



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales



Participación de los receptores a dopamina en el núcleo accumbens durante la formación y la evocación de la memoria aversiva del sabor.

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Licenciado en Biología

Presenta:

Gerardo Armando Soto Alonso

Santiago de Querétaro, Querétaro, Noviembre de 2011



**Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales**

Licenciatura en Biología.



Participación de los receptores a dopamina en el núcleo accumbens durante la formación y la evocación de la memoria aversiva del sabor.

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de

Licenciado en Biología

Presenta:

Gerardo Armando Soto Alonso

Dirigido por:

Dra. María Isabel Miranda Saucedo

SINODALES

Dr. Carlos Isaac Silva Barrón
Presidente

Firma

Dra. María Isabel Miranda Saucedo
Secretario

Firma

Dr. Marco Antonio Sánchez Ramos
Vocal

Firma

Dr. Fausto Arellano Carbajal
Suplente

Firma

Centro Universitario
Querétaro, Qro.
Fecha
México

RESUMEN

La memoria es un proceso que en las últimas décadas se ha estudiado ampliamente y suele clasificarse en dos grandes clases: Memoria de corto plazo (MCP) y memoria de largo plazo (MLP). Asimismo, se ha establecido que los procesos para tener una memoria se dividen en tres etapas: adquisición, consolidación y evocación. El condicionamiento de aversión al sabor (CAS), es un modelo de aprendizaje y memoria de gran utilidad para explicar los sustratos neurobiológicos durante los procesos asociativos. Existen varias estructuras que intervienen en la formación de la memoria gustativa, recientemente, varias evidencias han involucrado al núcleo accumbens (NAc), una estructura que se relaciona con la adicción a drogas, estímulos placenteros o aversivos, a algunas de las etapas de la formación o evocación de la memoria gustativa. Particularmente, el NAc podría ejercer sus efectos mediante la activación de receptores a Dopamina (DA), que es un neurotransmisor vinculado a funciones como la emotividad, conducta motora, afectividad y comunicación neuroendocrina. El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de la administración de dopamina en el NAc antes de la adquisición y antes de la evocación del CAS, además de la administración del antagonista a los receptores dopaminérgicos D2, haloperidol (HAL), antes de la adquisición del CAS. Para lograrlo, se utilizaron ratas macho (Sprague-Dawley) canuladas bilateralmente para inyectar DA o HAL en la región core del NAc. Los resultados obtenidos mostraron que la activación de receptores dopaminérgicos o el bloqueo de receptores D2 no intervienen en la adquisición o evocación de una memoria aversiva gustativa.

DEDICATORIAS

A mis padres Gerardo y Lolita, por darme la mejor herencia que se puede dejar a un hijo: EDUCACIÓN.

A mi hermano Fabián por su apoyo a través de este tiempo.

A la mujer con la que he compartido tantos momentos y me ha sabido aconsejar y escuchar en situaciones difíciles y emotivas.

A todas aquellas personas que de manera genuina me han extendido una mano para culminar con este paso en mi vida.

**“Si los demás pueden hacerlo yo también, si nadie ha podido hacerlo
puedo ser el primero en lograrlo”**

AGRADECIMIENTOS

“El principal agradecimiento es al creador por permitirme vivir y darme la salida en momentos difíciles además de todas sus bendiciones”

A la Universidad Autónoma de Querétaro por permitirme ser parte de ella y darme un lugar para superarme.

Al Instituto de Neurobiología por permitirme llevar a cabo este trabajo a través de sus instalaciones y recursos.

A los donativos de Donativos PAPIIT IN201199.

A la Dra. Isabel Miranda por su apoyo y tiempo durante la elaboración de los experimentos y el escrito de la Tesis.

Al Dr. Isaac Silva, por su labor como docente en los salones de clases así como fuera de ellos, por formar parte de mi formación como Biólogo.

Al Dr. Marco Sánchez, por sus invaluableles clases y su profundo celo que infundió en mí hacia la Biología y su terminología.

Al Dr. Fausto Arellano por su pronta atención, amabilidad y apoyo en la revisión de mi trabajo.

A todos aquellos que me han impulsado y apoyado para terminar este proyecto que forma parte importante de mi vida.

INDICE GENERAL

RESUMEN	i
DEDICATORIAS	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
INDICE GENERAL	iv
ÍNDICE DE CUADROS	vi
INDICE DE FIGURAS	vii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	3
2.1 Aprendizaje	3
2.2 ¿Qué es la memoria?	3
2.3 Clasificación de la memoria.	6
2.4 Memoria de corto plazo.....	7
2.4.1 Memoria sensorial	7
2.4.2 Memoria a corto plazo.....	8
2.4.3 Memoria de Trabajo (MT).....	8
2.5 Memoria de largo plazo.....	9
2.5.1 Memoria declarativa	9
2.5.2 Memoria de procedimiento.....	9
2.6 Procesos de la memoria	11
2.6.1 Adquisición.....	11
2.6.2 Consolidación	12
2.6.3 Evocación o recuperación	12
2.7 Modelo de estudio: condicionamiento de aversión al sabor	12
2.7.1 Extinción.....	16
2.8 Neuroanatomía y fisiología del CAS	17
2.9 Núcleo accumbens (NAc)	18
2.10 Sistema dopaminérgico	21
2.10.1 Haloperidol.....	25
2.11 Receptores.....	26
2.11.1 Familia D1.....	27
2.11.1.1 Receptores D1	27
2.11.1.2 Receptores D5	29
2.11.2 Familia D2.....	29
2.11.2.1 Receptores D2.....	29
2.11.2.2 Receptores D3.....	30
2.11.2.3 Receptores D4.....	30
2.12 Efectos y enfermedades relacionadas con la dopamina.....	31
3. JUSTIIFICACIÓN	32
4. HIPÓTESIS	33
5. OBJETIVOS	33
5.1 General.....	33
5.2 Específicos.....	34
6. MATERIAL Y MÉTODOS.	34
6.1 Sujetos experimentales.....	34
6.2 Cirugía.....	35
6.3 Modelo del CAS.....	36
6.4 Inyecciones	37
6.4.1 dopamina.....	39

6.4.2 haloperidol.	39
6.5 Histología.....	40
6.6 Análisis estadístico	41
7. RESULTADOS	41
7.1 Administración de dopamina.....	41
7.2 Administración de haloperidol.....	44
8. DISCUSIÓN	46
9. CONCLUSIÓN	47
10. REFERENCIAS	48

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Descripción de los grupos experimentales utilizados en el protocolo de aversión al sabor y la etapa en que se infundió el fármaco.	37

INDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Modelo de Atkinson y Shiffrin propuesto en 1968.	5
2	Esquema de clasificación de la memoria.	6
3	Representación del experimento de Pavlov.	10
4	Paradigma de CAS. Resultados de un grupo control (n=10) y uno experimental. En el eje Y se muestra el consumo en ml. En el eje X los días del experimento. A las ratas se les permitió acceso al agua (W) durante 15 min de en los días 1, 2 y 4, sacarina al 0.1% (S) en los días 3 y 5. 15 min Después de la toma de sacarina en el día 3 se inyectó NaCl 0.15 M en el grupo C y LiCl 0.15 M en el grupo E. En el grupo E al día 5 se nota un decremento considerable en el consumo de sacarina a diferencia del grupo C que presentó un aumento en el consumo respecto al día 3.	15
5	Vías gustativas en la rata. El VII par craneal (facial), incluyendo la cuerda del tímpano (CT) y el nervio petroso (GSP); el IX par craneal o glosofaríngeo (GSF), El X par craneal (nervio vago) laríngeo superior, inerva la laringe superior (LS). Abreviaturas: NTS.- Núcleo del tracto superior, PBN.- Núcleo parabraquial, VPM.- Núcleo ventromedial posteromedial del tálamo; CGA.- Área gustativa de la corteza insular. BNST.- Estría terminal; HL.- Hipotálamo lateral; AM.- Amígdala ipsilateral. Proyecciones ipsilaterales en negro y contralaterales en blanco.	17
6	Estructuras con las que el NAc comparte proyecciones. Recibe proyecciones noradrenérgicas de locus coeruleus (LC) y del núcleo del tracto solitario (NTS) (Pennartz et al., 1994), glutamatérgicas desde la amígdala basolateral (BLA) y la corteza insular (CI) (Zahm y Heimer, 1993) además del Hipocampo (Pennartz et al., 1994), también recibe proyecciones dopaminérgica del área tegmental ventral (VTA) (Zahm y Heimer, 1993). Algunas proyecciones q salen del NAc terminan en el hipotálamo lateral, (Zahm y Heimer, 1993), debido al circuito NAc-NBM-Corteza se sabe que el NAc tiene proyecciones GABAérgicas hacia el NBM (Sarter et al., 1999; Arnold et al., 2000), del NBM van proyecciones colinérgicas a la BLA y CI (Bermúdez-Rattoni, 2004). El núcleo parabraquial (NPB) modula la actividad del NAc a través de conexiones al VTA.	19
7	Estructura química de la dopamina. 3, 4-dihydroxyphenethylamine.	21
8	Proyecciones principales del sistema Dopaminérgico en cerebro de rata. Abreviaciones: A8, área retrorubal; A9, substancia nigra; A10, VTA; A11, hipotálamo posterior; A12, núcleo arqueado del hipotálamo; A13, zona incerta; A14, núcleo paraventricular del hipotálamo; ds, diencéfalo-	21

espinal; mc, área mesocortical; ml, área mesolímbica; ms, área mesoestriatal; NAc, núcleo accumbens; ns, nigroestriatal; OT, bulbo olfatorio; ts, área tuberoinfundibular.

- | | | |
|----|---|----|
| 9 | Síntesis de dopamina. La hidroxilación del aminoácido L-Tirosina es llevada a cabo por la enzima Tirosina Hidroxilasa (TH), mediante el cofactor tetrahidropterina adiciona un grupo hidroxilo para formar L-DOPA, precursor directo de la DA. | 22 |
| 10 | Degradación de dopamina. La dopamina puede ser degradada por dos vías, una por la actividad de la monoamina oxidasa (MAO) que tiene como resultado ácido dihidroxifenilacético (DOPAC), catecol-O-metiltransferasa (COMT) actúa sobre DOPAC para obtener ácido homovanílico (HVA). Otra vía es por la activación de COMT, su interacción con la DA se deriva en 3-metoxitriptamina (3-MT) que al interactuar con MAO se obtiene HVA. | 23 |
| 11 | Recaptura de dopamina. La cocaína aumenta los niveles de DA, bloquea la recaptura. Las anfetaminas incrementan la liberación y síntesis de la DA. La entrada de DA depende de la presencia de Na ⁺ y Cl ⁻ . | 24 |
| 12 | Estructura de receptores a dopamina. Cuentan con 7 dominios transmembranales, 3 asas citoplasmáticas, i ₁ , i ₂ , i ₃ ; y asas extracelulares, e ₁ , e ₂ , e ₃ ; cuentan con un extremo amino terminal, NH ₂ ; y un extremo carboxilo terminal, COOH. | 26 |
| 13 | Características estructurales de los receptores dopaminérgicos. Abreviaturas: a.a., aminoácidos; Gas, proteína G estimuladora; Gai, proteína G inhibidora; Gao, proteína G tipo O; kb, kilobases; PKA, cinasa A de proteína; K _j , constante de inhibición. | 27 |
| 14 | Características farmacológicas de los receptores dopaminérgicos. Abreviaturas: a.a., aminoácidos; Gas, proteína G estimuladora; Gai, proteína G inhibidora; Gao, proteína G tipo O; kb, kilobases; PKA, cinasa A de proteína; K _j , constante de inhibición. | 28 |
| 15 | Transducción de señales de los receptores dopaminérgicos de las familias D1 y D2. Abreviaturas: D1 y D2 de receptores dopaminérgicos. Abreviaturas: AC, adenilil ciclasa; AMPc, monofosfato cíclico de adenosina; ATP, trifosfato de adenosina; ADP, difosfato de adenosina; DAG, diacilglicerol; IP3, 1,4,5-trifosfato de inositol; PIP2, 4,5-difosfato de fosfatidilinositol; PKA, cinasa de proteína activada por AMPc; P, fosforilación; PKC, cinasa C de proteína. PLC, fosfolipasa C. | 29 |
| 16 | Ubicación aproximada de los tornillos, las cánulas se colocan de manera precisa mediante coordenadas sobre el NAc. | 35 |
| 17 | Ubicación de las cánulas de 12 mm, las puntas más delgadas muestran los inyectores que bajan 2 mm más hasta el NAc en cortes coronales. | 35 |

18	Procedimiento durante el CAS. Se muestran los tiempos en que se presentan los estímulos, cabe señalar que la inyección del fármaco es en el día de adquisición.	37
19	Procedimiento durante el CAS. Se muestran los tiempos en que se presenta los estímulos, cabe señalar que la inyección del fármaco es en el día de prueba.	37
20	A. Ubicación de los inyectores en el núcleo accumbens en un corte coronal de 50 µm en cerebro de rata indicados por un círculo rojo. B. Los contornos de color rojo muestran la ubicación del núcleo accumbens core, shell y medial en el atlas de Paxinos, AP 1.20 mm a partir de bregma en un corte coronal.	40
21	Administración de dopamina 20 min antes de la adquisición del CAS. En el eje de las abscisas se encuentran los diferentes días en que se presentaron las soluciones en probetas graduadas. En el eje de las ordenadas se muestran en ml los consumos de los animales. Las barras azules muestran la media de los consumos del grupo control infundidos con solución salina, las barras rojas muestran la media de los consumos del grupo tratado con dopamina. LBT, Línea basal total; ADQ, Adquisición; PBA, Prueba; EXT1, EXT2, EXT3, Días de extinción.	41
22	Administración de dopamina acidificada 20 min antes de la adquisición del CAS. En el eje de las abscisas se encuentran los diferentes días en que se presentaron las soluciones en probetas graduadas. En el eje de las ordenadas se muestran en ml los consumos de los animales. Las barras azules muestran la media de los consumos del grupo control infundidos con solución salina, las barras rojas muestran la media de los consumos del grupo tratado con dopamina acidificada. LBT, Línea basal total; ADQ, Adquisición; PBA, Prueba; EXT1, EXT2, EXT3, Días de extinción.	42
23	Administración de dopamina 20 min antes de la prueba del CAS. En el eje de las abscisas se encuentran los diferentes días en que se presentaron las soluciones en probetas graduadas. En el eje de las ordenadas se muestran en ml los consumos de los animales. Las barras azules muestran la media de los consumos del grupo control infundidos con solución salina, las barras rojas muestran la media de los consumos del grupo tratado con dopamina. LBT, Línea basal total; ADQ, Adquisición; PBA, Prueba; EXT1, EXT2, EXT3, Días de extinción.	43
24	Administración de haloperidol 20 min antes de la adquisición del CAS. En el eje de las abscisas se encuentran los diferentes días en que se presentaron las soluciones en probetas graduadas. En el eje de las ordenadas se muestran en ml los consumos de los animales. Las barras azules muestran la media de los consumos del grupo control infundidos con solución salina, las barras rojas muestran la media de los consumos del	44

grupo tratado con dopamina. LBT, Línea basal total; ADQ, Adquisición; PBA, Prueba; EXT1, EXT2, EXT3, Días de extinción.

25 Administración de haloperidol 20 min antes de la adquisición del CAS con dosis mayor ($5\mu\text{g}/\mu\text{l}$). En el eje de las abscisas se encuentran los diferentes días en que se presentaron las soluciones en probetas graduadas. En el eje de las ordenadas se muestran en ml los consumos de los animales. Las barras azules muestran la media de los consumos del grupo control infundidos con solución salina, las barras rojas muestran la media de los consumos del grupo tratado con dopamina. LBT, Línea basal total; ADQ, Adquisición; PBA, Prueba; EXT1, EXT2, EXT3, Días de extinción.

45

1. INTRODUCCIÓN

Aprender sobre las experiencias que pueden llevarnos a consecuencias graves es de gran importancia para un organismo. La formación de la memoria es parte fundamental de este proceso y se le considera una propiedad del sistema nervioso. La memoria ha sido definida por varios autores como la capacidad de adquirir información, retenerla y evocar o aplicar el conocimiento adquirido acumulando información a través del tiempo. Una definición más neurobiológica indica que la memoria es la representación interna/cerebral de las experiencias.

El estudio de la memoria no es tarea fácil, desde la época de Aristóteles, donde se consideraba a la memoria como parte del corazón, hasta la época de Descartes que le otorgó la jerarquía de actividad del cerebro, se han generado un gran número de teorías y definiciones. Si bien, el primer enfoque más experimental, fue dado por Herman Ebbinghaus, al aplicar un método simple pero eficiente para medir la capacidad de recordar y cuantificar el tiempo que podía permanecer la información en el cerebro, así como que tan rápido se genera el olvido. Fue así como otros investigadores continuaron con variados experimentos e iniciaron la clasificación de la memoria. Por ejemplo, William James clasificó la memoria como primaria y secundaria, en base a estudios como los de Ebbinghaus. Posteriormente, con ayuda particularmente del caso H.M. (ver página 5) se han desarrollado modelos de la memoria como el de Atkinson y Shiffrin, donde se clasifica a la memoria de acuerdo a su temporalidad en memoria de corto plazo y memoria de largo plazo. La memoria de largo plazo, a su vez se ha dividido en declarativa y no declarativa; dentro de la no declarativa se encuentra la memoria de condicionamiento o asociativa, ésta tiene relación entre estímulos y respuestas. Ivan Pavlov hizo un experimento íntimamente relacionado entre estímulo y respuesta, provocando la salivación en perros mediante la presencia de alimento y manipulando o relacionando la presencia de comida, con el sonido de una campana. Cuando el perro saliva al escuchar el sonido quiere decir que el animal está condicionado a que recibirá comida después del sonido.

