba de memoria a corto plazo, como en la prueba de memoria a largo plazo. Por otra parte, los resultados muestran que en el caso del aprendizaje gustativo incidental, donde no existe una asociación aversiva entre estímulos, así como en la IL del CAS, el peso funcional de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos es menor, dado que el bloqueo de estos receptores no afecta la formación y expresión del aprendizaje incidental, ni de la IL del CAS.

## 10 CONCLUSIONES

La actividad de los receptores  $\beta$  adrenérgicos en la CPFm es necesaria para la adquisición y/o consolidación del condicionamiento de aversión al sabor pero no para la evocación ni la percepción del sabor.

El bloqueo de receptores  $\beta$  adrenérgicos en la CPFm no afecta la adquisición del aprendizaje incidental ni la formación y/o expresión de la inhibición latente del condicionamiento de aversión a los sabores.

El efecto sobre la memoria, del bloqueo de receptores  $\beta$  adrenérgicos en la CPFm con propranolol, no es un efecto dependiente de estado.

## 11 BIBLIOGRAFIA

- Akirav I, Khatsrinov V, Vouimba RM, Merhav M, Ferreira G, et al. 2006. Extinction of conditioned taste aversion depends on functional protein synthesis but not on NMDA receptor activation in the ventromedial prefrontal cortex. *Learn Mem* 13:254-8
- Allen GV, Saper CB, Hurley KM, Cechetto DF. 1991. Organization of visceral and limbic connections in the insular cortex of the rat. *J Comp Neurol* 311:1-16
- Archer T, Callenholm NE, Jarbe TU, Minor BG, Mohammed AK. 1986. Taste/tactile cue discriminations in taste-aversion learning following depletion of noradrenaline. *Scand J Psychol* 27:39-51
- Archer T, Mohammed AK, Jarbe TU. 1983. Latent inhibition following systemic DSP4: effects due to presence and absence of contextual cues in taste-aversion learning. *Behav Neural Biol* 38:287-306
- Archer T, Mohammed AK, Ross SB, Soderberg U. 1983. T-maze learning, spontaneous activity and food intake recovery following systemic administration of the noradrenaline neurotoxin, DSP4. *Pharmacol Biochem Behav* 19:121-30
- Bahar A, Samuel A, Hazvi S, Dudai Y. 2003. The amygdalar circuit that acquires taste aversion memory differs from the circuit that extinguishes it. *Eur J Neurosci* 17:1527-30
- Birnbaum S, Gobecke KT, Auerbach J, Taylor JR, Arnsten AF. 1999. A role for norepinephrine in stress-induced cognitive deficits: alpha-1-adrenoceptor mediation in the prefrontal cortex. *Biol Psychiatry* 46:1266-74
- Bower GH. 1981. Mood and memory. *Am Psychol* 36:129-48
- Burés FB-R, Takashi Yamamoto. 1998. *Conditioned Taste Aversion: Memory of a Special Kind*.
- Cahill L, McGaugh JL. 1995. A novel demonstration of enhanced memory associated with emotional arousal. *Conscious Cogn* 4:410-21
- Cahill L, McGaugh JL. 1996a. Modulation of memory storage. *Curr Opin Neurobiol* 6:237-42
- Cahill L, McGaugh JL. 1996b. The neurobiology of memory for emotional events: adrenergic activation and the amygdala. *Proc West Pharmacol Soc* 39:81-4
- Cairncross KD, Schofield S, King HG. 1973. The implication of noradrenaline in avoidance learning in the rat. *Prog Brain Res* 39:481-5
- Carpenter MB. 1998. *Neuroanatomía: Fundamentos*. Madrid: Editorial Médica Panamericana.
- Carr DB, Andrews GD, Glen WB, Lavin A. 2007. alpha2-Noradrenergic receptors activation enhances excitability and synaptic integration in rat prefrontal cortex pyramidal neurons via inhibition of HCN currents. *J Physiol* 584:437-50
- Davies DC, Horn G, McCabe BJ. 1985. Noradrenaline and learning: effects of the noradrenergic neurotoxin DSP4 on imprinting in the domestic chick. *Behav Neurosci* 99:652-60
- Dudai Y. 1989. *The neurobiology of memory. Concepts, findings, trends.*: Oxford university press.
- Dudai Y. 2002. *Memory from A to Z*. New York: Oxford university press.
- Dunn AJ. 1988. Stress-related activation of cerebral dopaminergic systems. *Ann N Y Acad Sci* 537:188-205
- Ellenbroek BA, Budde S, Cools AR. 1996. Prepulse inhibition and latent inhibition: the role of dopamine in the medial prefrontal cortex. *Neuroscience* 75:535-42