Para lograr una memoria se requieren de tres etapas: adquisición, consolidación y evocación, todas estas etapas tienen como sustrato neurobiológico al sistema nervioso. Los primeros estudios hechos por Karl Lashley (1950), trataron de demostrar las estructuras cerebrales donde podría almacenarse la memoria. Sin embargo, actualmente, existen una gran cantidad de modelos para estudiar particularmente la participación de variadas regiones cerebrales. Tal es el caso del condicionamiento de aversión al sabor (CAS) para el estudio de aprendizajes asociativos donde los animales aprenden a distinguir y asociar un estímulo neutral condicionado con un estímulo aversivo incondicionado, el estímulo neutro más utilizado es la sacarina, Garcia y Koeling (1966) han demostrado que los organismos experimentales asocian fácilmente estímulos gustativos, otros autores como Yamamoto y Sawa (2000) han demostrado que la sacarina al igual que la sacarosa, quinina y el agua producen una alteración en estructuras que reciben información gustativa tanto visceral. A través de estudios con este modelo se ha observado que el cerebro anterior basal (CAB) es indispensable para llevar a cabo tareas donde interviene la memoria, entre estas estructuras se encuentra el núcleo accumbens (NAc) estructura que modula el núcleo basal magnocelular o NBM que a su vez proyecta a la corteza insular (CI). El NAc es una estructura relacionada con la motivación, recompensa, estímulos novedosos, estrés, recompensa y adicción a drogas, la administración de narcóticos en esta estructura provoca cambios en la morfología de las espinas dendríticas del NAc, cambios que afectan significativamente a procesos de la memoria (Robinson y Kolb, 1997; Robinson et al., 2001). Estudios han revelado que en el aprendizaje el NAc participa en la etapa de consolidación, pero no en el proceso de evocación en la tarea del CAS.

Se ha comprobado que el bloqueo de receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) de glutamato en el NAc interfiere en la tarea de adquisición. El NAc cuenta con receptores dopaminérgicos, divididos en dos familias que a su vez se dividen en subtipos: **D1**: D1 y D5; **D2**: D2, D3 y D4 distribuidos por todo el NAc en distintas densidades y con diferentes funciones cada uno.

Conocer cómo están participando los distintos tipos de receptores a DA en el NAc, contribuirá al conocimiento de la formación de una memoria aversiva.

2. ANTECEDENTES

2.1 Aprendizaje

El aprendizaje es vital para que cualquier organismo pueda sobrevivir, debido a que implica un cambio en la conducta, en base a experiencias previas. De tal forma, se necesita adquirir información del exterior, procesarla y poder ocasionar un cambio en la función de las estructuras cerebrales. Por lo tanto, el aprendizaje involucra los procesos necesarios para lograr la retención de información en forma de memoria. En el aprendizaje se adquieren o modifican habilidades de acuerdo a la experiencia. La retención de la información se logra a través de representaciones internas/físicas en diversas áreas del cerebro (Varela y Ávila et al., 2005; Téllez-Olvera et al., 2002).

2.2 ¿Qué es la memoria?

La memoria es una de muchas funciones del sistema nervioso; a través de ésta se puede adquirir información, retenerla y recordar o “evocar” experiencias del pasado. A diferencia del aprendizaje, la memoria consta de procesos neurológicos en los que tradicionalmente se han dividido (adquisición, consolidación y evocación) y constituye un gran almacén dinámico y cambiante de datos que pueden o no ser conservados; donde se ven involucrados procesos cognitivos tal como pensar, juzgar, resolver problemas, etc. (Varela y Ávila et al., 2005; Téllez-Olvera et al., 2002). La memoria es la retención de información a través del tiempo modificándose dependiendo de la experiencia en representaciones internas codificadas en engramas neuronales (Dudai, 1989).

Tulving (1985) dice que “la memoria es la capacidad que permite a los organismos beneficiarse de su experiencia” además de ser la habilidad que tienen los organismos vivos para retener y utilizar la información o el conocimiento adquirido (Tulving, 1996). La mayoría del tiempo esta habilidad

pasa inadvertida, pero como bien dice David Hume somos “una colección de muchas sensaciones que se suceden unas con otras en un flujo continuo” (Bermudez-Rattoni y Prado-Alcalá, 2001).

El estudio de la memoria se remonta a principios del siglo IV a.C, donde Aristóteles consideraba que la memoria “residía en el corazón”. Descartes relacionó la memoria con la “actividad del cerebro” (Dudai, 1991), pero no fue hasta finales del siglo XIX que los procesos de la memoria dejaron el enfoque filosófico exclusivo y pasaron a ser tema de la ciencia experimental cuando en 1885, el psicólogo Herman Ebbinghaus publicó su trabajo “*Über das Gedachtnis*”, sobre el primer análisis cuantitativo y de comprobación para el estudio de la memoria (Bermudez-Rattoni y Prado-Alcalá, 2001).

El análisis de Ebbinghaus era simple, consistía en un sistema de más de dos sílabas sin sentido, una vocal en medio de dos consonantes que usaba como material para memorizar, esto garantizaba que la información era nueva y que no se pudiera establecer una relación entre la palabra con alguna experiencia previa. Aplicando el experimento en si mismo memorizaba series de sílabas cambiando la extensión de la lista así como la cantidad de repasos, finalmente evaluaba cuanta información era capaz de almacenar. Los resultados de Ebbinghaus indicaban que la memoria se establecía gradualmente, que existía un número máximo de sílabas que se podían recordar y que era más fácil recordar una lista antes aprendida que una totalmente nueva, a este suceso se le denominó “ahorro”, y finalmente que existe un olvido (Bermudez-Rattoni y Prado-Alcalá, 2001).

Estos resultados motivaron a William James para darle nombre a la primera clasificación de la memoria, James hizo dos categorías: la de *memoria primaria* (actualmente *corto plazo*) que se ha adquirido en un tiempo “presente”, sirve mientras las utilizamos, y la *memoria secundaria* (actualmente de *largo plazo*), donde podemos no tener conciencia de la información, pero si recuperarla a voluntad propia (Bermudez-Rattoni y Prado-Alcalá, 2001).

A pesar de la propuesta tan acertada de William James, fue hasta 60 años después, que pudo comprobarse experimentalmente. Gracias al caso H.M en el año de 1957, un adolescente que desde los 10 años sufría de crisis convulsivas leves y con el tiempo se fueron intensificando, en estos episodios de 40 segundos en los casos mínimos cruzaba los brazos y las piernas, abría y se mordía la boca y cerraba los ojos, sufría incontinencia urinaria y al termino tenía somnolencia prolongada, las crisis más intensas ocurrían sin previo aviso o señal alguna, no podía responder pero afirmaba que podía escuchar un poco durante el suceso. A pesar de los tratamientos su estado empeoraba con el tiempo, los electroencefalogramas resultaban negativos a un daño en específico aunque se encontraron otras anomalías en su cerebro, en septiembre de 1953 le retiraron bilateralmente el lóbulo temporal medial (encargado del reconocimiento de caras, funciones auditivas, emociones como ira y ansiedad). La principal consecuencia de la operación fue la pérdida de la memoria, no reconocía haber hablado con el Dr. Karl Pribram y ubicaba la fecha como marzo del 1953 cuando era el año de 1955, hacía referencia constantemente a su niñez y no parecía saber que lo habían operado, no podía recordad pequeñas historias, dibujos ni tareas antes asignadas, sin embargo su coeficiente intelectual aumentó considerablemente así como su habilidad para las matemáticas. Se le diagnosticó una amnesia retrograda, podía recordar lo sucedido antes de la operación pero era incapaz de formar nuevas memorias (Scoville y Milner 2000).

En la misma década iniciaron investigaciones para estudiar las estructuras de la memoria, utilizando los modelos conocidos como *modelo modal* o *multialmacén*, estos modelos se basan en un estímulo que es registrado para así transferirse a un almacén de memoria (Varela y Ávila et al., 2005). Sin embargo, el modelo actual, por haber demostrado mayor importancia y relación con la memoria a corto y largo plazos es el de Atkinson y Shiffrin propuesto en 1968 (Figura 1).

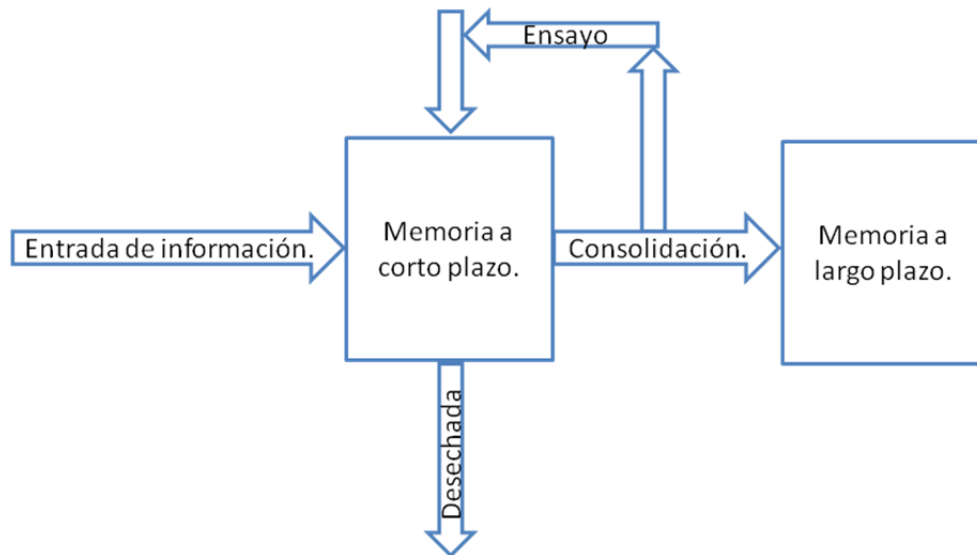


Figura 1. Modelo de Atkinson y Shiffrin propuesto en 1968 (modificado de Bermudez-Rattoni y Prado-Alcalá, 2001).

Otro modelo alternativo, propuesto en la década de 1970, es el de Craik y Lockhart, el cual sugiere que es mejor *centrarse en las modalidades de procesamiento* en lugar del estudio hipotético de las estructuras de la memoria (Varela y Ávila et al., 2005).

2.3 Clasificación de la memoria.

La memoria tiene tres componentes: memoria sensorial, memoria a corto plazo (MCP) y memoria a largo plazo (MLP); estas divisiones son de acuerdo a la temporalidad según Atkinson y Shiffrin en 1968 (Figura 2).

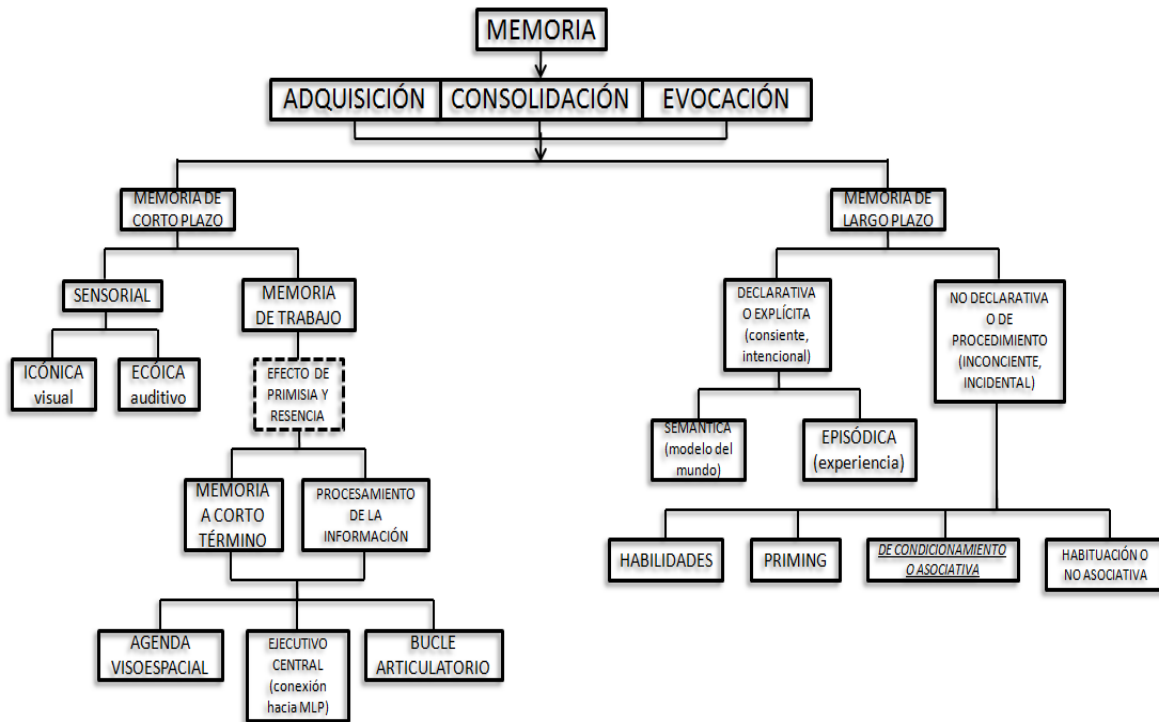


Figura 2. Esquema de clasificación de la memoria (Bermudez-Rattoni y Prado-Alcalá, 2001; Téllez-Olvera et al., 2002; Etchepareborda, 2005).

2.4 Memoria de corto plazo

Esta memoria puede dividirse en dos partes, 1) memoria sensorial o ultracorta y 2) memoria de corto plazo:

2.4.1 Memoria sensorial

Tiene una duración de milisegundos, está involucrada en el proceso de registro y organización de la información que se percibe. Existen dos tipos de memoria sensorial: memoria sensorial icónica, es ultracorta y de tipo visual, se refiere al tiempo que tarda en convertir un estímulo visual en impulsos nerviosos y llegar al cerebro. La memoria sensorial ecoica es de origen auditivo y tiene una duración de una décima de segundo (Varela y Ávila et al., 2005; Téllez-Olvera et al., 2002).

2.4.2 Memoria a corto plazo

Una vez llegado el estímulo a la memoria sensorial, de aquí pasa a la memoria de corto plazo, es definida como una capacidad *limitada* en donde la información se mantiene y es almacenada temporalmente por la atención y el ensayo, dura de 20 a 30 seg si no se practica se disipa y se pierde finalmente, a menos que exista un repaso o ensayo. Según George Miller en la MCP solo es posible retener de 5 a 9 unidades de nueva información (7 ± 2), por ejemplo, de una lista de 15 palabras solo se podrán recordar de 5 a 9 y en promedio 7 (Varela y Ávila et al., 2005; Téllez-Olvera et al., 2002).

Sin embargo existe un efecto de posición serial, quiere decir que la posición en que aparezca una palabra en una lista ejerce influencia en la probabilidad de ser recordado inmediatamente por lo que es normal que al recordar una lista hay un mejor recuerdo de las palabras del principio y del final sobre las que aparecen en medio, a estos efectos se les llama *principio de lista* o *primicia* y *efecto de fin de lista* o *resencia* (Drake y Harri et al., 2003). Gracias a investigaciones de Braddelley en 1996 se ha concluido que MCP y MLP son sistemas néimicos completamente diferentes (Téllez-Olvera et al., 2002).

2.4.3 Memoria de Trabajo (MT)

Forma parte de la MCP como principal proceso néimico, se describe como el almacenamiento y procesamiento temporal de procesos sensoriales, para después ser codificada, almacenada y evocada y llevar a cabo tareas cognoscitivas como la comprensión, el aprendizaje y el razonamiento, esta memoria es limitada y susceptible de interferencias, lo que le da gran flexibilidad y la posibilidad de entrada de nuevos estímulos, además de comparar y relacionar la información entre sí. La MT está formada por tres componentes: *Bucle articulatorio*, *agenda visoespacial*, y *ejecutivo central*. (Braddelley, 1983; Richardson, 1996; Etchepareborda, 2005).

2.5 Memoria de largo plazo

La memoria a largo plazo es aquella que almacena el conocimiento en forma verbal y visual, es todo lo que sabemos o hemos aprendido (Tulving, 1972; Calfee, 1977). Las relaciones entre estímulos condicionados, entre claves y comportamientos operantes se almacenan en la MLP, sus estructuras asociativas son redes proporcionales interconectadas que contienen unidades de información (Anderson, 1986).

La MLP se ha clasificado en dos tipos: La declarativa (explícita) y de procedimiento (no declarativa y/o implícita) (Schacter, 1996; Squire y Knowlton, 1996). La memoria declarativa se refiere a la adquisición, almacenamiento y evocación de la información en un estado de conciencia (se asocia al lenguaje y responde al qué, cómo, cuándo y dónde), la memoria de procedimiento se refiere al aprendizaje y conservación de habilidades como montar en bicicleta, lavarse los dientes de manera inconsciente y automática (Téllez-Olvera et al., 2002).

2.5.1 Memoria declarativa

Esta memoria es la que nos da identidad, una historia personal y conocimiento de lo que nos rodea, está relacionada directamente con el lenguaje, es flexible y se puede aplicar en contextos nuevos (Schacter, 1996; Fernández y López, 1998). Sin embargo la memoria declarativa puede ser reforzada por un contenido emocional asociado (McGaugh, 2000). Se ha dividido en memoria semántica y memoria episódica, la primera permite una construcción de modelos mentales del mundo, la segunda consiste en adquirir y retener información acerca de sucesos personalmente experimentados con relación al tiempo o como dice Tulving (1985) “es la habilidad de *viajar hacia atrás* en el tiempo” y tener autoconocimiento (Téllez-Olvera et al., 2002).

2.5.2 Memoria de procedimiento

Se describe como los resultados no conscientes de la experiencia previa en emociones y/o conductas, sucede sin un recuerdo intencional o consciente a diferencia de la memoria declarativa (Schacter, 1996), así mismo no requiere de uso de palabras y permite una asociación entre estímulo y respuesta de forma adaptativa (Tulving, 1985; Fernández y López, 1998). Larry Squire divide a la memoria de procedimiento o no declarativa en: Habilidades, “*priming*”, no asociativa (habituación) y asociativa (condicionamiento clásico). Las habilidades o hábitos se refieren a aprender una secuencia ordenada de conductas con un fin determinado, el *priming* implica la rapidez con que se puede nombrar o identificar un estímulo que se ha percibido antes. Otra división incluye a la memoria no asociativa o de habituación, que describe cuando se presenta un estímulo nuevo, habrá una respuesta conductual significativa; posteriormente si se presenta de forma repetida habrá una reducción gradual de la respuesta conductual (revisar el primer paradigma de condicionamiento, Pavlov, 1906).