- Erberk Ozen N, Rezaki M. 2007. [Prefrontal cortex: implications for memory functions and dementia]. *Turk Psikiyatri Derg* 18:262-9
- Feenstra MG, Teske G, Botterblom MH, De Bruin JP. 1999. Dopamine and noradrenaline release in the prefrontal cortex of rats during classical aversive and appetitive conditioning to a contextual stimulus: interference by novelty effects. *Neurosci Lett* 272:179-82
- Ferry B, McGaugh JL. 2000. Role of amygdala norepinephrine in mediating stress hormone regulation of memory storage. *Acta Pharmacol Sin* 21:481-93
- Ferry B, McGaugh JL. 2008. Involvement of basolateral amygdala alpha2-adrenoceptors in modulating consolidation of inhibitory avoidance memory. *Learn Mem* 15:238-43
- Fresquet N, Yamamoto J, Sandner G. 2003. Frontal lesions do not alter the differential extinction of taste aversion conditioning in rats, when using two methods of sucrose delivery. *Behav Brain Res* 141:25-34
- Gabbott PL, Warner TA, Jays PR, Bacon SJ. 2003. Areal and synaptic interconnectivity of prelimbic (area 32), infralimbic (area 25) and insular cortices in the rat. *Brain Res* 993:59-71
- Gal G, Schiller D, Weiner I. 2005. Latent inhibition is disrupted by nucleus accumbens shell lesion but is abnormally persistent following entire nucleus accumbens lesion: The neural site controlling the expression and disruption of the stimulus preexposure effect. *Behav Brain Res* 162:246-55
- Gibbs ME, Summers RJ. 2003. Alpha 2-adrenoceptors in the basal ganglia have a role in memory consolidation and reinforcement. *Neuropharmacology* 45:355-67
- Gray NS, Snowden RJ. 2005. The relevance of irrelevance to schizophrenia. *Neurosci Biobehav Rev* 29:989-99
- Gresch PJ, Sved AF, Zigmond MJ, Finlay JM. 1995. Local influence of endogenous norepinephrine on extracellular dopamine in rat medial prefrontal cortex. *J Neurochem* 65:111-6
- Heidbreder CA, Groenewegen HJ. 2003. The medial prefrontal cortex in the rat: evidence for a dorso-ventral distinction based upon functional and anatomical characteristics. *Neurosci Biobehav Rev* 27:555-79
- Hernadi I, Karadi Z, Vigh J, Petyko Z, Egyed R, et al. 2000. Alterations of conditioned taste aversion after microiontophoretically applied neurotoxins in the medial prefrontal cortex of the rat. *Brain Res Bull* 53:751-8
- Hoover WB, Vertes RP. 2007. Anatomical analysis of afferent projections to the medial prefrontal cortex in the rat. *Brain Struct Funct* 212:149-79
- ILAR. 1996. *Guide for the care and use of laboratory animals*. Washington, D.C. : National Academy.
- Jodo E, Aston-Jones G. 1997. Activation of locus coeruleus by prefrontal cortex is mediated by excitatory amino acid inputs. *Brain Res* 768:327-32
- Kalaria RN, Andorn AC, Tabaton M, Whitehouse PJ, Harik SI, Unnerstall JR. 1989. Adrenergic receptors in aging and Alzheimer's disease: increased beta 2-receptors in prefrontal cortex and hippocampus. *J Neurochem* 53:1772-81
- Karadi Z, Lukats B, Papp S, Szalay C, Egyed R, et al. 2005. Involvement of forebrain glucose-monitoring neurons in taste information processing: electrophysiological and behavioral studies. *Chem Senses* 30 Suppl 1:i168-9
- Katzung. 2007. *Farmacología básica y clínica*. México: Manual Moderno.
- Kawahara H, Kawahara Y, Westerink BH. 2000. The role of afferents to the locus coeruleus in the handling stress-induced increase in the release of noradrenaline

- in the medial prefrontal cortex: a dual-probe microdialysis study in the rat brain. *Eur J Pharmacol* 387:279-86
- Kawahara H, Kawahara Y, Westerink BH. 2001. The noradrenaline-dopamine interaction in the rat medial prefrontal cortex studied by multi-probe microdialysis. *Eur J Pharmacol* 418:177-86
- Kilts CD. 2001. The changing roles and targets for animal models of schizophrenia. *Biol Psychiatry* 50:845-55
- Kobayashi K, Kobayashi T. 2001. Genetic evidence for noradrenergic control of long-term memory consolidation. *Brain Dev* 23 Suppl 1:S16-23
- Kuhar MJ, McGirr KM, Hunter RG, Lambert PD, Garrett BE, Carroll FI. 1999. Studies of selected phenyltropanes at monoamine transporters. *Drug Alcohol Depend* 56:9-15
- LaLumiere RT, Buen TV, McGaugh JL. 2003. Post-training intra-basolateral amygdala infusions of norepinephrine enhance consolidation of memory for contextual fear conditioning. *J Neurosci* 23:6754-8
- Lorden JF, Rickert EJ, Berry DW. 1983. Forebrain monoamines and associative learning: I. Latent inhibition and conditioned inhibition. *Behav Brain Res* 9:181-99
- Lubow RE. 1989. *Latent Inhibition and Conditioned Attention Theory*. New York.
- Lubow RE. 1997. Latent inhibition as a measure of learned inattention: some problems and solutions. *Behav Brain Res* 88:75-83
- Lubow RE. 2005. Construct validity of the animal latent inhibition model of selective attention deficits in schizophrenia. *Schizophr Bull* 31:139-53
- Lubow RE, Gewirtz JC. 1995. Latent inhibition in humans: data, theory, and implications for schizophrenia. *Psychol Bull* 117:87-103
- Luquin MR. 2000. [Experimental models, of Parkinson disease]. *Rev Neurol* 31:60-6
- Mantz J, Milla C, Glowinski J, Thierry AM. 1988. Differential effects of ascending neurons containing dopamine and noradrenaline in the control of spontaneous activity and of evoked responses in the rat prefrontal cortex. *Neuroscience* 27:517-26
- Mason ST, Fibiger HC. 1979. Noradrenaline and avoidance learning in the rat. *Brain Res* 161:321-33
- Mason ST, Iversen SD. 1975. Learning in the absence of forebrain noradrenaline. *Nature* 258:422-4
- Mason ST, Lin D. 1980. Dorsal noradrenergic bundle and selective attention in the rat. *J Comp Physiol Psychol* 94:819-32
- McEvoy JP. 2007. The costs of schizophrenia. *J Clin Psychiatry* 68 Suppl 14:4-7
- McGaugh. 1969. *Learning and Memory*. San Francisco.: World Scientific.
- McGaugh JL. 2000. Memory--a century of consolidation. *Science* 287:248-51
- McGaugh JL, Cahill L. 1997. Interaction of neuromodulatory systems in modulating memory storage. *Behav Brain Res* 83:31-8
- McGaugh JL, Izquierdo I. 2000. The contribution of pharmacology to research on the mechanisms of memory formation. *Trends Pharmacol Sci* 21:208-10
- Mickley GA, Kenmuir CL, Yocom AM, Wellman JA, Biada JM. 2005. A role for prefrontal cortex in the extinction of a conditioned taste aversion. *Brain Res* 1051:176-82
- Miranda MI, LaLumiere RT, Buen TV, Bermudez-Rattoni F, McGaugh JL. 2003. Blockade of noradrenergic receptors in the basolateral amygdala impairs taste memory. *Eur J Neurosci* 18:2605-10

- Miranda MI, Rodriguez-Garcia G, Reyes-Lopez JV, Ferry B, Ferreira G. 2008. Differential effects of beta-adrenergic receptor blockade in basolateral amygdala or insular cortex on incidental and associative taste learning. *Neurobiol Learn Mem* 90:54-61
- Mohammed AK, Archer T, Jarbe TU. 1984. Noradrenaline loss and the disruption of between-CS stimulus generalisation effects in aversion learning. *Scand J Psychol* 25:79-88
- Montezinho LP, Castro MM, Duarte CB, Penschuck S, Geraldles CF, Mork A. 2006. The interaction between dopamine D2-like and beta-adrenergic receptors in the prefrontal cortex is altered by mood-stabilizing agents. *J Neurochem* 96:1336-48
- Morgan MA, LeDoux JE. 1995. Differential contribution of dorsal and ventral medial prefrontal cortex to the acquisition and extinction of conditioned fear in rats. *Behav Neurosci* 109:681-8
- Morrison JH, Grzanna R, Molliver ME, Coyle JT. 1978. The distribution and orientation of noradrenergic fibers in neocortex of the rat: an immunofluorescence study. *J Comp Neurol* 181:17-39
- Morrison JH, Molliver ME, Grzanna R, Coyle JT. 1979. Noradrenergic innervation patterns in three regions of medial cortex: an immunofluorescence characterization. *Brain Res Bull* 4:849-57
- Morrison JH, Molliver ME, Grzanna R, Coyle JT. 1981. The intra-cortical trajectory of the coeruleo-cortical projection in the rat: a tangentially organized cortical afferent. *Neuroscience* 6:139-58
- Moser PC, Hitchcock JM, Lister S, Moran PM. 2000. The pharmacology of latent inhibition as an animal model of schizophrenia. *Brain Res Brain Res Rev* 33:275-307
- Neafsey EJ. 1990. Prefrontal cortical control of the autonomic nervous system: anatomical and physiological observations. *Prog Brain Res* 85:147-65; discussion 65-6
- Oliver von Bohlen und Halbach PDRD. 2003. Neuromodulators. In *Neurotransmitters and Neuromodulators*, pp. 116-271
- Ongur D, Price JL. 2000. The organization of networks within the orbital and medial prefrontal cortex of rats, monkeys and humans. *Cereb Cortex* 10:206-19
- Paxinos G. 1998. *The rat brain in stereotaxic coordinates*.
- Perlstein WM, Carter CS, Noll DC, Cohen JD. 2001. Relation of prefrontal cortex dysfunction to working memory and symptoms in schizophrenia. *Am J Psychiatry* 158:1105-13
- Perlstein WM, Dixit NK, Carter CS, Noll DC, Cohen JD. 2003. Prefrontal cortex dysfunction mediates deficits in working memory and prepotent responding in schizophrenia. *Biol Psychiatry* 53:25-38
- Prado AR. 2001. *Memoria, donde reside y como se forma*. México: Trillas.
- Pudovkina OL, Kawahara Y, de Vries J, Westerink BH. 2001. The release of noradrenaline in the locus coeruleus and prefrontal cortex studied with dual-probe microdialysis. *Brain Res* 906:38-45
- Quirarte GL, Galvez R, Roozendaal B, McGaugh JL. 1998. Norepinephrine release in the amygdala in response to footshock and opioid peptidergic drugs. *Brain Res* 808:134-40
- Quirarte GL, Roozendaal B, McGaugh JL. 1997. Glucocorticoid enhancement of memory storage involves noradrenergic activation in the basolateral amygdala. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94:14048-53