Para este trabajo de tesis, fue fundamental definir e integrar los antecedentes del condicionamiento clásico, que se encargan de establecer una relación entre estímulos y/o las respuestas, y son parte de los mecanismos de asociación que se presentan durante el CAS. El aprendizaje asociativo fue descrito por primera vez por Ivan Petrovich Pavlov (1906). Sus experimentos consistieron en presentar un estímulo incondicionado (EI) obteniendo una respuesta incondicionada (RI); además agrega un estímulo auditivo o visual que es un estímulo condicionado (EC) (Pavlov, 1927). Pavlov midió meticulosamente la salivación de un perro desde las glándulas después de presentar alimento como EI lo que provocaba la producción de saliva, una RI; Pavlov agregó el sonido de una campana después del alimento, al sonido de la campana se le llamó EC, posteriormente solo presentaba el sonido sin comida y la respuesta de salivar se producía solo escuchar el sonido de la campana, a esta respuesta se llamó respuesta condicionada (RC) (Figura 3), este proceso es considerado como condicionamiento clásico (Pavlov, 1906).

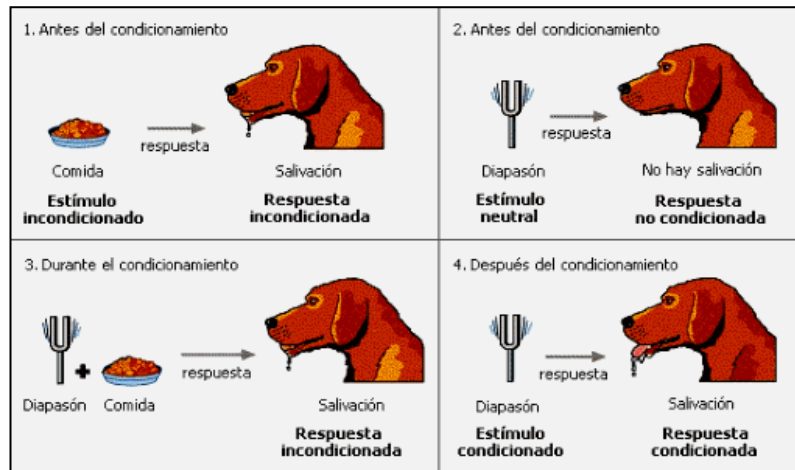


Figura 3. Representación del experimento de condicionamiento clásico de Pavlov.

2.6 Procesos de la memoria

Para formar y expresar una memoria son necesarias tres etapas fundamentales: la adquisición, la codificación y/o consolidación y la evocación.

2.6.1 Adquisición

Es la fase inicial de la formación de una memoria, es un proceso por el cual nueva información se convierte en un engrama o representación física de la memoria en el cerebro (Dudai, 2002). La adquisición está compuesta por subprocesos, “codificación” que refiere convertir un mensaje a un lenguaje o código neural (Churchland y Sejnowski, 1992). La adquisición implica una fase temporal o un proceso que tiene parte en una temporalidad (Stillings et al., 1987; Tulving, 1983). El tiempo que la adquisición requiere depende del paradigma o protocolo, se puede adquirir en un instante o en una sola prueba como en los condicionamientos aversivos, incrementar la adquisición se refiere en situaciones a la acumulación de información mediante múltiples experiencias para construir una memoria (Pavlov, 1927; Skinner, 1938, Hebb, 1949; Dudai, 1989).

2.6.2 Consolidación

Es la siguiente fase después de la adquisición, si es que se llega a formar una memoria de largo plazo (Dudai, 2002), las memorias a largo plazo requieren tiempo para estabilizarse y son vulnerables a la interferencia por estímulos, lesiones o drogas (Muller y Pilzecker, 1900; McGaugh, 1966, 2000; Dudai y Morris, 2000). Después del aprendizaje, la consolidación no se completa necesariamente en un corto tiempo, en algunos casos puede continuar por semanas, meses o toda la vida (Dudai, 2002)

2.6.3 Evocación o recuperación

Evocar es la actualización de la información aprendida, el acceso, selección, reactivación o reconstrucción de lo que se ha adquirido y consolidado de representaciones internas, se puede definir también como el estado que requiere el cerebro para intentar o lograr la recuperación de la información (Dudai, 2002).

2.7 Modelo de estudio: condicionamiento de aversión al sabor

En los organismos aprender de consecuencias drásticas es fundamental para enfrentar cambios que alteren su equilibrio entre el ambiente exterior y las condiciones de su ambiente interior, es importante mencionar que la adaptación de los organismos no surge como respuesta inmediata a su entorno, por lo tanto el término adaptación conlleva más allá de que el organismo relacione un malestar gástrico con un alimento anteriormente ingerido. El consumo de alimentos dañinos puede afectar gravemente a un organismo, es por eso que los organismos han adoptado estrategias que le ayudan a aprender a relacionar los procesos de digestión en relación con las necesidades del cuerpo, los substratos disponibles en los alimentos en proporción con la demanda energética. A través de la evolución se han visto afectadas las conductas alimenticias de los organismos, lo que ha tenido como resultado una modificación en la anatomía y fisiología como mecanismos

vitales, incluyendo procesos neurales y hormonales que sustentan el aprendizaje y la memoria, procesos indispensables para satisfacer las necesidades fisiológicas (Bures et al., 1998). La integración de estos procesos dentro de un sistema neurobiológico responsable del aprendizaje y la memoria ha sido propuestos por Stellar (1954) y elaborado por LeMagnen (1985) y Toates (1986).

Dentro de este sistema neurobiológico de la memoria se ha generado un vínculo entre fibras viscerales aferentes y estímulos externos (gusto, vista, olfato). Así un organismo está más o menos preparado para asociar un determinado estímulo con sus consecuencias, y tener como resultado una respuesta positiva o negativa (Seligman, 1970).

Se han desarrollado métodos para la investigación de la memoria. Por ejemplo, el modelo de condicionamiento de aversión al sabor (CAS), descrito por primera vez por John García y colaboradores (1955), ellos sometieron seis grupos de ratas donde a tres se les permitió consumir agua mientras se les exponía a radiación gamma en tres distintas intensidades (0,30 y 57 r), y a los otros tres se les permitió consumir una solución de sacarina durante la exposición de radiación (0,30 y 57-r), después de esto a los seis grupos se les presentaron dos botellas, una con agua y otra con sacarina, los resultados que obtuvieron fueron que los tres primeros grupos prefirieron consumir la solución de sacarina mientras que los otros tres grupos mostraron un retroceso un el consumo de la sacarina de acuerdo a la intensidad de la radiación aplicada , a partor de este experimento el CAS ha surgido como un método sencillo y robusto para estudiar los procesos necesarios durante la formación de la memoria. El CAS es un ejemplo de aprendizaje “adaptativo” (que tiene componentes de un condicionamiento asociativo clásico) donde los animales adquieren aversión a un sabor novedoso (EC) seguido de un malestar gástrico (EI) (Bures, 1998). La temporalidad entre estos dos estímulos (EC-EI) ha sido tema de discusión, Bermúdez-Rattoni et al., 1989 han demostrado que el retraso entre dichos estímulos puede ser de hasta 8 horas. Y está bien predeterminado que se puede formar un CAS segundos después de la

presentación del EC, debido a que la sola presencia del estímulo (EC) induce la formación de una memoria gustativa a corto plazo (Bures et al., 1998)

El CAS es un modelo utilizado de manera amplia ya que presenta varias ventajas sobre otros paradigmas:

- El amplio conocimiento de las estructuras involucradas en este tipo de aprendizaje.
- Se puede manipular las etapas del aprendizaje y la memoria: adquisición, consolidación y evocación.
- Presenta una rápida adquisición, de un solo ensayo, que permite la correlación entre eventos moleculares y celulares del aprendizaje.

Para facilitar la medición cuantitativa de la ingesta del sabor, generalmente éste se presenta en forma de solución líquida, el CAS consiste en privar a las ratas de agua durante 23-72 hrs, ofreciendo agua solo por 15 min al final de este periodo. Una vez condicionados los animales a este proceso por varios días, se les ofrece el sabor novedoso en lugar del agua, la cantidad que consuman dependerá de su motivación y de lo agradable del sabor. Cuando se usa un estímulo gustativo moderadamente desagradable se reduce la ingesta del líquido, el miedo a un sabor novedoso o comida novedosa se denomina neofobia (Domjan y Gillan, 1977; Sweatt, 2003). Si el mismo sabor se ofrece al siguiente día bajo las mismas condiciones, es posible que el consumo sea mayor, lo que se conoce como atenuación a la neofobia, esto es así porque hasta este punto después del consumo del sabor novedoso no hay una consecuencia gástrica aversiva.

En el CAS se presenta el sabor novedoso (EC, sacarina en algunos casos) y posteriormente se induce un malestar gástrico, (EI, en los casos más comunes se aplica cloruro de litio (LiCl) intraperitoneal) que producirá síntomas de envenenamiento. En los primeros minutos, los animales presentan flacidez y estiramiento semi-rítmico en el área estomacal, con movimientos peristálticos, en algunos casos muestran diarrea y se reduce su respuesta a estímulos

externos, estos efectos terminan después de 1-2 hrs y desaparecen de 5-10 hrs (Bures et al., 1998).

Al presentar nuevamente el EC o el sabor se revela un decremento significativo en el consumo de este mismo, a diferencia de la primera presentación, lo que significa que el animal aprendió, esta diferencia puede compararse estadísticamente (figura 4) (Bures et al., 1998; Bermudez-Rattoni, 2004). Este modelo refleja la intensidad de la aversión asociada a través de un aprendizaje, por lo que es un método ampliamente confiable y replicable (Bures et al., 1998).

El intervalo inter-estímulos que se da entre el sabor novedoso y el malestar gástrico puede ser provocado incluso si el retardo es muy grande entre dichos estímulos (EC-EI) (Schafe et al. 1995). La separación de estos dos estímulos permite conocer los mecanismos de adquisición utilizados en la asociación de estímulos. Se ha demostrado que durante el lapso donde se asocian al sabor novedoso y el malestar gástrico se llevan a cabo eventos celulares y bioquímicos para la formación de la MLP (Bures et al., 1998).

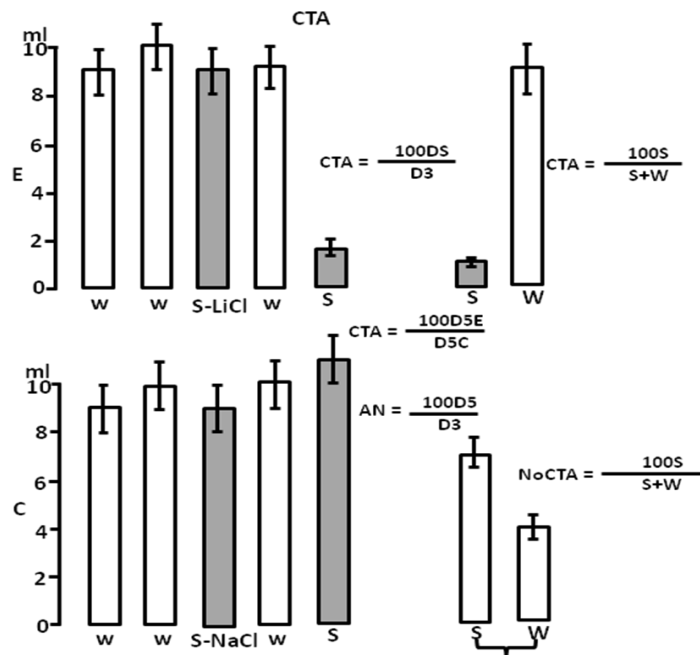


Figura 4. Paradigma de CAS. Resultados de un grupo control (n=10) y uno experimental. En el eje Y se muestra el consumo en ml. En el eje X los días del experimento. A las ratas se les permitió acceso al agua (W) durante 15 min de en los días 1, 2 y 4, sacarina al 0.1% (S) en los días 3 y 5. 15 min Después de la toma de sacarina en el día 3 se inyectó NaCl 0.15 M en el grupo C y LiCl 0.15 M en el grupo E. En el grupo E al día 5 se nota un decremento considerable en el consumo de sacarina a diferencia del grupo C que presentó un aumento en el consumo respecto al día 3. Paradigma de CAS. Resultados de un grupo control (n=10) y uno experimental. En el eje Y se muestra el consumo en ml. En el eje X los días del experimento. A las ratas se les permitió acceso al agua (W) durante 15 min de en los días 1, 2 y 4, sacarina al 0.1% (S) en los días 3 y 5. 15 min Después de la toma de sacarina en el día 3 se inyectó NaCl 0.15 M en el grupo C y LiCl 0.15 M en el grupo E. En el grupo E al día 5 se nota un decremento considerable en el consumo de sacarina a diferencia del grupo C que presentó un aumento en el consumo respecto al día 3. (Extraído de Bures et al., 1998).

2.7.1 Extinción

La extinción es un declive en la frecuencia o intensidad de un comportamiento condicionado seguido del retiro del reforzador. En el condicionamiento clásico, Pavlov lo llamó extinción experimental, cuando con el tiempo la salivación del perro disminuía si no había una recompensa consecuente al sonido (Dudai, 2000; Pavlov, 1927). La extinción es manifestada por la desaparición de la respuesta aversiva, según Grote y Brown (1973) los procesos de extinción son más rápidos cuando las ratas son severamente privadas de agua.

2.8 Neuroanatomía y fisiología del CAS

La codificación del sabor comienza con la transducción química que viene de la boca y la lengua; posteriormente llega a través del nervio facial (par craneal VII), el nervio glossofaríngeo (par craneal IX) y de la laringe y faringe a través del nervio vago (par craneal X), a la parte rostral del núcleo del tracto solitario (NTS), el primer relevo central ubicado en el tallo cerebral. La información de la irritación gástrica es transmitida por el nervio vago (X) hacia el NTS, donde las neuronas proyectan ipsilateralmente al núcleo parabraquial posteromedial (PBN), que se activa por la estimulación visceral y gustativa (Bermúdez-Rattoni y Yamamoto, 1998). También las fibras alcanzan al núcleo parabraquial dorsolateral (PBMD) en el mesencéfalo, esta estructura envía proyecciones al hipocampo lateral, el núcleo del lecho de la estría terminal y la amígdala, así como a la parte parvocelular del núcleo ventral posteromedial del tálamo (VPM); para finalmente, transmitir la información hacia el área gustativa de la corteza insular (CI) (Figura 5) (Bures et al., 1998; Bermudez-Rattoni, 2004).

Otras estructuras también involucradas en la memoria gustativa, pero que han sido menos estudiadas, son el hipotálamo (Touzani y Sclafani, 2002), la corteza prefrontal (Hernadi et al. 2000) y la corteza perirrinal (Sewards y Swards, 2001).

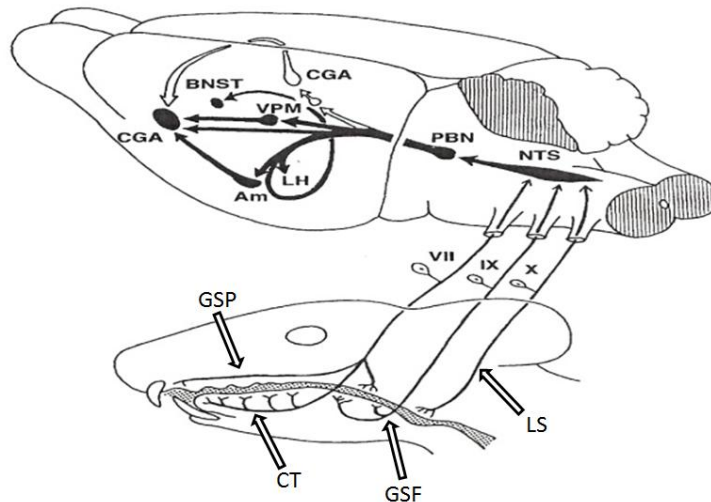


Figura 5.- Vías gustativas en la rata. El VII par craneal (facial), incluyendo la cuerda del tímpano (CT) y el nervio petroso (GSP); el IX par craneal o glossofaríngeo (GSF), El X par craneal (nervio vago) laríngeo superior, inerva la laringe superior (LS). Abreviaturas: NTS.- Núcleo del tracto superior, PBN.- Núcleo parabraquial, VPM.- Núcleo ventromedial posteromedial del tálamo; CGA.- Área gustativa de la corteza insular. BNST.- Estría terminal; HL.- Hipotálamo lateral; AM.- Amígdala ipsilateral. Proyecciones ipsilaterales en negro y contralaterales en blanco (Modificado de Bures et al., 1998).

2.9 Núcleo accumbens (NAc)

El NAc se encuentra localizado en la parte rostrbasal del cerebro medio y en base a estudios anatómicos de organización se ha dividido en tres: Parte medial, lateral y rostral (en Ingles estas divisiones del NAc se conocen como shell, core y rostral) (Zahm, 2000; Brundege y Williams, 2002). El NAc es una región del cerebro relacionada con la motivación, recompensa, alimentación y la adicción a drogas. Por lo tanto, además el NAc es una estructura asociada con el desarrollo de conductas relacionadas a estímulos placenteros o de desagrado y de recompensa, al estrés, novedad de los estímulos, además de una importante función durante la acción de ciertas drogas de abuso como la cocaína, que actúan incrementando la liberación de dopamina (DA) en el NAc. Varios experimentos han demostrado que al administrar estos narcóticos, se inducen cambios importantes en las espinas dendríticas en el NAc y la corteza prefrontal que afectan significativamente a los procesos de la memoria (Robinson y Kolb, 1997; Robinson et al., 2001).

En algunos estudios se ha demostrado que existe una interacción colinérgica y dopaminérgica entre algunas estructuras como el estriado y el núcleo ventral tegmental (VTA) (Klawans y Rubovits, 1972; McGeer, 1961; Pycock et al., 1978; Wolfarth, 1973). El NAc tiene una organización similar y por lo tanto la interacción entre DA y ACh en el NAc está relacionada (Butcher, S. y Butcher, L., 1974; Cheney, 1975; Hoover, Mulh y Jacobowitz, 1978 y Biederman, 1974).

Varias investigaciones han reportado que el NAc participa en la adquisición y la consolidación (Setlow, 1997). Se ha comprobado que el bloqueo de receptores NMDA (N-metil-D-aspartato) de glutamato en el NAc, afecta la adquisición, pero no se ve efecto en la consolidación (Martínez et al., 2002).