- Rainbow TC, Parsons B, Wolfe BB. 1984. Quantitative autoradiography of beta 1- and beta 2-adrenergic receptors in rat brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 81:1585-9
- Ramos BP, Arnsten AF. 2007. Adrenergic pharmacology and cognition: focus on the prefrontal cortex. *Pharmacol Ther* 113:523-36
- Rang HP. 2008. *Farmacología*. Madrid: Elsevier.
- Rezayat M, Niasari H, Ahmadi S, Parsaei L, Zarrindast M. 2009. N-methyl-D-aspartate receptors are involved in lithium-induced state-dependent learning in mice. *J Psychopharmacol*
- Robertson LT. 2002. Memory and the brain. *J Dent Educ* 66:30-42
- Ross CA. 2006. Neurobiology of Schizophrenia. *Neuron* 52:139-53
- Sakai N, Imada S. 2003. Bilateral lesions of the insular cortex or of the prefrontal cortex block the association between taste and odor in the rat. *Neurobiol Learn Mem* 80:24-31
- Sakai N, Yamamoto T. 1999. Possible routes of visceral information in the rat brain in formation of conditioned taste aversion. *Neurosci Res* 35:53-61
- Schafe GE, Sollars SI, Bernstein IL. 1995. The CS-US interval and taste aversion learning: a brief look. *Behav Neurosci* 109:799-802
- Schmajuk N. 2005. Brain-behaviour relationships in latent inhibition: a computational model. *Neurosci Biobehav Rev* 29:1001-20
- Schmajuk NA, Buhusi CV, Gray JA. 1998. Psychopharmacology of latent inhibition: a neural network approach. *Behav Pharmacol* 9:711-30
- Schmajuk NA, Gray JA, Larrauri JA. 2005. A pre-clinical study showing how dopaminergic drugs administered during pre-exposure can impair or facilitate latent inhibition. *Psychopharmacology (Berl)* 177:272-9
- Schul R, Slotnick BM, Dudai Y. 1996. Flavor and the frontal cortex. *Behav Neurosci* 110:760-5
- Snell RS. 2005. *Neuroanatomía clínica*. Madrid: Médica Panamericana.
- Squire LR. 1987. The organization and neural substrates of human memory. *Int J Neurol* 21-22:218-22
- Steketee JD. 2003. Neurotransmitter systems of the medial prefrontal cortex: potential role in sensitization to psychostimulants. *Brain Res Brain Res Rev* 41:203-28
- Sullivan RM, Gratton A. 2002. Behavioral effects of excitotoxic lesions of ventral medial prefrontal cortex in the rat are hemisphere-dependent. *Brain Res* 927:69-79
- Swanson LW, Hartman BK. 1975. The central adrenergic system. An immunofluorescence study of the location of cell bodies and their efferent connections in the rat utilizing dopamine-beta-hydroxylase as a marker. *J Comp Neurol* 163:467-505
- Sweatt JD. 2003. *Mechanisms of memory*. San Diego: Academic Press.
- Thierry AM, Godbout R, Mantz J, Pirot S, Glowinski J. 1992. Differential influence of dopaminergic and noradrenergic afferents on their target cells in the rat prefrontal cortex. *Clin Neuropharmacol* 15 Suppl 1 Pt A:139A-40A
- Tronel S, Feenstra MG, Sara SJ. 2004. Noradrenergic action in prefrontal cortex in the late stage of memory consolidation. *Learn Mem* 11:453-8
- Vanderwolf CH, Cain DP. 1994. The behavioral neurobiology of learning and memory: a conceptual reorientation. *Brain Res Brain Res Rev* 19:264-97
- Vertes RP. 2006. Interactions among the medial prefrontal cortex, hippocampus and midline thalamus in emotional and cognitive processing in the rat. *Neuroscience* 142:1-20



- Wang M, Ramos BP, Paspalas CD, Shu Y, Simen A, et al. 2007. Alpha2A-adrenoceptors strengthen working memory networks by inhibiting cAMP-HCN channel signaling in prefrontal cortex. *Cell* 129:397-410
- Weiner I. 1990. Neural substrates of latent inhibition: the switching model. *Psychol Bull* 108:442-61
- Weiner I. 2003. The "two-headed" latent inhibition model of schizophrenia: modeling positive and negative symptoms and their treatment. *Psychopharmacology (Berl)* 169:257-97
- Weiner I, Feldon J. 1997. The switching model of latent inhibition: an update of neural substrates. *Behav Brain Res* 88:11-25
- Westerink BH, Kawahara Y, De Boer P, Geels C, De Vries JB, et al. 2001. Antipsychotic drugs classified by their effects on the release of dopamine and noradrenaline in the prefrontal cortex and striatum. *Eur J Pharmacol* 412:127-38
- Yamamoto T. 2006. Neural substrates for the processing of cognitive and affective aspects of taste in the brain. *Arch Histol Cytol* 69:243-55
- Yamamoto T. 2007. Brain regions responsible for the expression of conditioned taste aversion in rats. *Chem Senses* 32:105-9
- Yasui Y, Breder CD, Saper CB, Cechetto DF. 1991. Autonomic responses and efferent pathways from the insular cortex in the rat. *J Comp Neurol* 303:355-74