Actualmente existe suficiente evidencia que señala que el NAc participa en procesos asociativos. Por ejemplo, se sabe que la presentación de un estímulo gustativo asociado a un malestar gástrico, produce un incremento en los niveles de liberación de ACh, sugiriendo una participación del NAc en la consolidación de la memoria (Mark et al., 1995), Young y colaboradores (1998) proponen que la liberación de DA en el NAc aumenta con la presencia de estímulos que son asociados entre sí o cuando se forma un condicionamiento. Se ha demostrado que el NAc participa en la etapa de consolidación de la memoria (Hernández et al., 2002).

Es importante resaltar que en el condicionamiento clásico, al aplicar un estímulo neutro como el sonido de una campana o de una luz (auditivo o visual) normalmente no produce un cambio en los niveles de DA en el NAc, pero cuando estos estímulos son asociados con un choque eléctrico, la sola presentación del estímulo, incrementan los niveles de DA en el NAc medial (Young et al., 1993; Young et al., 1998). Asimismo, se asoció un estímulo neutro con un choque eléctrico, los niveles de DA incrementaron significativamente en el NAc lateral (Pezze et al., 2001). Mark y sus colaboradores encontraron que la inyección de sacarina intraoral provocaba un aumento en la liberación de DA, pero en presencia de un estímulo aversivo la

liberación disminuía (Mark et al., 1991). Recientes estudios han demostrado que el sistema dopaminérgico en el NAc medial participa en la formación de la memoria aversiva gustativa ya que al bloquear los receptores D1 se impide la adquisición del CAS (Fenu et al., 2001), el papel del NAc medial es consistente por el hecho de que esta área recibe proyecciones gustativas de la corteza insular granular y la amígdala basolateral (BLA) y los transmite al núcleo parabraquial y núcleo del tracto solitario (NTS) (Heimer et al., 1991).

Existen varias estructuras que pueden estar modulando la actividad del NAc (Figura 6), por ejemplo la BLA tiene proyecciones glutamatérgicas hacia el NAc (Kelley y Domesick, 1982; Robinson y Beart, 1988; Wright y Groenewegen, 1996), la estimulación del núcleo de la BLA incrementa la liberación de DA en el NAc, esto se puede bloquear por antagonistas glutamatérgicos en el NAc (Louilot et al., 1985; Howland et al., 2002).

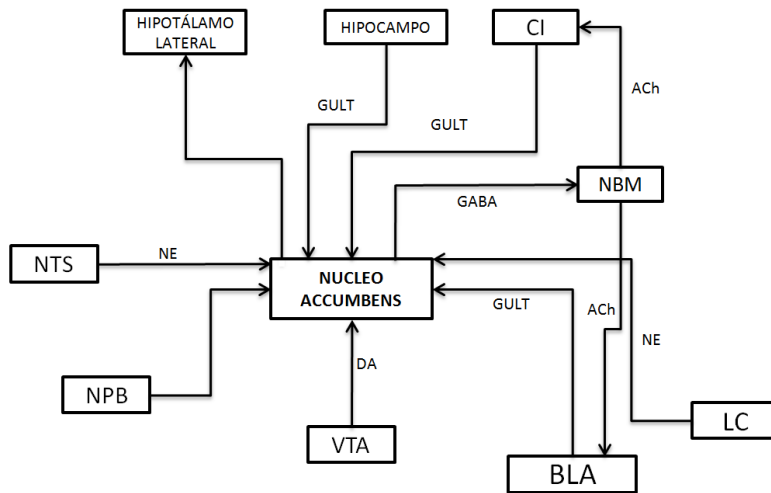


Figura 6. Estructuras con las que el NAc comparte proyecciones. Recibe proyecciones noradrenérgicas de locus coeruleus (LC) y del núcleo del tracto solitario (NTS) (Pennartz et al., 1994), glutamatérgicas desde la amígdala basolateral (BLA) y la corteza insular (CI) (Zahm y Heimer, 1993) además del Hipocampo (Pennartz et al., 1994), también recibe proyecciones dopaminérgica del área tegmental ventral (VTA) (Zahm y Heimer, 1993). Algunas proyecciones q salen del NAc terminan en el hipotálamo lateral, (Zahm y Heimer, 1993), debido al circuito NAc-NBM-Corteza se sabe que el NAc tiene proyecciones GABAérgicas hacia el NBM (Sarter et al., 1999; Arnold et al., 2000), del NBM van proyecciones colinérgicas a la BLA y CI (Bermúdez-Rattoni, 2004). El núcleo parabraquial (NPB) modula la actividad del NAc a través de conexiones al VTA (Hajnal, 2005).

2.10 Sistema dopaminérgico

Los neurotransmisores son sustancias que tienen la capacidad de iniciar transmisiones sinápticas en el sistema nervioso. Son considerados neurotransmisores, aquellos que se producen y almacenan dentro de neuronas y pueden liberarse mediante una señal eléctrica, se localizan en terminales presinápticas y son liberados selectivamente hacia el espacio sináptico mediando eventos presinápticos. Los neurotransmisores interactúan con receptores de células presinápticas o postsinápticas, los efectos de las células pueden ser prevenidos por antagonistas y facilitados por agonistas específicos, los cuales imitan la acción del neurotransmisor, por último los neurotransmisores son inactivados rápidamente después de su liberación, tal inactivación esta mediada por enzimas o mecanismos de recaptura (Bohlen y Dermietzel, 2002).

La dopamina (DA) (3, 4-dihydroxyphenethylamine o 3-hydroxytyramine) (Figura 7) intermediario en la síntesis de epinefrina y precursor de otras catecolaminas, se sintetizó por primera vez en 1910, pero no es hasta 1958 que fue reconocida como un neurotransmisor y se detectó por primera vez en el sistema nervioso central (SNC) (Robbins, 1992). Con el paso del tiempo se le ha dado mayor importancia, la DA ha sido encontrada abundantemente en la sustancia nigra y en el estriado, regiones del cerebro donde la epinefrina (que forma parte de la familia de las catecolaminas) está ausente; esta distribución sugiere que está involucrado en procesos neurodegenerativos como el alzhéimer, párkinson, esquizofrenia y dependencia a drogas como la cocaína y anfetaminas (Robbins, 1992, Feldman, 1997; Bohlen y Dermietzel, 2002). Además participa en funciones como actividad locomotora, la afectividad, regulación neuroendocrina e ingestión de agua y alimentos (Fibiger, 1993, Jackson y Westlind, 1994). El sistema dopaminérgico comprende tres clases de neuronas: las de proyecciones ultracortas, proyecciones cortas y de proyecciones largas, estas pueden estar asociadas a distintas estructuras (Figura 8) (Bohlen y Dermietzel, 2002).

La DA es sintetizada en el citoplasma, de aquí puede ser liberada directamente al espacio sináptico o transportarse mediante vesículas para ser liberada por exocitosis (Bohlen y Dermietzel, 2002).

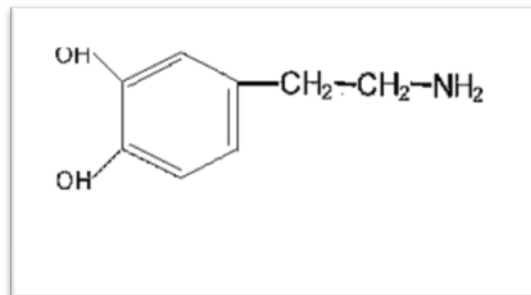


Figura 7. Estructura química de la dopamina. 3, 4-dihydroxyphenethylamine (extraído de Bahena, Flores y Arias, 2000).

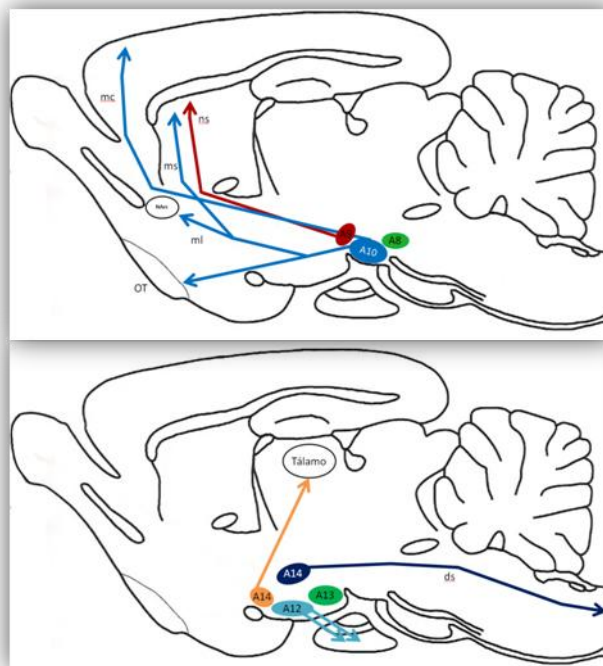


Figura 8. Proyecciones principales del sistema Dopaminérgico en cerebro de rata. Abreviaciones: A8, área retrorubal; A9, sustancia nigra; A10, VTA; A11, hipotálamo posterior; A12, núcleo arqueado del hipotálamo; A13, zona incerta; A14, núcleo paraventricular del hipotálamo; ds, diencéfalo-espinal; mc, área mesocortical; ml, área mesolimbica; ms, área mesoestriatal; NAc, núcleo accumbens; ns, nigro-estriatal; OT, bulbo olfatorio; ts, área tuberoinfundibular (Modificado de Bohlen y Dermietzel, 2002).

La DA no es capaz de atravesar la barrera hematoencefálica, se sintetiza a partir de la tirosina, la síntesis de la DA se lleva a cabo en terminales nerviosas y en dos pasos, en el primero la tirosina es catalizada por la oxidasa tirosina hidroxilasa (TH) y se obtiene L-dihidroxiifenilalanina o L-DOPA, después L-DOPA se transforma a dopamina por DOPA-desecarboxilasa (Figura 9) (Bohlen y Dermietzel, 2002; Bahena, Flores y Arias, 2000).

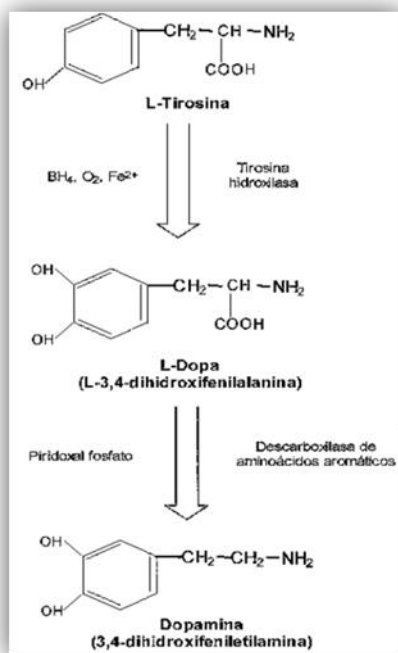


Figura 9. Síntesis de dopamina. La hidroxilación del aminoácido L-Tirosina es llevada a cabo por la enzima Tirosina Hidroxilasa (TH), mediante el cofactor tetrahidropterina adiciona un grupo hidroxilo para formar L-DOPA, precursor directo de la DA. (Nagatsu, Levitt y Underfriend, 1964; Levitt, 1965) (Extraído de Bahena, Flores y Arias, 2000).

Su síntesis está regulada por diversos mecanismos, por ejemplo si hay un exceso de DA u otras catecolaminas (norepinefrina o epinefrina) se inhibe la acción de la TH, en contraste neuromoduladores como VIP pueden activar esta oxidasa. DA puede ser degradada por la actividad de la monoamina oxidasa (MAO) y por medio de la aldehído-dehidrogenasa a ácido dihidroxiifenilactico o DOPAC, también puede ser metabolizada la DA por la actividad de cateco-O-metiltransferasa (COMT) (Figura 10) (Bohlen y Dermietzel, 2002; Bahena, Flores y Arias, 2000).

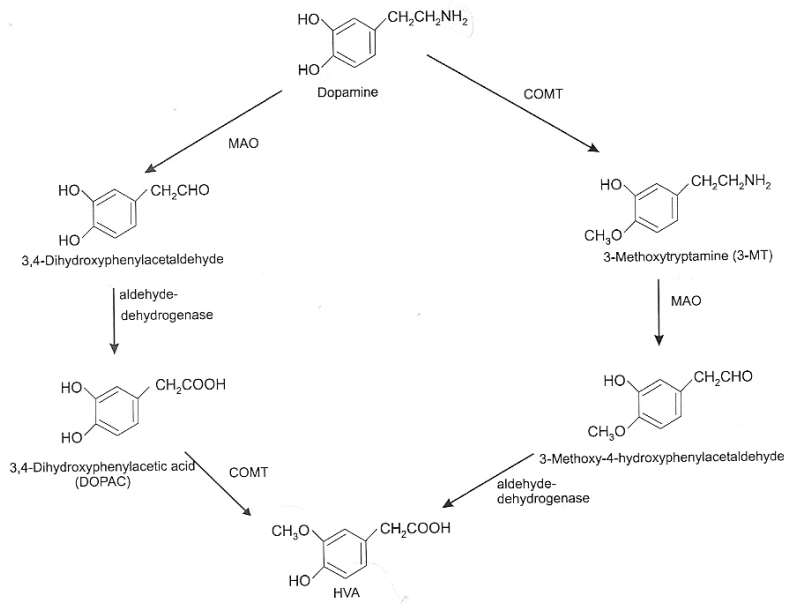


FIGURA 10. Degradación de dopamina. La dopamina puede ser degradada por dos vías, una por la actividad de la monoamina oxidasa (MAO) que tiene como resultado ácido dihidroxifenilacético (DOPAC), catecol-O-metiltransferasa (COMT) actúa sobre DOPAC para obtener ácido homovanílico (HVA). Otra vía es por la activación de COMT, su interacción con la DA se deriva en 3-metoxitriptamina (3-MT) que al interaccionar con MAO se obtiene HVA. (Extraído de Bohlen y Dermietzel, 2002).

La síntesis de dopamina puede estar modulada también por receptores que no son dopaminérgicos, por medio de la estimulación de la TH mediante receptores A2 para adenosina (Chowdhury y Fillenz, 1991), receptores NMDA para glutamato (Chowdhury y Fillenz, 1991; Arias, Martínez y Aceves, 1992a), y la inhibición de los receptores GABA (Arias, Martínez y Aceves, 1991; Arias, Martínez y Aceves, 1992b).

Una vez liberada la DA al espacio extracelular se une a receptores presinápticos y postsinápticos, el efecto del neurotransmisor se debe a su captura por la terminales nerviosa que lo liberaron (Cooper, Bloom y Roth, 1996). Existe un transportador específico para la dopamina el cual tiene una función importante en inactivar y reciclar la liberación de DA. El transportador es una glicoproteína que contiene 619 aminoácidos (figura 11), acumula la DA extracelular en las terminales presinápticas, el proceso consiste en transportar la DA dentro de la célula lo que depende de dos iones de Ca^{+} y Cl^{-} , además regula la vida media de la DA en el espacio intersináptico. Este mecanismo es

muy eficiente ya que de la DA liberada se puede recapturar un 80% (Bohlen y Dermietzel, 2002; Attwell y Mobbs, 1994).

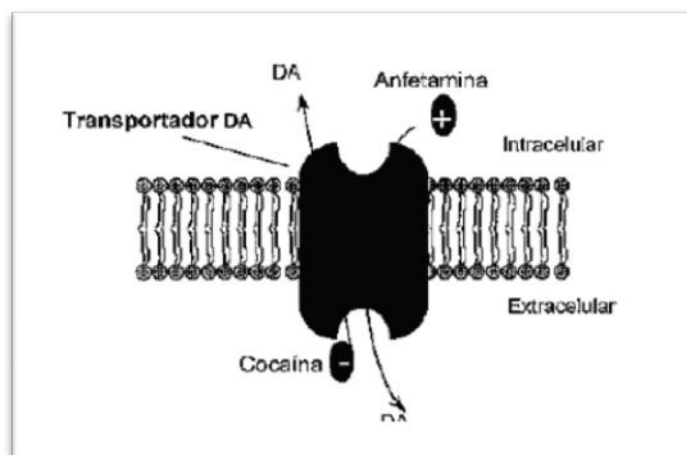


Figura 11. Recaptura de dopamina. La cocaína aumenta los niveles de DA, bloquea la recaptura. Las anfetaminas incrementan la liberación y síntesis de la DA (Feldman, Meyer, y Quenzer, 1997). La entrada de DA depende de la presencia de Na⁺ y Cl⁻ (extraído de Bahena, Flores y Arias, 2000).

Se han reportado dosis de DA (40µg/µl) que al administrarlas en el NAC tienen efectos significativos (Swerdlow et al., 1990a, b).

2.10.1 Haloperidol

El haloperidol (HAL), es un antagonista de los receptores tipo D2 que se utiliza como antipsicótico, inhibe los receptores D2 a través de la activación de proteínas Gi (Stoof y Keabian, 1981). En algunas estructuras induce el cAMP dependiente de proteínas kinasas A (PKA), e inhibe la proteína fosfatasa-1 (PP-1), proteína que regula a la DA, además se ha propuesto que afecta en la transcripción de genes (Bertran-Gonzalez et al, 2009; Konradi and Heckers, 1995; Li et al, 2004; Pozzi et al, 2003). Se ha comprobado que al utilizar dosis de haloperidol (1µg/µl) los animales no resultan afectados por catalepsias o acinesias (Costall and Naylor, 1974; Jain et al., 1988; Tschanz and Rebec, 1988). En algunos experimentos donde administran agonistas dopaminérgicos interrumpen la tarea de inhibición latente en la tarea del CAS y se ha

comprobado que la administración de HAL restablece la formación del paradigma del CAS (Russig, et al., 2003).

2.11 Receptores

Un receptor se define como una molécula o un arreglo molecular que reconoce específicamente un ligando (agonista-antagonista), y tienen como resultado una respuesta celular (Humphrey, 1997). Existen receptores dopaminérgicos presinápticos que se encargan de la activación o inhibición de la síntesis de DA, a estos se les llama autorreceptores (Bohlen y Dermietzel, 2002). En la década de los 70's se estudio la distribución de los receptores dopaminérgicos y se encontró que hay dos tipos de receptores: D1 y D2 (Kebabian, 1979). Los D1 se dividen en receptores D1 y D5, acoplados a proteínas Gs y activan la formación de adenilato ciclasa (AMPc), los D2 consisten en D2, D3 y D4, inhiben la formación de AMPc y activan canales de K⁺ efectos mediados por proteínas Gi y Go, los autorreceptores pertenecen a la familia D2 (Bohlen y Dermietzel, 2002; Bahena, Flores y Arias, 2000). Todos los receptores dopaminérgicos tienen 7 dominios transmembranales de 20 a 25 residuos hidrofóbicos y están acoplados a sistemas de transducción intracelulares por proteínas G (figura 12) (Schwartz et al., 1987).