## 12 LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Clasificación y sub clasificación de aprendizaje.	9
Figura 2. Relación entre el intervalo inter-estímulo y porcentaje de aversión del CAS	12
Figura 3. Vías aferentes gustativas en la rata;	19
Figura 4 . Citoarquitectura de la corteza prefrontal medial de la rata.	22
Figura 5 - Principales vías aferentes hacia las cortezas prelímbica (PL) e infralímbica (IL).	25
Figura 6. Principales proyecciones de las cortezas AIL y PL.	26
Figura 7 . Infusiones de propranolol ejercen un efecto diferente en la formación y extinción del CAS...	28
Figura 8 .Efectos de infusiones de propranolol en memorias gustativas.	29
Figura 9. Interacciones anatómicas entre la CPFm y la corteza insular.	31
Figura 10. Interacciones anatómicas entre la CPFm y la corteza insular. (A)	31
Figura 11. Estructuras relacionadas con el procesamiento de información gustativa.	32
Figura 12. Alteraciones en la conducta alimenticia por lesiones citotóxicas en corteza orbitofrontal de la rata.	32
Figura 13. Lesiones citotóxicas en CPFm.	34
Figura 14. La extinción del CAS es dependiente de la síntesis de proteínas en la CPFm.	35
Figura 15. Inmuno reactividad para c-Fos en la PL y la AIL ante la extinción del CAS.	36
Figura 16 Interacción entre CPFm y LC	38
Figura 17. La liberación de NA provocada por la estimulación del LC promueve la liberación de DA en la CPFm. (A).	39
Figura 18 . Procedimiento del CAS	46
Figura 19. Diagrama de la Inhibición latente del CAS.	48
Figura 20. Análisis histológico.	51
Figura 21. Diagrama de los experimentos 1 (INFAdq) y 2 ( INFev).	54
Figura 22 . Efecto de infusiones de propranolol en CPFm protocolo INFAdq.	56
Figura 23. Propranolol infundido antes de la prueba de memoria a largo plazo	58
Figura 24. Propranolol en la CPFm no altera el consumo de quinina	60
Figura 25. Experimento de dependencia de estado.	61
Figura 26. Inhibición latente del CAS.	63
Figura 27. Consumos durante la IL del CAS	65
Figura 28 . Efecto del propranolol en CPFm en la IL del CAS	66
Figura 29. Pruebas de memoria en función de criterios histológicos. * p< 0.05,	90

## 13 APENDICES

### 13.1 APENDICE 1. NORADRENALINA

Las catecoláminas constituyen una familia de neurotransmisores (dopamina, noradrenalina y adrenalina) las cuales derivan de una molécula en común (tirosina) y es por ello que comparten una estructura química casi idéntica la cual consiste en un anillo de benceno con dos grupos hidroxilo adyacentes y una cadena de etilamina. En 1921, Loewi dio evidencia de una sustancia llamada “*accelerance*”; en 1936 esta sustancia fue identificada como noradrenalina (NA) (sinónimo de norepinefrina). Desde que la NA (1 $\beta$ -3-4-dihidroxifenil- $\alpha$ -etanolamida) se conoce como precursor de la adrenalina, se pensó que la NA es un sustrato intermedio en la síntesis de adrenalina. En 1940 había suficiente evidencia de que la NA no es un mero producto intermedio y que juega un rol significativo como un neurotransmisor *per se*. En contraste con la epinefrina, la cual esta principalmente restringida al sistema periférico, la NA es un neurotransmisor prioritariamente del SNC (Oliver von Bohlen und Halbach, 2003)

En las neuronas noradrenérgicas, la dopamina es convertida en NA por una enzima llamada dopamina- $\beta$ -hidroxilasa. Esta enzima se encuentra de una forma abundante en neuronas noradrenérgicas y células cromafines (Oliver von Bohlen und Halbach, 2003)

#### 13.1.1 RECEPTORES NORADRENERGICOS

Cuando la NA es liberada de las terminaciones nerviosas, interactúa con receptores específicos, los cuales fueron asignados colectivamente como adrenoreptores. Los adrenoreptores se encuentran en la membrana plasmática de las neuronas del SNC y sistema nervioso periférico, también se encuentran en glándulas periféricas y células musculares llamadas también células efectoras. Los efectos generados por la NA dependen del tipo de receptor; actualmente se han descrito dos

tipos de receptores los  $\alpha$  y  $\beta$ , los cuales fueron descritos desde 1948 para explicar los diferentes tipos de efectos de la NA; a su vez los receptores  $\alpha$  han sido subdivididos en dos diferentes categorías. Los tres tipos de receptores tienen en común su acoplamiento a proteínas G y muestran una topología de siete dominios transmembranales. Cada tipo de receptor puede ser dividido a su vez en distintos subtipos (Oliver von Bohlen und Halbach, 2003). En la tabla 2 se muestran las principales características de los receptores adrenérgicos.

**TABLA 2**

Subfamilia	Acoplamiento a proteína G	Segundo mensajero.	Agonistas Selectivos	Antagonistas Selectivos	Subtipos.
$\alpha 1$	$G_q$	$Ca^{++}$	fenilefrina	prazosin	$\alpha 1_A$
			methoxamina	WB4101	$\alpha 1_B$
					$\alpha 1_D$
$\alpha 2$	$G_i$	cAMP	clonididina	rauwolscina	$\alpha 2_A$
			dexmedetomidina	yombina	$\alpha 2_B$
					$\alpha 2_C$
$\beta$	$G_s$	cAMP	isoproterenol	propranolol	$\beta 1$
			terbutalina	metoprolol	$\beta 2$
					$\beta 3$
		$Ca^{++}$			

Los adrenoreceptores en el SNC son activados por NA o por agonistas específicos y la señal de transducción involucra la estimulación de proteínas G. La secuencia de los siete dominios de membrana es altamente conservada entre las tres subfamilias de receptores. Hay disminución de la sensibilidad de los adrenoreceptores ante la presencia continua de un ligando, lo cual provoca una disminución en la respuesta del agonista a lo largo del tiempo. Los mecanismos involucrados en la

disminución de la sensibilidad incluyen una pérdida de acoplamiento de la proteína G y la remoción de receptores desde el plasma (también llamada internalización) este mecanismo detiene los efectos inducidos por el ligando y permite el reciclaje del receptor (Oliver von Bohlen und Halbach, 2003).

La distribución de los diferentes subtipos de adrenoreceptores no es homogénea en el cerebro y cada subtipo de receptor revela una localización característica. Por ejemplo en la corteza cerebral los adrenoreceptores del tipo  $\alpha$  y  $\beta$  están distribuidos de manera diferente entre las capas de la corteza. Estas diferencias topográficas en la distribución de los receptores puede ser un factor para la variabilidad local de las respuestas noradrenérgicas en la corteza cerebral (Oliver von Bohlen und Halbach, 2003).

### **13.1.2 RECEPTORES $\beta$ -ADRENÉRGICOS**

Originalmente se identificaron dos subtipos  $\beta$ 1 y  $\beta$ 2, En el cerebro existen ambos tipos los cuales no pueden ser diferenciados en términos de sus funciones fisiológicas; los receptores  $\beta$ 1 son expresados principalmente en las neuronas, mientras que los  $\beta$ 2 se encuentran en la glía y cerebelo (Kuhar, McGirr, Hunter, Lambert, Garrett, et al., 1999). En adición un tercer miembro de los receptores  $\beta$  fue identificado, el cual solamente muestra poca afinidad por NA o adrenalina, este receptor fue nombrado  $\beta$ 3. Los tres subtipos de receptores  $\beta$  están acoplados a proteínas  $G_s$ , lo cual lleva a la estimulación de la actividad de la adenilato ciclasa. (Oliver von Bohlen und Halbach, 2003).

### **13.1.3 LOCALIZACIÓN DE NA EN EL SNC**

Las células noradrenérgicas se concentran en el *locus coeruleus* y núcleo *subcoeruleus* (grupos A5, A6, y A7), así como algunas áreas de la formación reticular (grupo A1 y C1) y en el núcleo del tracto solitario (grupo A2 y C2) (Oliver von Bohlen und Halbach, 2003). El LC es fuente de difusión de proyecciones noradrenérgicas,

inervando la corteza cerebral, el hipocampo, la amígdala, el septum, el tálamo, el hipotálamo y la medula espinal. Núcleos relativamente pequeños constituyen la principal fuente de proyecciones noradrenérgicas en el CNS; sin embargo, estas neuronas presentan abundantes colaterales, con divergencia en varias áreas subcorticales. Algunas de las proyecciones del LC emergen bilateralmente (Oliver von Bohlen und Halbach, 2003). Aunque la divergencia de las proyecciones del LC es una característica dominante del sistema noradrenérgico, la organización topológica esta obviamente relacionada con la organización interna de este núcleo. La parte medial del LC proyecta a la corteza, mientras que las neuronas, que proyectan al hipocampo, son principalmente encontradas en las porciones más posteriores del LC (Oliver von Bohlen und Halbach, 2003).

Las neuronas noradrenérgicas de las áreas A1 y A2 se combinan hasta cierto punto con neuronas de los grupos C1 y C2 (las cuales son neuronas adrenérgicas) y sus puntos de terminación parecen estar localmente relacionados. Se ha encontrado que proyecciones de estas áreas terminan en el tracto intermedio-lateral de la medula espinal y en algunos núcleos del hipotálamo, En adición, algunas proyecciones de grupos neuronales de A1 y A2 terminan en la amígdala y el tálamo (Oliver von Bohlen und Halbach, 2003). Algunas neuronas noradrenérgicas co-expresan neuromoduladores. Por ejemplo en la rata, la co-localización de NA y neuropéptido (NPY) ha sido detectada en la mayoría de las neuronas noradrenérgicas de la formación reticular, de forma similar cerca del 20% de las neuronas del LC co-expresan NPY y NA. De la misma forma una gran fracción de neuronas del LC, aproximadamente el 70%, co-expresan NA con galanina (Oliver von Bohlen und Halbach, 2003).

## 13.2 APÉNDICE 2. LA INHIBICIÓN LATENTE COMO MODELO DE ESTUDIO DE ESQUIZOFRENIA.

La inhibición latente ha sido utilizada como modelo neuro-psicológico para evaluar una de las disfunciones más citadas en los pacientes con esquizofrenia: el déficit de atención selectiva, considerado como una falta de capacidad para ignorar estímulos irrelevantes (Gal, Schiller y Weiner, 2005).

El término esquizofrenia fue introducido originalmente por Bleuler en 1911, quien lo utilizó para remplazar el término *dementia praecox*, el cual describía un conjunto de síndromes como la hebefrenia y la catatonía, los cuales se creían tenían una base orgánica común (Moser, Hitchcock, Lister y Moran, 2000). La esquizofrenia es una enfermedad crónica que afecta aproximadamente al 1% de la población mundial. Los sujetos que padecen esta enfermedad representan una gran parte del gasto destinado a los servicios de salud mental, siendo calculado en 62.7 billones de dólares durante el 2001 en Estados Unidos (Kilts, 2001; McEvoy, 2007; Ross, 2006).