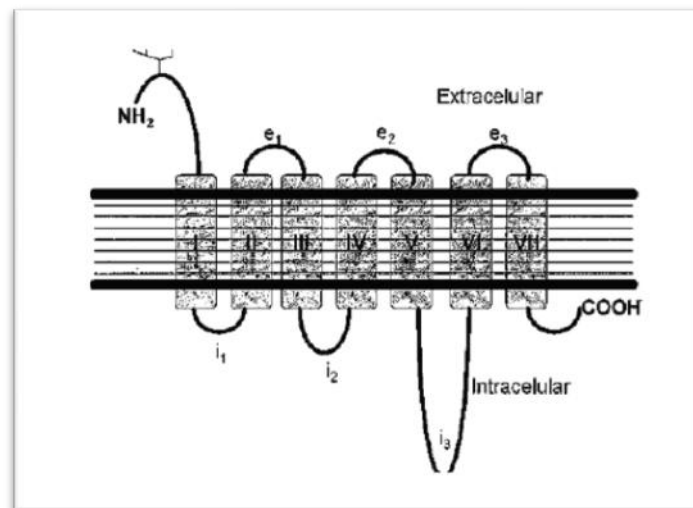


Figura 12. Estructura de receptores a dopamina. Cuentan con 7 dominios transmembranales, 3 asas citoplasmáticas, i_1 , i_2 , i_3 ; y asas extracelulares, e_1 , e_2 , e_3 ; cuentan con un extremo amino terminal, NH_2 ; y un extremo carboxilo terminal, $COOH$ (extraído de Bahena, Flores y Arias, 2000).

Se ha demostrado que agonistas a receptores dopaminérgicos disminuyen la síntesis de dopamina (Hetey et al., 1985, Onali y Olanas, 1989), actuando sobre autorreceptores (D2), la activación de receptores de la familia D2 reducen la liberación de DA (Dwonskin y Zhaniser, 1986; Onali y Olanas, 1988), lo que puede estar ocurriendo es lo que al activar receptores D2 se inhibe la producción de AMPc y la apertura de canales de Ca⁺, al disminuir la formación de AMPc disminuye la actividad de la PKA que fosforila a las sinapsinas I y II (Südhof, 1995) y por lo tanto las vesículas con el neurotransmisor se mantienen unidas al citoesqueleto, la apertura de canales de Ca⁺ en pocas palabras están evitando el potencial de acción disminuyendo la probabilidad de fusión de las vesículas (Valentijn, 1993), además se sabe que el receptor subtipo D3 podría ser responsable de la síntesis y liberación de la dopamina (Gobert et al., 1996; Whetzel).

2.11.1 Familia D1

Como ya se ha mencionado la familia D1 está conformada por los subtipos D1 y D5 los cuales cuentan con una región carboxilo terminal que es en proporción 7 veces más larga que el de los receptores de la familia D2, esta región muestra residuos de serina y treonina que son susceptibles a fosforilación por cinasas como la PKA y PKC, además tiene una región i₃ corta (Jackson y Westlind, 1994).

2.11.1.1 Receptores D1

Se encuentran en niveles altos en estructuras como: el estriado, amígdala, tálamo, el mesencéfalo, el hipotálamo, el rombencéfalo, en el *núcleo accumbens*, también se encuentran escasos en la formación hipocampal, la región septal, el área tegmental ventral y el colículo inferior (figura 13), está compuesto de 446 aminoácidos (Jackson y Westlind, 1994). Estos receptores muestran una afinidad baja por la DA.

Están bien definidos los agonistas y antagonistas para este el subtipo de receptores D1 (ver Figura 14) (Missale et al., 1998; Watling et al., 1995).

Subtipo	Familia D ₁		Familia D ₂		
	D ₁	D ₅	D ₂	D ₃	D ₄
Secuencia Codificada	446 a.a.	477 a.a.	D2a443 a.a. D2b444 a.a.	400 a.a.	387 a.a.
Intrones	No	No	Sí	Sí	Sí
Localización Cromosomal	5q 35.1	4p 15.1-16.1	11q 22-23	3q 13.3	11p 15.5
Tamaño del RNAm	3.8 kb	3 kb	2.5 kb	8.3 kb	5.3 kb
Regiones de alta Densidad	Neoestriado SNr	Hipotálamo Hipocampo	Noestriado	Paleoestriado	Corteza frontal
Autorreceptor	No	?	No	Sí	?
Adenilil ciclasa	Estimulación	Estimulación	Inhibición	Inhibición?	Inhibición?
Efector	G α s	G α s	G α i/o	G α i/o	G α i/o
Otras Respuestas Bioquímicas	↑Fosfolipasa C ↑PKA		↑Canal de K ⁺ ↓Canal de Ca ²⁺ ↑Fosfolipasa C	↑Fosfolipasa C ↑Intercambiador de Na ⁺ /H ⁺	↑ Intercambiador de Na ⁺ /H ⁺

Figura 13. Características estructurales de los receptores dopaminérgicos. Abreviaturas: a.a., aminoácidos; G α s, proteína G estimuladora; G α i, proteína G inhibidora; G α o, proteína G tipo O; kb, kilobases; PKA, cinasa A de proteína; K_j, constante de inhibición (extraído de Bahena, Flores y Arias, 2000).

Subtipo	Familia D ₁		Familia D ₂		
	D ₁	D ₅	D ₂	D ₃	D ₄
Afinidad por DA	μ M	Submicromolar	μ M	nM	Submicromolar
Agonistas selectivos	SKF-38393	SKF-38393	Quinpirole Fenoldopam	Bromocriptina	?
K _i (nM)					
Dopamina	2000	250	2000	30	450
Apomorfina	700	400	70	70	4
Bromocriptina	700	500	5	7	300
Quinpirole	1400		1400	40	50
SKF-38393	150	100	10000	5000	10000
Antagonistas Selectivos	SCH-23390	SCH-23390	Haloperidol, Fármacos antipsicóticos	UH232	Clozapina
K _i (nM)					
Haloperidol	30	40	0.6	3	5
Sulpiride	40000	80000	10	20	50
SCH-23390	0.3	0.3	1000	1000	3500
Espiperona	350	3500	0.06	0.6	0.08
Risperidona	-	-	5	7	7
Raclopride	18000	-	1.8	3.5	2400
Radioligandos	[³ H]SCH-23390 (0.2nM)		[³ H]YM091512 (0.1nM)	[³ H]7-OH-DPAT	

Figura 14. Características farmacológicas de los receptores dopaminérgicos. Abreviaturas: a.a., aminoácidos; G α s, proteína G estimuladora; G α i, proteína G inhibidora; G α o, proteína G tipo O; kb, kilobases; PKA, cinasa A de proteína; K_j, constante de inhibición (extraído de Bahena, Flores y Arias, 2000).

2.11.1.2 Receptores D5

Se expresa con menor intensidad que los D1 y se localiza en el hipocampo y los núcleos lateral mamilar y parafasicular del tálamo (Jaber et al., 1996). Es más a fin a la DA que los D1 y responde a los mismos antagonistas y agonistas, está formado por 475 en rata y 477 en humano de aminoácidos (figura antagonistas) (Bohlen y Dermietzel, 2002; Bahena, Flores y Arias, 2000).

2.11.2 Familia D2

La familia D2 está conformada por los subtipos D2, D3 y D4, estos tienen una región i_3 muy larga, estas regiones son típicas de la inhibición de la adenilil ciclasa y por lo tanto del AMPc por la activación de proteínas G_i , esta familia es rica también en residuos de serina y de treonina, estos pueden ser fosforilados por cinasas de proteína regulando así el acople a proteínas G (Figura 15) (Strader y Sigal, 1989; Sibley, 1987).

2.11.2.1 Receptores D2

Existen dos formas de este receptor, la corta que es D2s conformada por 415 aminoácidos (humano) y 415 (rata), la forma larga tiene 443 444 aminoácidos respectivamente (Jackson y Westlind, 1994). Su distribución es amplia igual que los D1 (Bohlen y Dermietzel, 2002), se detecta en alta densidad en el neocórtex, tubérculo olfatorio, formación hipocampal, *núcleo accumbens*, las islas de calleja y el área tegmental ventral. El receptor D2 muestra poca afinidad por la DA, el raclopride, un antagonista muestra selectividad por los receptores D2 y D3 (Missale et al., 1998; Seeman y VanTol, 1994). Los D2 pueden modular corrientes iónicas inhibiendo canales de Ca^{+} o facilitando la apertura de canales de K^{+} mediante proteínas G_i (Lledo et al., 1992; Akaoka, 1992; Jaber, 1996).

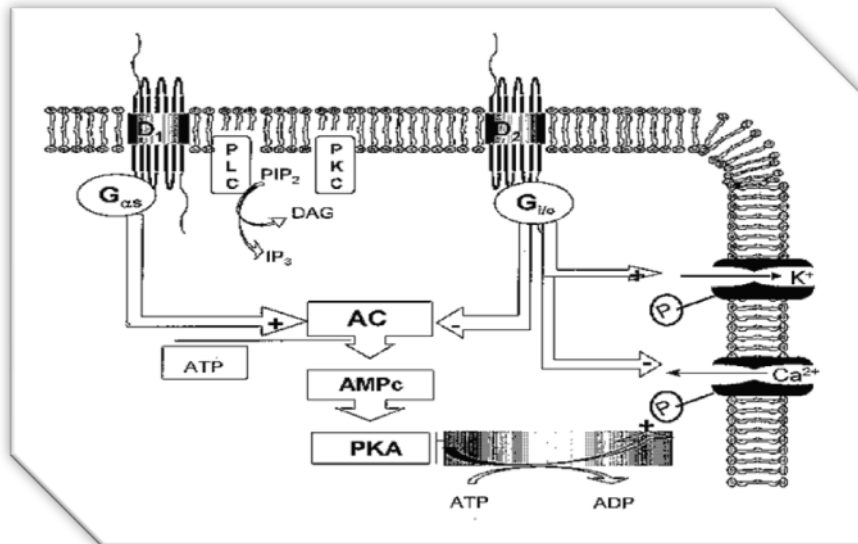


Figura 15. Transducción de señales de los receptores dopaminérgicos de las familias D1 y D2. Abreviaturas: D1 y D2 de receptores dopaminérgicos. Abreviaturas: AC, adenilil ciclasa; AMPc, monofosfato cíclico de adenosina; ATP, trifosfato de adenosina; ADP, difosfato de adenosina; DAG, diacilglicerol; IP3, 1,4,5-trifosfato de inositol; PIP2, 4,5-difosfato de fosfatidilinositol; PKA, cinasa de proteína activada por AMPc; P, fosforilación; PKC, cinasa C de proteína. PLC, fosfolipasa C (Bahena, Flores y Arias, 2000).

2.11.2.2 Receptores D3

Sus características farmacológicas y su distribución en el SNC difiere de los D2, se encuentran en densidades medias en estructuras como la corteza parietal y temporal, la formación hipocámpal, el bulbo olfatorio, el neostriado, *núcleo accumbens*, la amígdala, el núcleo subtalámico, la oliva inferior y los lóbulos anterior e intermedio de la hipófisis, en niveles mínimos se encuentran en otras estructuras como sustancia negra compacta, el área tegmental ventral, la corteza Frontal, el cíngulo y el globo pálido. En los humanos consta de 400 aminoácidos y en la rata de 446 (Jackson y Westlind, 1994). Muestra una mayor afinidad por la DA y agonistas a diferencia de los D2.

2.11.2.3 Receptores D4

Los D4 son una cadena de 385 a 387 aminoácidos que muestran homología a los D2 y D3 (Bahena, Flores y Arias, 2000). Se han encontrado en estructuras como el bulbo olfatorio la amígdala, la retina, neostriado-

hipotálamo e hipocampo. Muestra una afinidad intermedia por la dopamina (Jackson y Westlind, 1994; Jaber, 1996; Mansour, 1991).

2.12 Efectos y enfermedades relacionadas con la dopamina

Existen varias enfermedades que están estrechamente relacionadas con la dopamina, una de ellas es la Enfermedad del Parkinson (EP), en la EP comienzan a desaparecer las neuronas dopaminérgicas en el sistema nigroestriado, las terminales axónicas comienzan a degenerarse, por lo tanto disminuyen los niveles de DA y poco a poco desaparece la comunicación dopaminérgica. Debido a que esta enfermedad recae en la sustancia negra que forma parte de los ganglios basales se ven afecciones como el mantenimiento de posturas del cuerpo y algunos movimientos. Dentro del tratamiento farmacológico para el P usado comúnmente es el L-DOPA, precursor de la DA, este fármaco cruza la barrera hematoencefálica, es administrado en conjunto con agonistas para los receptores de la Familia D2, así mismo se pueden administrar por ejemplo inhibidores de la MAO-B, inhibidores de la COMT, anticolinérgicos y agonistas a DA (Richardson y Adams, 1982; Bahena, Flores y Arias, 2000).

La esquizofrenia está relacionada con una hiperactividad del sistema dopaminérgico, la administración de agonistas para receptores D2 han sido útiles en el tratamiento farmacológico (Jaber, 1996). Algunos síntomas de la esquizofrenia son la euforia y alucinaciones auditivas, esto puede ser causado por la administración de anfetaminas (Goldstein y Detuch, 1992). Se ha observado un aumento en la densidad de receptores de la familia D2 y del subtipo D4 en el núcleo caudado y putámen, pero disminución en los D3 en corteza cerebral, aunque otros resultados indican que el receptor D4 no cambia (Seeman y Nizkik, 1990; Seeman, Guan y VanTol, 1993; Schmauss, Haroutunian y Davis, 1993), por otro lado estudios de tomografía por emisión de positrones no muestran una relación entre la esquizofrenia y los receptores (Farde et al., 1990).

La epilepsia es otro trastorno relacionado con la hipoactividad del sistema dopaminérgico a nivel mesolímbico, se sabe que con la administración de agonistas para receptores D2 se tienen reacciones anti-convulsivas, y agonistas a los receptores D1 disminuye el umbral de convulsiones (Starr, 1996).

La DA se ha relacionado con conductas motivacionales como son el reforzamiento y la recompensa, el mecanismo de autoestimulación tiene como mecanismo proyecciones ascendentes del VTA al NAc, por lo tanto la administración de anfetaminas y otros fármacos como cocaína, morfina y nicotina incrementan la actividad dopaminérgica en áreas que implican la emotividad, como por ejemplo, la morfina estimula un sistema opioide que se encuentra en el VTA y de esta manera se libera DA, que puede activar a su vez al NAc o a la CI (Feldman, Meyer y Quenzer, 1997).

Se sabe que la DA está relacionada con el proceso de formación de la memoria (Wise et al., 1978), así como el aprendizaje asociativo entre un estímulo y la recompensa (aprendizaje Pavloviano), entre las respuestas y reforzadores (aprendizaje instrumental), así como entre estímulos y no consecuencias (Hábito de aprendizaje; Mackintosh, 1983; Dickinson and Balleine, 1994).

La DA afecta el aprendizaje asociativo (aversivo o apetitivo) actuando antes de la presentación del estímulo incondicionado o aversivo, por lo tanto la DA puede estar facilitando la asociación entre estímulos (Wise, 1982; Fenu, 2001).

3. JUSTIIFICACIÓN

Se sabe que el NAc es una estructura que forma parte del circuito incentivo-motivacional y controla respuestas apetitivas y/o de estímulos aversivos; recibe proyecciones de diversas estructuras que se ven involucradas en el proceso de la memoria. También, se conoce que al bloquear receptores D1 se afecta la adquisición del CAS, es por eso que en este trabajo se

investigó la participación de las dos familias de receptores a dopamina, y el bloqueo de receptores D2 en el proceso de formación de la memoria aversiva del sabor (Fenu et al., 2001; Louilot et al., 1985; Howland et al., 2002; Kelley y Domesick, 1982; Robinson y Beart, 1988; Wright y Groenewegen, 1996). Por otro lado el CAS ha sido un método fuertemente utilizado para estudiar como la DA está participando en el NAc, Mark y colaboradores (1991 y 1995) han demostrado que la DA disminuye cuando un estímulo novedoso se asocia con un malestar gástrico mediante la infusión de sacarina intraoral, controlando la cantidad del consumo, por otro lado Russig y colaboradores demostraron que al administran agonistas dopaminérgicos se interrumpe la inhibición latente en la tarea del CAS y se ha comprobado que la administración de HAL restablece la formación del paradigma del CAS, estos autores han utilizado distintos métodos que conllevan la aplicación del CAS, es por eso que en este trabajo se utilizará un CAS más robusto para conocer el papel de la DA en el NAc.

4. HIPÓTESIS

La activación de los receptores dopaminérgicos mediante agonistas y antagonistas en el NAc mediante la aplicación de un CAS robusto modula la formación y evocación de la memoria de aversión al sabor, pero la inactivación de los receptores tipo D2, del NAc afectan diferencialmente la formación de la memoria aversiva.

5. OBJETIVOS

5.1 General.

Conocer la participación de los receptores a dopamina en el núcleo accumbens durante la formación y la evocación de la memoria aversiva del sabor.

5.2 Específicos.

1. Determinar el efecto de la administración de dopamina, sobre los receptores dopaminérgicos en el núcleo accumbens, antes de la adquisición de la aversión al sabor.
2. Determinar el efecto de la administración de dopamina acidificada, sobre los receptores dopaminérgicos en el núcleo accumbens, antes de la adquisición de la aversión al sabor.
3. Determinar el efecto de la administración de dopamina, sobre los receptores dopaminérgicos en el núcleo accumbens, antes de la evocación en la memoria de aversión al sabor.
4. Determinar el efecto de la administración del antagonista haloperidol a receptores dopaminérgicos en el núcleo accumbens, antes de la adquisición de la aversión al sabor.
5. Determinar el efecto de la administración del antagonista haloperidol a receptores dopaminérgicos en el núcleo accumbens, antes de la adquisición en la memoria de aversión al sabor, utilizando una concentración mayor del fármaco.