Estudios de neuroimagen como la resonancia magnética y la tomografía han permitido identificar regiones anatómicas con anomalías estructurales y funcionales que podrían estar implicadas en el desarrollo de esquizofrenia (Ellenbroek, Budde y Cools, 1996; Perlstein, Carter, Noll y Cohen, 2001; Ross, 2006) las cuales pueden presentar una hiperactividad o hipoactividad (Fresquet, Yamamoto y Sandner, 2003). Entre las estructuras que se han asociado a la esquizofrenia se encuentra la CPF (Fresquet et al., 2003; Ellenbroek, Budde, & Cools, 1996; Perlstein et al., 2001), mostrando una disminución de volumen en esta estructura en los pacientes que padecen dicha enfermedad (Ellenbroek, et al., 1996; Fresquet, et al., 2003). Estos cambios en la CPF se han asociado con una mayor severidad de la enfermedad y son considerados como un posible factor causal de la misma (Ellenbroek, et al., 1996). Estudios de pacientes con lesiones de CPF o esquizofrenia presentan una marcada dificultad para adaptarse a nuevas normas una vez que han sido adquiridos comportamientos previos, o de una forma más general, el cambio de comportamiento ante diversos contextos. Estos

mismos déficits se han reproducido en ratas que han sido lesionadas en CPF (Fresquet, et al, 2003), también se ha encontrado que los pacientes con esquizofrenia presentan dificultad en el rango de ejecución de funciones cognitivas y memoria de trabajo lo cual a su vez se ha asociado con alteraciones en la actividad de la CPF (Lubow, 2005; Perlstein, et al, 2003; Perlstein, Et al, 2001;). De acuerdo con diversos estudios tanto de comportamiento, como de neuroimagen (Perlstein, et al, 2003; Perlstein, Et al, 2001) y lesiones localizadas, se ha encontrado una asociación entre alteraciones de CPF, la memoria de trabajo, desorganización cognitiva, lo cual se refleja en una disminución de la atención y desorganización conceptual (pensamiento desorganizado) (Perlstein, Et al, 2001).

La alteración de los sistemas dopaminérgicos, glutamatérgicos y de neurotensina se han implicado en la fisiopatología y farmacoterapia de la esquizofrenia (Kilts, 2001).

El origen de los modelos de estudio basados en dopamina tiene su base en la demostración farmacológica de la exacerbación y disminución de síntomas con el uso de agonistas y antagonistas dopaminérgicos, respectivamente (Kilts, 2001) 2001). También se ha demostrado *in vitro* una afinidad de los neurolépticos por los receptores D2 de dopamina, con lo cual se potencia el tratamiento con antipsicóticos. Esto da bases para inferir que los síntomas psicóticos de esta enfermedad posiblemente se deban a un estado hiper-dopaminérgico en el cerebro lo cual generaría los síntomas positivos de la esquizofrenia, mientras que una reducción en la actividad dopaminérgica, sería la responsable de los síntomas negativos. Una disminución en la capacidad de mantener su respuesta reguladora a cambios en las neuronas dopaminérgicas de la CPF, podrían ser la causa potencial de el impedimento de la función de la corteza prefrontal (Kilts, 2001). Estudios post-mortem con inmunohistoquímica han demostrado alteraciones en la inervación dopaminérgica en la CPF (Kilts, 2001).



### 13.3 APÉNDICE EJEMPLO DEL ANÁLISIS DE DATOS, COMPARACIÓN POR GRUPOS Y POR HISTOLOGÍA

En este apartado se muestran todos los sujetos experimentales separados por los criterios de exclusión de histología. Experimento 1. Protocolo INFadq

Durante la línea base de consumo de agua, el análisis estadístico mediante ANOVA factorial de dos vías, no mostro diferencias entre los grupos debidas a los criterios histológico (sitio de implantación de las cánulas y/o infusión del fármaco) ( $p > 0.05$ ), ni debida al tratamiento farmacológico (infusiones), o interacción entre el tratamiento y los criterios de histología ( $p > 0.5$ ).

De igual forma el ANOVA no mostro diferencias significativas, debidas a la histología, el tratamiento o interacción entre tratamiento e histología, durante la fase de adquisición ( $p > 0.05$ ).

La Figura 30 muestra los resultados obtenidos durante la prueba de memoria a corto plazo; en la cual el ANOVA factorial de dos vías, mostró efectos debido al tratamiento ( $F_{(1, 68)} = 6.18$ ;  $p < 0.05$ ); pero no mostró diferencias debidas al criterio histológico ( $p > 0.05$ ), ni efectos por interacción entre el tratamiento y la categoría histológica ( $p > 0.05$ ).

Durante la prueba de memoria a largo plazo el ANOVA factorial de dos vías, mostró diferencias entre los grupos debidas al tratamiento ( $F_{(1, 68)} = 6.3$ ;  $p < 0.05$ ), y diferencias debidas a la histológica ( $F_{(1, 68)} = 3.35$ ;  $p < 0.05$ ) e interacción entre el tratamiento y la categoría histológica de los sujetos ( $F_{(1, 68)} = 3.27$ ;  $p > 0.05$ ). De esta forma al realizar la prueba post hoc de Fisher mostro que las diferencias debidas al tratamiento eran entre el grupo control y grupo propranolol ( $p < 0.05$ ) el cual mostro un consumo significativamente mayor de sacarina. De igual manera la prueba de Fisher mostro que el efecto debido a la histología era entre los grupos que mostraban una histología fuera de lugar y los grupos con histología que lesionaba el sitio anatómico de interés ( $p < 0.05$ ) (Figura 29).