6. MATERIAL Y MÉTODOS.

6.1 Sujetos experimentales

Se utilizaron ratas macho Spreague-Dawley, con un peso inicial de 250 a 280 g, que fueron habituadas con un ciclo invertido de luz-oscuridad de 12 horas (9:00 pm a 9:00 am, luz) separadas individualmente en cajas de acrílico (45 x 25 x 20) durante 7 días antes de la cirugía, con acceso a alimento y agua *ad libitum*. Bajo una temperatura controlada de 23 +/- 2 °C. Todos los experimentos se llevaron a cabo durante el ciclo de oscuridad, en un horario de 10:00 am a 2:00 pm.

Todos los protocolos experimentales que se utilizaron fueron aprobados por el Comité de Bioética del Instituto de Neurobiología de la Universidad Autónoma de México (UNAM).

6.2 Cirugía.

Una vez habituados los animales durante 7 días al vivario del laboratorio, fueron sometidos a cirugía, bajo anestesia profunda con una mezcla de ketamina (70 mg/kg) y xilacina (6 mg/kg), 1 ml/kg, vía intraperitoneal (i.p.). Bajo anestesia, se retiró el pelaje de la cabeza, dejando completamente despejada la zona superior del cráneo; con la técnica de esterotáxia se implantaron dos cánulas bilateralmente de acero inoxidable de 12 mm (figura 16), alineadas al NAc siguiendo las siguientes coordenadas y tomando como punto de referencia Bregma: anteroposterior (AP) + 1.5 mm, mediolateral (L) +/- 1.9 mm y dorsoventral (DV) - 4.7 mm, (Atlas de Paxinos y Watson, 2005). Ambas cánulas quedaron 2 mm por arriba del NAc, para no afectar la estructura (Figura 17). Adicionalmente se colocaron dos tornillos sobre el cráneo y, finalmente, éstos y las cánulas se fijaron con acrílico dental, y en las cánulas se colocaron estiletes para evitar su obstrucción.

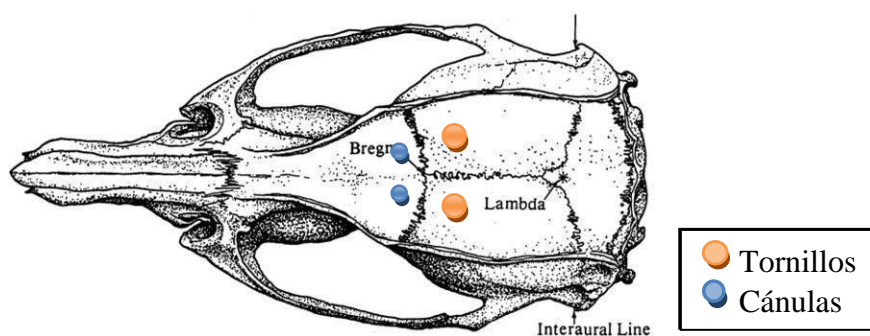


Figura 16. Ubicación aproximada de los tornillos, las cánulas se colocaron de manera precisa mediante coordenadas sobre el NAc.

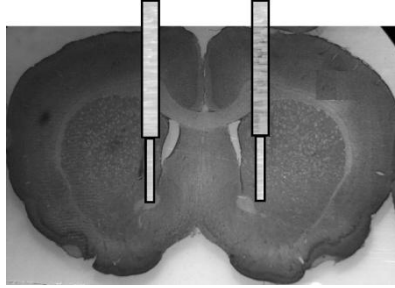


Figura 17. Ubicación de las cánulas de 12 mm, las puntas más delgadas muestran los inyectores que bajan 2 mm más hasta el NAc en cortes coronales.

Al término de la cirugía, los animales recibieron vía oral una gota de clorhidrato de tramadol (Tradol, 100mg/ml), como medida analgésica y se les dio un periodo de recuperación de 7 días.

6.3 Modelo del CAS

Después de la recuperación, las ratas fueron privadas de agua por un periodo de 24 hrs; y se procedió a habituarlas a tomar agua en probetas graduadas por un periodo de 20 min (en el horario de 10:00 am-2:00 pm) por 5 días (línea base); llevando el registro de todos los consumos (mililitros) a lo largo de todo el procedimiento conductual. Terminados los 5 días de habituación los animales se manipularon durante dos días por alrededor de 3 min por rata (1 min de simulación de inyección, 1 min de reposo), al mismo tiempo se revisó que los estiletes estuvieran en su lugar y se movieran con suavidad.

En el día de adquisición del CAS, se presentó sacarina al 0.1 % disuelta en agua destilada (sabor novedoso) en una probeta graduada durante 20 min registrando el consumo igual que la línea base en la bitácora. Después de 30 min se les inyectó cloruro de litio (LiCl) (0.4 M, 3 ml) para provocar una irritación visceral. Un día después se les presentó nuevamente la sacarina (sin inyección de LiCl); el consumo de sacarina con respecto al del día anterior se utilizó como grado de aversión y por lo tanto como grado de aprendizaje.

Adicionalmente, después del día de prueba de evocación del CAS, se continuó con el proceso de extinción, donde se les presentó la sacarina 0.1 % por tres días más pero sin administrar LiCl i.p., de esta manera se cuantificó la extinción de la aversión al sabor y los efectos de la administración de los fármacos en este nuevo-aprendizaje.

6.4 Inyecciones

Para valorar la participación de los receptores dopaminérgicos en el NAc durante la formación del CAS y su evocación se realizaron inyecciones de dos fármacos, dopamina y el antagonista haloperidol. La dopamina se infundió durante la adquisición y durante la evocación (prueba) (Figura 18, 19). El antagonista haloperidol solo se aplicó en la etapa de adquisición (Figura 19). Los grupos utilizados se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Descripción de los grupos experimentales utilizados en el protocolo de aversión al sabor y la etapa en que se infundió el fármaco.

GRUPOS		
FARRMACO	CONTROL	ETAPA
D O P A M I N A	SOLUCIÓN SALINA	ADQUISICIÓN
		EVOCACIÓN
H A L O P E R I D O L	SOLUCIÓN SALINA	ADQUISICIÓN [1mg/ml]
		ADQUISICIÓN [5mg/ml]

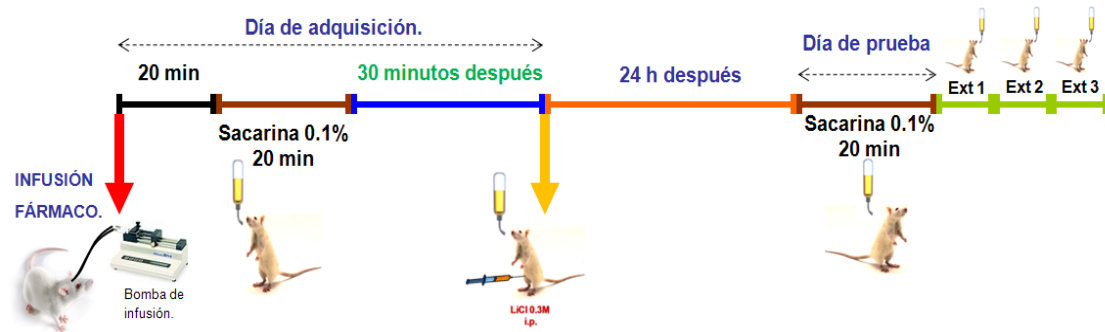


Figura 18. Procedimiento durante el CAS. Se muestran los tiempos en que se presentan los estímulos, cabe señalar que la inyección del fármaco es en el día de adquisición. La flecha roja indica la inyección del fármaco y la flecha amarilla la inyección de LiCl.

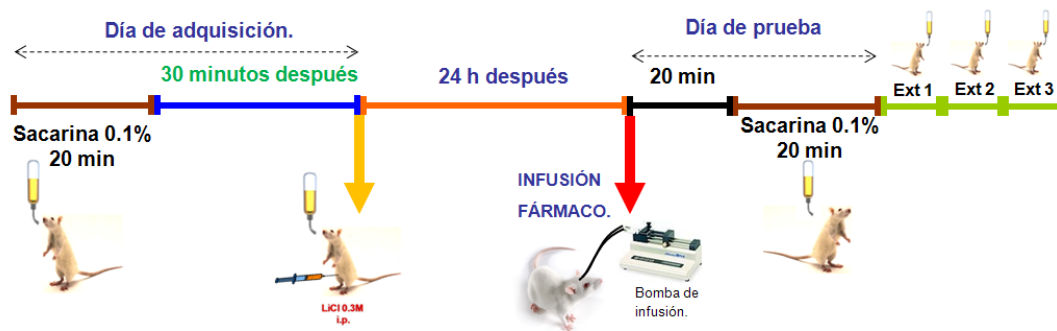


Figura 19. Procedimiento durante el CAS. Se muestran los tiempos en que se presenta los estímulos, cabe señalar que la inyección del fármaco es en el día de prueba. La flecha roja indica la inyección del fármaco y la flecha amarilla la inyección de LiCl.

6.4.1 dopamina.

- ✓ Los grupos control recibieron solución salina fisiológica (0.9%) y el grupo experimental recibió dopamina (40µg/µl) 20 min a una velocidad de 0.5 µl durante 1 min antes de presentar el sabor novedoso en la etapa de *adquisición*.
- ✓ Grupo control que recibió solución salina fisiológica (0.9%) y el grupo experimental recibió dopamina (40µg/µl) 20 min a una velocidad de 0.5 µl durante 1 min antes de presentar el sabor novedoso en la etapa de *prueba*.

6.4.2 haloperidol.

- ✓ El grupo control fue tratado con solución salina fisiológica (0.9%) a la cual se le agregó DMSO (disolvente orgánico) (900 µl/100 µl), al grupo experimental se le infundió haloperidol, antagonista a los receptores D2, se disolvió en DMSO (1µg/µl), y fue infundido a una velocidad de 0.5 µl durante 1 min.
- ✓ Grupo control se le infundió solución salina fisiológica (0.9%) a la cual se le agregó DMSO (disolvente orgánico) (900 µl/100 µl), al grupo experimental se le infundió haloperidol, antagonista a los receptores D2, se disolvió en DMSO en una concentración mayor (5 µg/1 µl) y fue infundido a una velocidad de 0.5 µl durante 1 min.

Para las inyecciones se utilizaron agujas dentales (inyectores) del número 30, con una longitud de 14 mm. Todos los inyectores sobresalieron 2 mm de la cánula para una adecuada inyección en el NAc. Para las inyecciones bilaterales, se utilizaron dos mangueras transparentes de polietileno, unidas por un extremo a los inyectores, y por el otro conectadas a una jeringa Hamilton de 10 µl, impulsadas por una bomba de inyección automática (Stoelting co., Illinois USA), previamente programada para inyectar 0.5 µl/1 min.

Una vez terminada la inyección se dejaron los inyectores 1 min adicional dentro de las cánulas, con la intención de tener una buena difusión; después los animales fueron colocados en sus respectivas cajas.

6.5 Histología

AL término del tercer día de extinción del CAS los animales fueron inyectados con una sobredosis de Pentobarbital (113 mg/kg) i.p. y se perfundieron intracardialmente con solución salina fisiológica (0.9%), para posteriormente por decapitación, extraer los cerebros y colocarlos en solución de formaldehído al 10%. Siete días después se cambió la solución por sacarosa al 30%. Una semana después, los cerebros fueron cortados coronalmente en rebanadas de 50 μm con un micrótomo bajo una temperatura de $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$. Una vez obtenidos los cortes se montaron en portaobjetos (24x60 mm) gelatinizados para posteriormente teñirlos con violeta de cresilo, añadir resina y cubrirlos con un cubreobjetos y dejar secar. Los cortes se examinaron en un estereoscopio para determinar si las cánulas y los inyectores fueron colocados correctamente en el NAc core, solo aquellos ubicados correctamente fueron incluidos en el análisis estadístico (Figura 20).

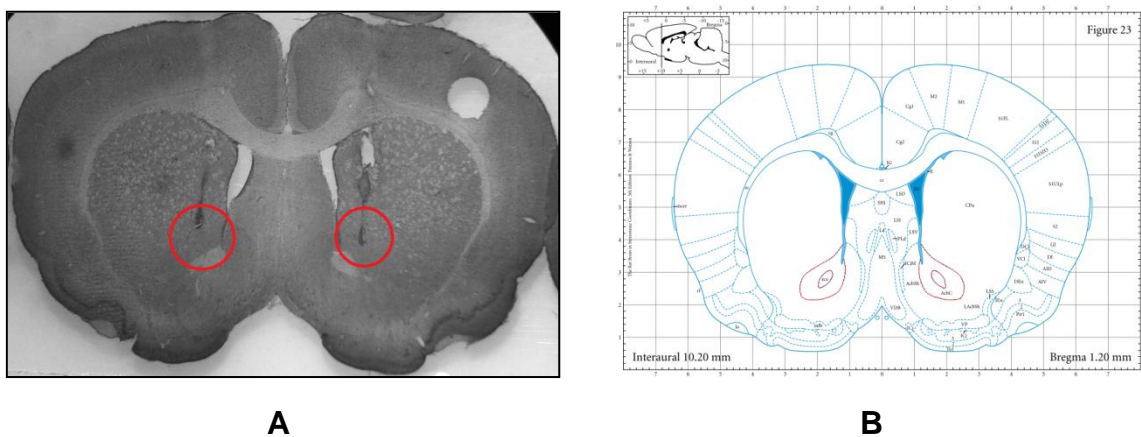


Figura 20. A. Ubicación de los inyectores en el núcleo accumbens en un corte coronal de 50 μm en cerebro de rata indicados por un círculo rojo. B. Los contornos de color rojo muestran la ubicación del núcleo accumbens core, shell y medial en el atlas de Paxinos, AP 1.20 mm a partir de bregma en un corte coronal (Modificado de Paxinos y Watson, 2007).

6.6 Análisis estadístico

Los datos adquiridos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANDEVA) en el programa estadístico Stat View 5.0., se compararon efectos entre grupos control y grupos experimentales de acuerdo al consumo de agua y/o sacarina.

7. RESULTADOS

7.1 Administración de dopamina.

1. Análisis de dopamina antes de la adquisición del CAS.

Los resultados obtenidos de los animales tratados con inyecciones de DA en el NAc antes de la adquisición del CAS no mostraron un efecto significativo en los consumos el día de prueba. Ambos grupos se comportaron igual (Figura 21).

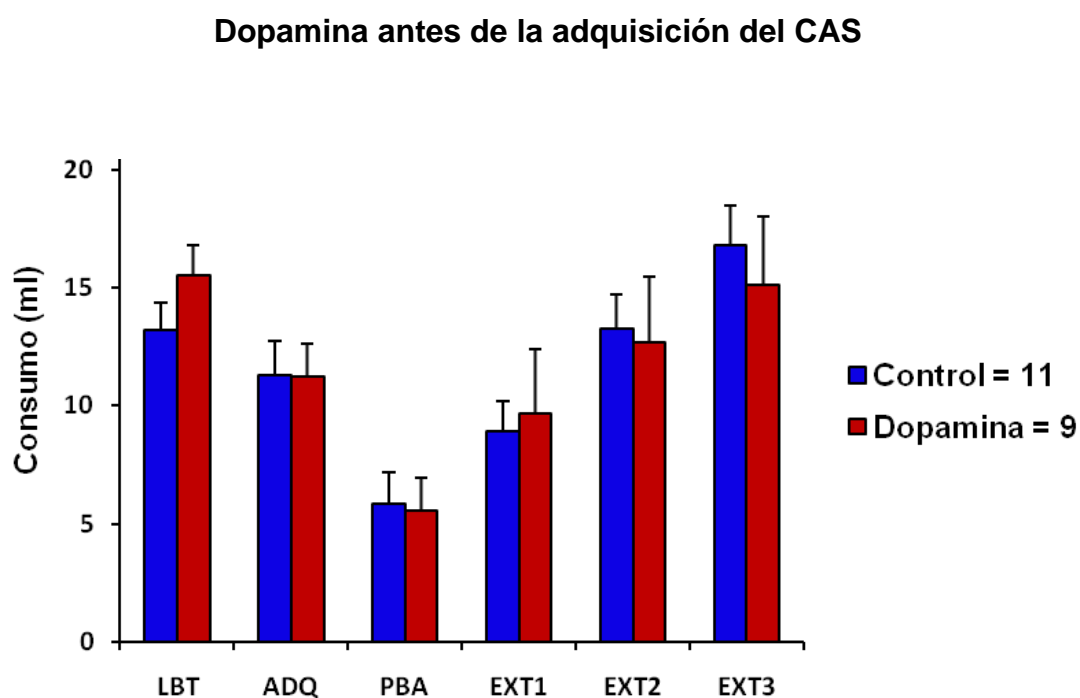


Figura 21. Administración de dopamina 20 min antes de la adquisición del CAS. En el eje de las abscisas se encuentran los diferentes días en que se presentaron las soluciones en probetas graduadas. En el eje de las ordenadas se muestran en ml los consumos de los animales. Las barras azules muestran la media de los consumos del grupo control infundidos con solución salina, las barras rojas muestran la media de los consumos del grupo tratado con dopamina. LBT, Línea basal total; ADQ, Adquisición; PBA, Prueba; EXT1, EXT2, EXT3, Días de extinción. Control n = 11, Dopamina n = 9

2. Análisis de dopamina acidificada antes de la adquisición del CAS.

Los resultados obtenidos de las inyecciones de DA acidificada en el NAc antes de la adquisición del CAS no mostraron un efecto significativo en los consumos del día de prueba. No hay diferencia en el comportamiento de los grupos (Figura 22).