## Memoria a corto y largo plazo en función de criterios histológicos

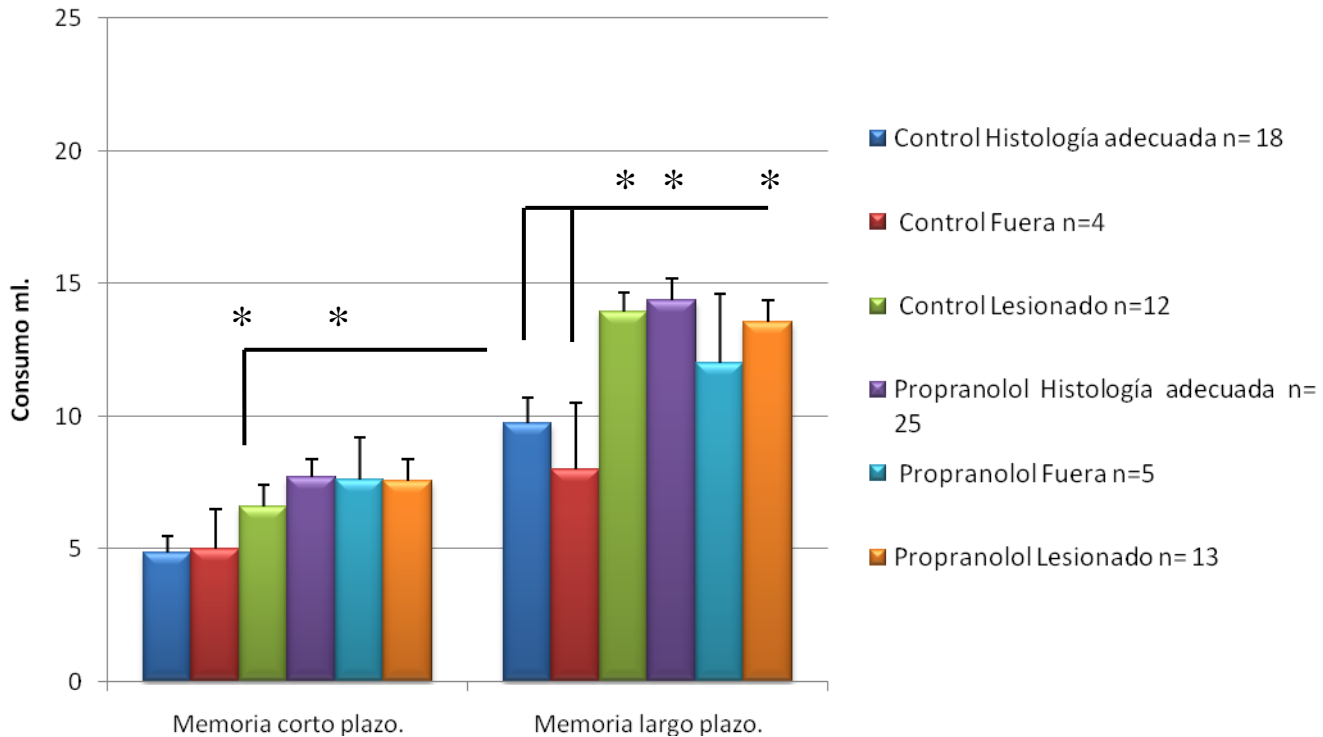


Figura 1. Pruebas de memoria en función de criterios histológicos. \*  $p < 0.05$ ,

Como se observa en la Figura 29, durante la prueba de memoria a corto plazo si bien existen diferencias debidas al tratamiento (infusiones de propranolol o solución salina), no existe un efecto debido a los criterios histológicos, ni interacción entre tratamiento y criterio histológico. Cabe mencionar que se observa una tendencia entre los sujetos que recibieron propranolol a consumir una mayor cantidad de sacarina. Por otra parte en la prueba de memoria a largo plazo, el análisis estadístico mediante ANOVA de dos vías, mostro un efecto debido al tratamiento, así como un efectos debidos a los sitios de infusión (criterios histológicos) e interacciones entre el tratamiento y los sitios de infusión; de esta forma tanto el grupo control con histología adecuada y control con cánulas fuera del sitio, mostraron un menor consumo de sacarina, esta diferencia fue estadísticamente significativa con el resto de los grupos, excepto con el grupo que recibió propranolol y el sitio de infusión estaba fuera del sitio

anatómico adecuado. Un dato relevante es el comportamiento de los sujetos que fueron excluidos por criterio de lesión histológica en el protocolo INFAdq, presentan bloqueo en la formación del CAS, lo cual se hace evidente durante la prueba de memoria, este hecho se puede relacionar con datos de otros grupos que han encontrado alteraciones en la extinción del CAS cuando se realizan lesiones citotóxicas (Akirav, Khatsrinov, Vouimba, Merhav, Ferreira, et al., 2006; Hernadi, Karadi, Vigh, Petyko, Egyed, et al., 2000).