Dopamina acidificada antes de la adquisición del CAS

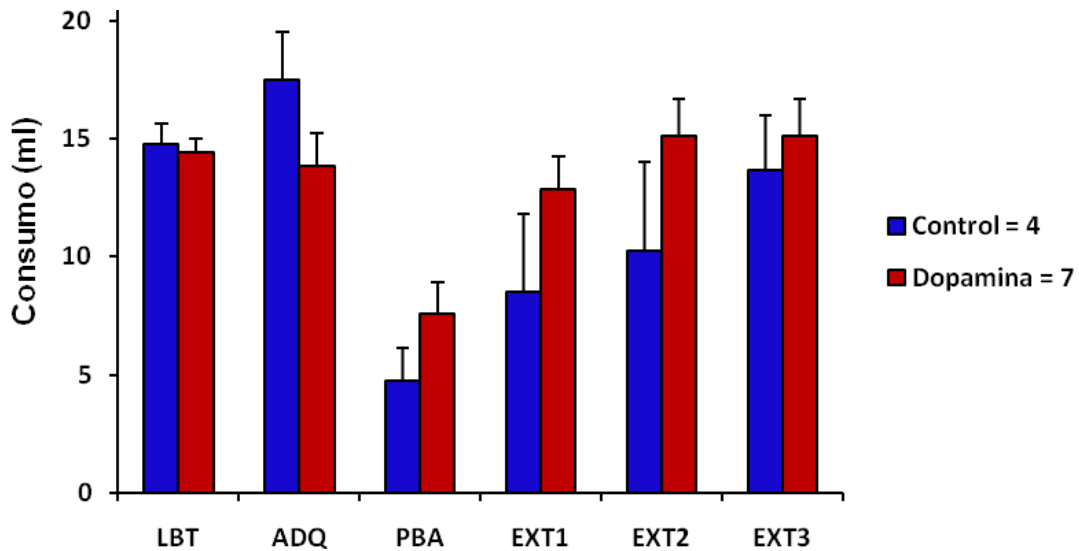


Figura 22. Administración de dopamina acidificada 20 min antes de la adquisición del CAS. En el eje de las abscisas se encuentran los diferentes días en que se presentaron las soluciones en probetas graduadas. En el eje de las ordenadas se muestran en ml los consumos de los animales. Las barras azules muestran la media de los consumos del grupo control infundidos con solución salina, las barras rojas muestran la media de los consumos del grupo tratado con dopamina acidificada. LBT, Línea basal total; ADQ, Adquisición; PBA, Prueba; EXT1, EXT2, EXT3, Días de extinción. Control n =4, Dopamina n = 7.

3. Análisis de dopamina antes de la prueba del CAS.

Los resultados derivados de la administración de DA en el NAc antes de la prueba del CAS no mostraron efectos significativos en los consumos entre grupos del día de prueba. No hay diferencia alguna entre los grupos (figura 23).

Dopamina antes de la prueba del CAS

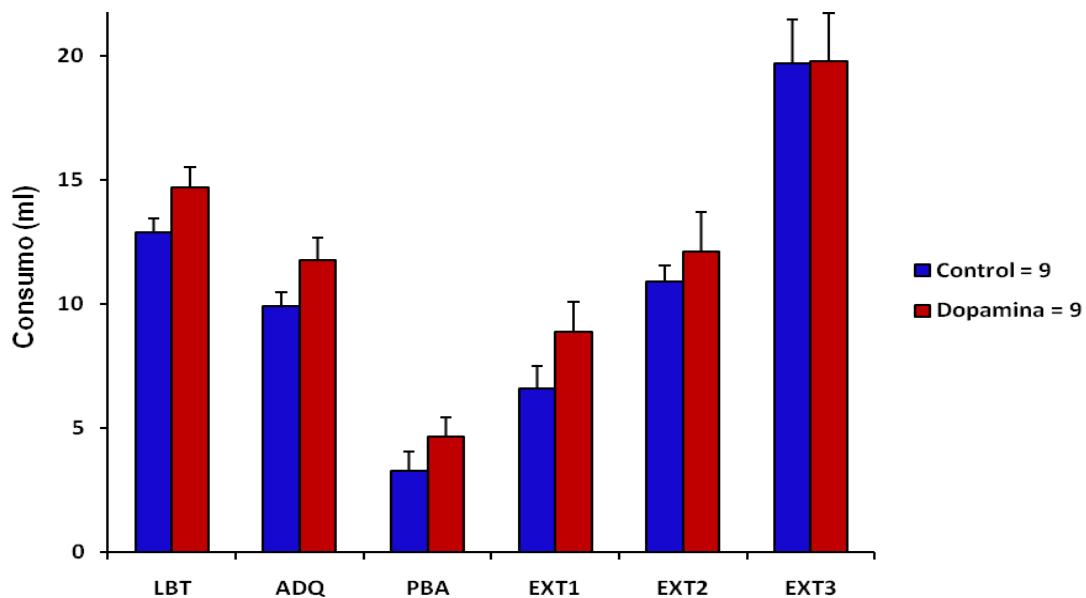


Figura 23. Administración de dopamina 20 min antes de la prueba del CAS. En el eje de las abscisas se encuentran los diferentes días en que se presentaron las soluciones en probetas graduadas. En el eje de las ordenadas se muestran en ml los consumos de los animales. Las barras azules muestran la media de los consumos del grupo control infundidos con solución salina, las barras rojas muestran la media de los consumos del grupo tratado con dopamina. LBT, Línea basal total; ADQ, Adquisición; PBA, Prueba; EXT1, EXT2, EXT3, Días de extinción. Control n = 9, Dopamina = 9.

7.2 Administración de haloperidol.

4. Análisis de haloperidol antes de la adquisición del CAS.

Los resultados obtenidos de los animales tratados con inyecciones de haloperidol en el NAc antes de la adquisición del CAS no mostraron un efecto significativo en los consumos el día de prueba. Ambos grupos se comportan de la misma manera (Figura 24).

Haloperidol antes de la adquisición del CAS (1µg/µl)

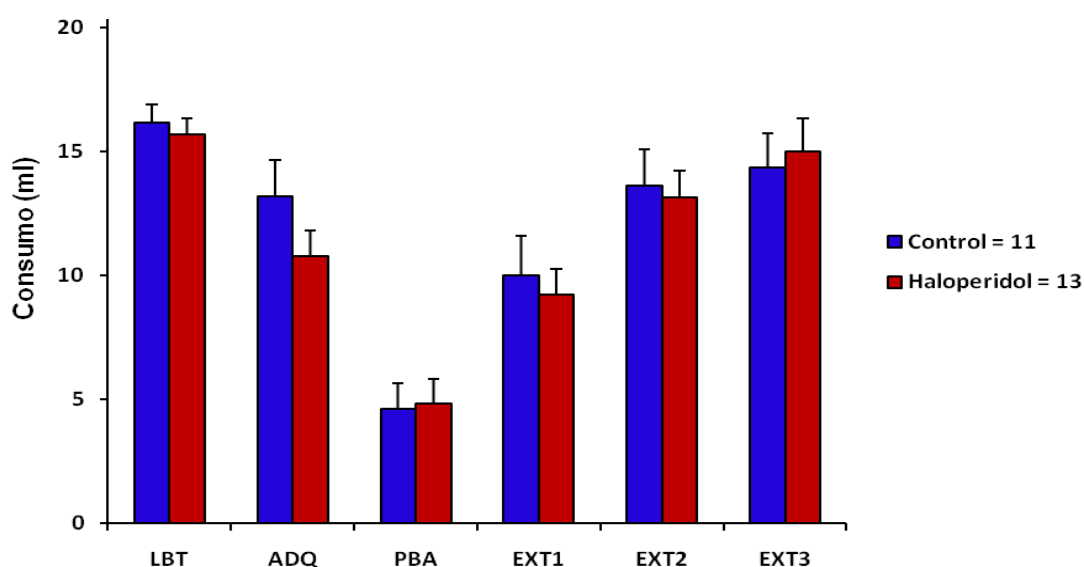


Figura 24. Administración de haloperidol 20 min antes de la adquisición del CAS. En el eje de las abscisas se encuentran los diferentes días en que se presentaron las soluciones en probetas graduadas. En el eje de las ordenadas se muestran en ml los consumos de los animales. Las barras azules muestran la media de los consumos del grupo control infundidos con solución salina, las barras rojas muestran la media de los consumos del grupo tratado con dopamina. LBT, Línea basal total; ADQ, Adquisición; PBA, Prueba; EXT1, EXT2, EXT3, Días de extinción. Control n = 11, Dopamina n = 13.

5. Análisis de haloperidol antes de la adquisición del CAS con dosis mayor.

Los resultados de los animales infundidos con haloperidol en el NAc antes de la adquisición pero con una dosis mayor ($5\mu\text{g}/\mu\text{l}$) no mostraron un efecto significativo, los dos grupos se comportan igual (figura 25).

Haloperidol antes de la adquisición del CAS ($5\mu\text{g}/\mu\text{l}$)

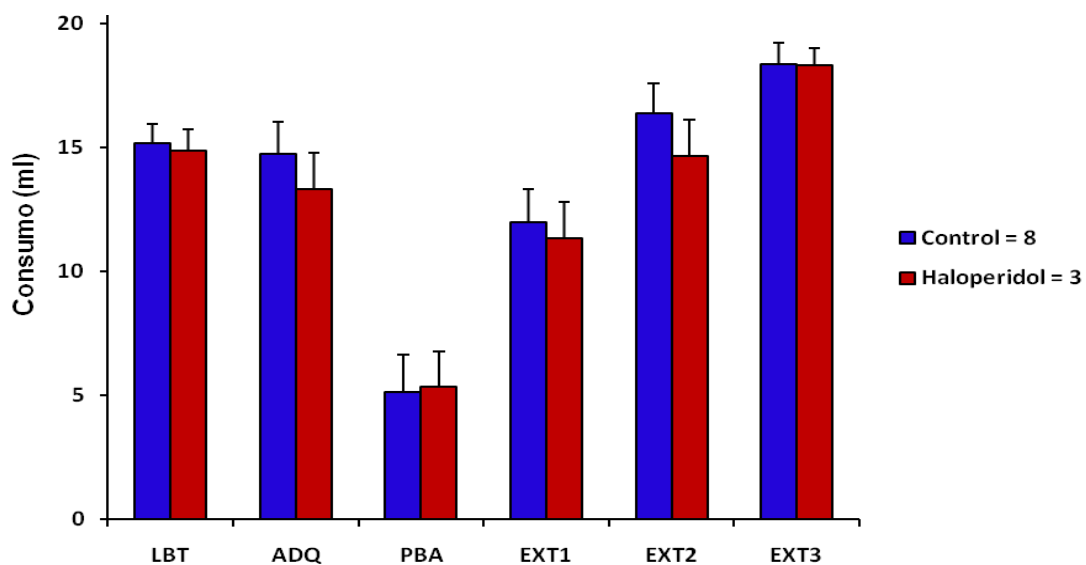


Figura 25. Administración de haloperidol 20 min antes de la adquisición del CAS con dosis mayor ($5\mu\text{g}/\mu\text{l}$). En el eje de las abscisas se encuentran los diferentes días en que se presentaron las soluciones en probetas graduadas. En el eje de las ordenadas se muestran en ml los consumos de los animales. Las barras azules muestran la media de los consumos del grupo control infundidos con solución salina, las barras rojas muestran la media de los consumos del grupo tratado con dopamina. LBT, Línea basal total; ADQ, Adquisición; PBA, Prueba; EXT1, EXT2, EXT3, Días de extinción. Control n = 8, Haloperidol = 3.

8. DISCUSIÓN

El presente trabajo mostró que la inyección de fármacos agonistas y antagonistas de los receptores dopaminérgicos en el NAc dopamina y haloperidol, en las dosis utilizadas, no favorecen y tampoco impiden la formación y/o consolidación de la memoria aversiva.

Al infundir DA en el NAc antes de la adquisición del CAS, se observó que la formación y/o consolidación de la memoria aversiva no es afectada, ya que los sujetos formaron una correcta asociación entre el sabor novedoso y el malestar gástrico. En contraste con otros paradigmas de condicionamiento Young y colaboradores (1993, 1998), han asociado un estímulo neutro auditivo o visual con un choque eléctrico encontrando que los niveles de DA se ven incrementados, pero Mark y colaboradores (1991) demostraron que al inyectar sacarina intraoral seguida de un estímulo aversivo y una vez asociados disminuye el consumo de sacarina y los niveles de DA además de una correcta formación del CAS (Mark et al., 1991, 1995). A diferencia del CAS aplicado en este trabajo donde se le permitió libre consumo de sacarina a la rata los resultados obtenidos demuestran que no se interrumpe el CAS con las inyecciones de DA. Por otro lado, también Bassareo y colaboradores (2002) demostraron que la presentación de un estímulo gustativo intraoral aumenta la liberación de DA en el NAc core y Shell, aún sin la asociación con un estímulo aversivo.

El NAc participa en la formación de la memoria (Hernández et al., 2002) pero no en la etapa de consolidación (Setlow, 1997), Ploeger y colaboradores (1994) indican que lesiones en el NAc o la inyección de HAL en esta estructura en la tarea del laberinto acuático de Morris se puede ver interrumpida la memoria esto no pasa con el método utilizado en este trabajo, los resultados donde las inyecciones de DA en el NAc fueron antes de la prueba de memoria, no interfiere en la evocación aversiva.

En el caso del tratamiento con HAL, Russig y colaboradores (2003) afirman que la administración de agonistas dopaminérgicos antes de la

exposición del sabor novedoso interrumpe la inhibición latente (aprendizaje incidental) en la tarea del CAS y esto puede ser bloqueado por la administración de HAL o clozapina (CLZ); además afirman que la farmacología de la inhibición latente por agonistas y antagonistas es similar al paradigma del CAS. Por lo tanto en este trabajo con la aplicación robusta del CAS que a diferencia del experimento de Russing y col. Se hizo en una sola prueba los resultados obtenidos demuestran que el HAL no bloqueó la formación del CAS, otros estudios han demostrado que agonistas a receptores dopaminérgicos disminuyen la síntesis de dopamina (Hetey et al., 1985, Onali y Olanas, 1989), actuando sobre autorreceptores D2, la activación de receptores de la familia D2 reducen la liberación de DA (Dwonskin y Zhaniser, 1986; Onali y Olanas, 1988): en este sentido, la DA podría jugar un papel importante en la formación del CAS, por lo que el bloqueo de receptores D2 puede estar favoreciendo a la liberación de DA y consecuentemente la correcta formación del CAS. Lo anterior puede ser parte de lo que está ocurriendo en este trabajo con los datos obtenidos, o bien la DA no tiene un papel en el CAS puesto que las inyecciones tanto de DA como de HAL en el NAc no interrumpen ni favorecen la formación y evocación de la memoria gustativa aversiva.

9. CONCLUSIÓN

La administración de dopamina y haloperidol, a las dosis utilizadas en el NAc no afecta significativamente la formación/consolidación y evocación de la memoria aversiva.

Perspectivas

- Es necesario establecer el efecto de otras dosis de las drogas utilizadas, además de administrar otros agonistas y antagonistas.
- Aplicar una concentración menor de LiCl (EI), con los mismos fármacos, además de utilizar antagonistas y agonistas para receptores D1.

10. REFERENCIAS

Akaoka, H., Charley, P., Saunier, C. F., Buda, M., Chouvet, G. 1992. Inhibition of nigral dopamine neurons by systemic and local apomorphine: possible contribution of dendritic autoreceptor. *Neuroscienc.* 49:879-91.

Anderson, M. 1986. Understanding the cognitive deficit in mental retardation. *J Child Psychol Psychiatry.* 27: 297-306.

Arias-Montaña, J. A., Martínez-Fong, D., Aceves, J. 1991. Gamma-aminobutyric acid (GABAB) receptor-mediated inhibition of tyrosine hydroxylase activity in rat striatum. *Neuropharmacol.* 30:1047-51.

Arias-Montaña, J. A., Martínez-Fong, D., Aceves, J. 1992a. Glutamate stimulation of tyrosine hydroxylase is mediated by NMDA receptors in the rat striatum. *Brain Res.* 569:317-22.

Arias-Montaña, J. A., Martínez-Fong, D., Aceves, J. 1992b. GABAB receptor activation partially inhibits N-methyl-D-aspartate-mediated tyrosine hydroxylase stimulation in rat striatal slices. *Eur J Pharmacol.* 218:335-8.

Arnold, H. M., Nelson, C. L., Neigh, G. L., Sarter, M., Bruno, J. P. 2000. Systemic and intra-accumbens administration of amphetamine differentially affects cortical acetylcholine release. *Neuroscience* 96: 675-685.

Atkinson, R. C. y R. M. Shiffrin, 1968 . "Human Memory: A proposed system and its control processes", en K. W. Spence y J. T. Spence (eds.), *The psychology of learning and motivation*, vol. 2, Academic Press, Nueva York.

Attwell, D., Mobbs, P. 1994. Neurotransmitter transporters. *Curr Opin Neurobiol* 4:353-9.

Braddeley, A. D. 1983. Working memory. *Philos Trans R Soc London B;* 302: 311-24.

Bahena-Trujillo, R., Flores G., Arias-Montaño, J. A. 2000. Dopamina: síntesis, liberación y receptores en el Sistema Nervioso Central. *Rev Biomed Rev* 11; 39-60.

Bassareo, V., De Luca, M. A., Di Chiara, G. 2002. Differential expression of motivational stimulus properties by dopamine in nucleo accumbens Shell versus core and prefrontal cortex. *The Journal of Neuroscience*, 22(11):4709–4719

Bermúdez-Rattoni, F., Forthman, D. L., Sanchez, M. A., Perez, J. L. y Garcia, J. 1988. Odor and taste aversión conditioned in anesthetized rat. *Behavioral Neuroscience* 120 (5): 726-32.

Bermúdez-Rattoni, F. y Yamamoto, T. 1998. Neuroanatomy of CTA: Lesions studies. In: *Conditioned taste aversion. Memory of special kind*. New York: Oxford Medical Publication.

Bermúdez-Rattoni, F. y Prado-Alcalá, R. A. 2001. *Memoria. Dónde reside y como se forma*. México, D.F.: Editorial Trillas.

Bermúdez-Rattoni, F., 2004. "Molecular mechanism of taste-recognition mamory". *Nat Rev Neurosci* 5, 209-17.

Bertran-Gonzalez, J., Hakansson, K., Borgkvist, A., Irinopoulou, T., Brami-Cherrier, K., Usiello, A. et al. 2009. Histone H3 phosphorylation is under the opposite tonic control of dopamine D2 and adenosine A2A receptors in striatopallidal neurons. *Neuropsychopharmacology*34: 1710–1720.

Biederman, G. B. 1974 Memory of conditioned food aversion follows a U-shaped function in rats, *Quart. J. Exp. PsychoL.* 26; 610-615.

Brundege, J. M. and Williams J. T. 2002. "Differential modulation of nucleus accumbens synapses." *J Neurophysiol* 88(1): 142-51.

Bohlen and Halbach, O., Dermietzel, R. 2002. Neurotransmitters and neuromodulators, Handbook of receptors and biological effects. Germany: Alden Bookset, Oxford, England. pp, 52.

Butcher, S.G. and Butcher, L.L. 1974. Origin and modulation of acetyl-choline activity in the neostriatum, *Brain Res.*, 71:167-171.

Bures, J., Bermudez-Rattoni, F. y Yamamoto, T. Conditioned taste aversion. Memory of a special kind. *Oxford Psychology*. 1998. Series No. 31, ed O.S. Publications. Oxford University Press. 178.

Calfee R. 1977. Assessment of independent reading skills: basic research and practical applications. In Reber AS, Scarborough A, eds. *Toward a psychology of reading*. Hillsdale, NJ: Erlbaum Associates.

Cheney, D.L., Trabucchi, M., Racagni, G., Wang, C. and Costa, E. 1975. Choline acetyltransferase activity and mass fragmentographic measurement of acetylcholine in specific nuclei and tracts of rat brain, *Neuropharmacology*, 14:801-809.

Chowdhury, M., Fillenz, M. 1991. Presynaptic adenosine A2 and N-methyl-D-aspartate receptors regulate dopamine synthesis in rat striatal synaptosomes. *J Neurochem*. 56:1783-88.

Churchland, P. S. y Sejnowski, T. J. 1992. *The computational brain*. MIT Press, Cambridge, MA.

Cooper, J. R., Bloom, F. E. 1996. Roth RH. *The biochemical basis of neuropharmacology*. 7th. Ed. New York/Oxford, Oxford University Press, 293-351.

Costall, B. and Naylor, R. J. 1974. The Nucleus Amygdaloideus Centralis and Neuroleptic Activity in the Rat. *Eur. J. Pharmacol.* 25: 138-146.

Dickinson, A., Balleine, B. 1994. Motivational control of goal-directed action. *Anim Learn Behav* 22:1–18.

Domjan, M., Gillan, D. J. 1977. Aftereffects of lithium-conditioned stimuli on consummatory behavior. *J Exp Psychol Anim Behav Process.* 3(4):322-34

Dudai, Y. 1989. The neurobiology of memory. Concepts, findings, trends. Oxford University Press, Oxford.

----1991. The neurobiology of memory. Concepts, findings, Trends. New York: Oxford University Press.

----2002. Memory, from A to Z, Keyword, concepts and beyond. Oxford University Press, Oxford.

Dudai, Y. y Morris, R. G. M. 2000. To consolidate or not to consolidate: What are the question? In *Brain, perception, memory. Advances in cognitive science* (ed. J. J. Bolhuis). Oxford University Press, Oxford.

Drake, M., Harris, P., Allegri, R., 2003. El efecto de fin de lista en el envejecimiento normal y en pacientes con enfermedad de alzheimer. Buenos Aires Argentina. *Revista Argentina de Neuropsicología*, 1, 53-65.

Dwonskin, L. P., 1986. Zhaniser NR. Robust modulation of [3H]-dopamine release from striatal slices by D2-dopamine receptors. *J Pharm Exp Ther.* 239:442-53.

Etchepareborda, M. C. y Abad-Mas, L. 2005. Memoria de trabajo en los procesos básicos del aprendizaje. España.

Feldman, R. S., Meyer, J. S., Quenzer LF. 1997. Principles of neuropsychopharmacology. Sunderland, Sinauer, 277-344.

Fenu, S., Bassareo V. y Di Chiara, G. 2001. "A role for dopamine D1 receptors of the nucleus accumbens shell in conditioned taste aversion learning." *J Neurosci* 21(17): 6897-904.

Fernández-Ruiz, J. y López Garcia, J. C. 1998. "Neuropsicología de la memoria", en Ciencias, núm. 49, UNAM, México. pp18-25.

Fibiger, H. C. 1993. Mesolimbic dopamine: an analysis of its role in motivated behavior. *Semin Neurosci.* 5:321-27.

Garcia, j. y Koelling, R. A. 1966. Conditioned aversión to saccharin resulting from exposure to gamma radiation. *Science* 122 (3160): 157-8.

Garcia, J. y Koelling, R. A. (1966). Relation of cue to consequence in avoidance learning. *Psychonomic Science*, 4, 123-124.

Gobert, A., Lejeune, F., Rivet, J. M., Cistarelli, L., Millan, M. J. 1996. Dopamine D3 (auto)receptors inhibit dopamine release in the frontal cortex of freely moving rats in vivo. *J Neurochem.* 66: 2209-12.

Goldstein, M., Deutch, A. Y. 1992. Dopaminergic mechanisms in the pathogenesis of schizophrenia. *FASEB J.* 6: 2413-21.

Hajnal, A., Norgren, R. 2005. Taste pathways that mediate accumbens dopamine release by sapsucrose. *PhysiolBehav* 2005;84:363–9.

Hebb, D. O. 1949. *The organization of behavior: A neuropsychological theory.* Wiley, New York.

Heimer, L., de Olmos, J., Alheid, G. F., Zaborszky, L. 1991. "Perestroika" in the basal forebrain: opening the border between neurology and psychiatry. *Prog Brain Res* 87:109–165.

Hernandez, P. J., K. Sadeghian, et al. 2002. "Early consolidation of instrumental learning requires protein synthesis in the nucleus accumbens." *Nat Neurosci* 5(12): 1327-31.

Hetey, L., Kudrin, V., Shemanov, A., Rayevsky, K., Delssner, V. 1985. Presynaptic dopamine and serotonin receptors modulating tyrosine hydroxylase activity in synaptosomes of nucleus accumbens of rats. *Eur J Pharmacol.* 43: 327-30.

Hoover, D. B., Mulh, E. A. and Jacobowitz, D. M. 1978. A mapping of the distribution of acetylcholine, choline acetyltransferase and acetyl-cholinesterase in discrete areas of rat brain, *Brain Res.* 153:295 -306.

Howland, J. G., P. Taepavarapruk, et al. 2002. "Glutamate receptor-dependent modulation of dopamine efflux in the nucleus accumbens by basolateral, but not central, nucleus of the amygdala in rats." *J Neurosci* **22**(3): 1137-45.

Humphrey, P. P. A. 1997. The characterization and classification of neurotransmitter receptors. *Ann New York Acad Sci.* 182:1-13.

Jackson, D. M. 1994. Westlind-Danielsson A. Dopamine receptors: molecular biology, biochemistry and behavioral aspects. *Pharmacol Ther.* 64: 291-369.

Jaber, M., Robinson, S., Missale, C., Caron, M. G. 1996. Dopamine receptors and brain function. *Neuropharmacology.* 35:1503-19.

Jain, A. K., Kelwalas, S. and Gershon, S. 1988. Antipsychotic Drugs in Schizophrenia: Current Issues. *Int. Clin. Psychopharmacol.* 2 1-30.

Kebabian, J. W., Calne, D. B. 1979. Multiple receptors for dopamine. *Nature* 1979; 277:93-6.

Kelley, A. E. and V. B. Domesick (1982). "The distribution of the projection from the hippocampal formation to the nucleus accumbens in the rat: an anterograde- and retrograde-horseradish peroxidase study." *Neuroscience* 7(10): 2321-35.

Klawans, H. L. and Rubovits, R. 1972. Central cholinergic-anticholinergic antagonism in Huntington's chorea, *Neurology*, 22:107-116.

Konradi, C. y Heckers, S. 1995. Haloperidol-induced Fos expression in striatum is dependent upon transcription factor cyclic AMP response element binding protein. *Neuroscience*65: 1051–1061. Le Magnen, J. 1985. *Hunger*. Cambridge: Cambridge University Press.

Levitt, M., Spctor, S., Sjoerdsma, A., Udenfriend, S. 1965. Elucidation of the rate-limiting step in norepinephrine biosynthesis in the perfused guinea-pig heart. *J Pharmacol Exp Ther.* 23:1493-501.

Li, J., Guo, Y., Schroeder, F. A., Youngs, R. M., Schmidt, T. W., Ferris Cetal. 2004. Dopamine D2-like antagonists induce chromatin remodeling in striatal neurons through cyclic AMP-protein kinase A and NMDA receptor signaling. *J Neurochem*90: 1117–1131.

Lledo, P. M., Homburger, V., Bockaert, J., Vincent, J. D. 1992. Differential G protein-mediated coupling of D2 dopamine receptor to K⁺ and Ca²⁺ currents in rat anterior pituitary cells. *Neuron.* 8:455-63.

Louilot, A., H. Simon, et al. 1985. "Modulation of dopaminergic activity in the nucleus accumbens following facilitation or blockade of the dopaminergic transmission in the amygdala: a study by in vivo differential pulse voltammetry." *Brain Res* 346(1): 141-5.

Luria, A. R., *Atención y memoria*, planeta, México, 1984.

Mackintosh, N. J. 1983. *Conditioning and associative learning*. Oxford: Clarendon.

Mansour, A., Meador-Woodruff, J., Burke, S., Bunzow, J., Akil, H., Van Tol HM, et al. 1991. Differential distribution of D2 and D4 dopamine receptor mRNAs in the rat brain: an in situ hybridization study. *Soc Neurosci Abstr*, 17:599.

Mark, G. P., D. S. Blander, et al. (1991). "A conditioned stimulus decreases extracellular dopamine in the nucleus accumbens after the development of a learned taste aversion." *Brain Res* 551(1-2): 308-10.

Mark, G. P., J. B. Weinberg, et al. 1995. "Extracellular acetylcholine is increased in the nucleus accumbens following the presentation of an aversively conditioned taste stimulus." *Brain Res* 688(1-2): 184-188.

Martinez, G., Roperio, C., Funes, A., Flores, E., Landa, A. I., Gargiulo, P.A. 2002. AP-7 into the nucleus accumbens disrupts acquisition but does not affect consolidation in a passive avoidance task. *Physiol Behav* 76:205-212.

McGaugh, J. L. 2000. "Memory, a Century of consolidation", en *Science*, núm. 287, pp. 284-251.

----McGaugh, J. L. 1966. Time-dependent processes in memory storage. *Science*, 153, 1351- 1358.

McGeer, P.L., Boulding, J.E., Gibson, W. C. and Foulkes, R.G. 1961. Drug-induced extrapyramidal reactions: Treatment with diphenylhydramine hydrochloride and dihydroxyphenylalanine, *J Am. Med. Assoc.*, 177, 665-670.

McGeer, P.L., Boulding, J. E., Gibson, W. C. and Foulkes, R. G. 1961. Drug-induced extrapyramidal reactions: Treatment with diphenylhydramine hydrochloride and dihydroxyphenylalanine, *J Am. Med. Assoc.*, 177, 665-670.

Missale, C., Russel, N. S., Robinson, S. W., Jaber, M., Caron, M. G. 1998. Dopamine receptors: from structure to function. *Physiol Rev*, 78:189-225.

Muller, G. E. y Pilzecker, A. 1900. Experimentelle Beiträge zur Lehre von Gedächtnis. *Zeitschrift fuer Psychologie*, 1, 1-300.

Nagatsu, T., Levitt, M., Uderfriend, S. 1964. Tyrosine hydroxylase: the initial step in norepinephrine biosynthesis. *J Biol Chem*, 239:2910-7.

Onali, P., Olanas, M.C., Bunse, B. 1988. Evidence that adenosine A2 receptors and dopamine autoreceptors antagonistically regulate tyrosine hydroxylase activity in rat striatal synaptosomes. *Brain Res*, 456:302-9.

Onali, P., Olanas, M. C. 1989. Involvement of adenylate cyclase inhibition in dopamine autoreceptor regulation of tyrosine hydroxylase in rat nucleus accumbens. *Neurosci Lett*, 102:91-6.

Pavlov, I. P. P. 1906. The scientific investigation of the physical faculties or processes in the higher animals. *Science*, 24, 613-619.

Pavlov, I. P. P. 1927. Conditioned reflex. An investigation of the physiological activity of the cerebral cortex. Oxford University Press, London.

Pezze, M. A., C. A. Heidbreder, et al. 2001. Selective responding of nucleus accumbens core and shell dopamine to aversively conditioned contextual and discrete stimuli. *Neuroscience* 108(1): 91-102.

Ploeger, G. E., Spruijt, B. M. y Cools, A. R. 1994. Spatial localization in the Morris water maze in rats: acquisition is affected by intra-accumbens injections of the dopaminergic antagonist haloperidol. *Behavioral Neuroscience* 108 (5): 927-34.

Pozzi, L., Hakansson, K., Usiello, A., Borgkvist, A., Lindskog, M., Greengard, P. et al. 2003. Opposite regulation by typical and atypical anti-psychotics of ERK1/2, CREB and Elk-1 phosphorylation in mouse dorsal striatum. *J Neurochem*86: 451–459.

Pycock, C., Milson, J., Tarsy, D. and Marsden, C.D., 1978. The effect of manipulation of cholinergic mechanism on turning behavior in mice with unilateral destruction of the nigro-neostriatal dopaminergic system, *Neuropharmacology*, 17, 175-183.

Richardson, E. P., Adams, R. D. 1982. Degenerative diseases of the nervous system. Alzheimer's disease and Parkinson's disease. En: Petersdorf RG, Adams RA, Braunwald E, Isselbacher KJ, Martin JB, Wilson JD eds. Harrison's Principles of Internal Medicine. 9th Ed. New York: McGraw-Hill; p. 2119-32.

Richardson, J. T. E., Engle, R. W., Hasher, L., Logie, R. H., Stoltzfus, E. R., Zacks, R. T. 1996. Working memory and human cognition. Oxford: Oxford University Press.

Robbins-Trevor, W. 1992. Milestones in dopamine research. Semin. Neurosci. 4:93-7.

Robinson, T. G. and P. M. Beart. 1988. Excitant amino acid projections from rat amygdala and thalamus to nucleus accumbens. Brain Res Bull 20(4): 467-71.

Robinson, T. E. and B. Kolb. 1997. Persistent structural modifications in nucleus accumbens and prefrontal cortex neurons produced by previous experience with amphetamine. J Neurosci, 17(21): 8491-7.

Robinson, T. E., G. Gorny, et al. 2001. Cocaine self-administration alters the morphology of dendrites and dendritic spines in the nucleus accumbens and neocortex. Synapse, 39(3): 257-266.

Russig, H., Kovacevic, A., Murphy, C. A., Feldon, J. 2003. Haloperidol and clozapine antagonize amphetamine-induced disruption of latent inhibition of conditioned taste aversion. Psychopharmacology, 170:263–270.

Sarter, M., Bruno, J. P., Turchi, J. 1999. Basal forebrain afferent projections modulating cortical acetylcholine, attention, and implications of neuropsychiatric disorders. Ann New York. Acad Sci 877: 368-382.

Schacter, L. D. 1996. Implicit Memory: A new frontier for cognitive neuroscience, en M. S. Gazzaniga (ed.), *The cognitive neuroscience*, MIT Press, Cambridge, pp. 815-824.

Schafe, G. E., Sollars, S. I. y Bernstein, I. L. 1995. The CS-US interval and taste aversion learning: a brief look. *Behav Neurosci* 109, 799-802.

Schwartz, J. C., Giros, B., Martres, M. P., Sokoloff, P. 1992. The dopamine receptor family: molecular biology and pharmacology. *Semin. Neurosci.* 4: 99-108.

Scoville, W. B. y Milner, B. 2000. Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. 1957. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci.* 12(1): 103-13

Seeman, P., VanTol, H. H. M. 1994. Dopamine receptor pharmacology. *Trends Pharmacol Sci*, 15:264-70.

Seligman, M. E. P. 1970. On the generality of the laws of learning. *Psychological Review*, 77, 406-418.

Setlow, B. 1997. The nucleus accumbens and learning and memory. *J Neurosci Res.* 49(5):515-21

Sibley, D. R., Daniel, K., Strader, C. D., Lefkowitz, R. J. 1987. Phosphorylation of the beta-adrenergic receptor in intact cells: relationship to heterologous and homologous mechanisms of adenylate cyclase desensitization. *Arch Biochem Biophys*, 258:24-32.

Skinner, B. F. 1938. *The behavior of organism: an experimental analysis*. Appleton-Century-Crofts, New York.

Stoof, J. C., Keabian, J. W. 1981. Opposing roles for D-1 and D-2 dopamine receptors in efflux of cyclic AMP from rat neostriatum. *Nature* 294: 366–368.

Squire, L. R. y B. J. 1996. Knowlton, Memory hippocampus and brain system, en M. S. Gazzaniga, cognitive neuroscience, MIT Press, Cambridge, pp 825-837.

Stellar, E. 1954. The physiology of motivation. *Psychological Review*, 61, 5-22.

Stillings, N. A., Feinstein, M. H., Garfield, J. L., Rissland, E. L., Rosebaum, D. A. Weisler, S. E., y Baker-Ward, L. 1987. *Cognitive science. An introduction*. Mit Press, Cambridge, MA.

Strader, C. D., Sigal, I. S., Dixon, R. A. F. 1989. Structural basis of α -adrenergic receptor function. *FASEB J*, 3:1825-32.

Südhof, T. C. 1995. The synaptic vesicle: a cascade of proteinprotein interactions. *Nature*, 375:645-53.

Sweatt, J. D. 2003. Rodent behavioral Learning and memory models. In *mechanism of memory* (ed. J. D. Sweatt), pp. 29-59. San Diego, California: Elsevier Academic Press.

Swerdlow, N. R., Braff, D. L., Masten, V. L., Geyer, M. A. 1990a. Schizophrenic-like sensorimotor gating abnormalities in rats following dopamine infusion into de nucleo accumbens.. *Psychopharmacology*. 101:414-420.

Swerdlow, N. R., Braff, D. L., Geyer, M. A. 1990b. GABAergic projection from nucleo accumbens to ventral pallidum mediates dopamine-induced sensorimotor gating deficits of acoustic startle in rats. *Brain Res*. 532:146-150.

Téllez-Olvera, H., Mendoza-González, A. E., Butcher-López, E. A., Pacheco-Ralley, C. C., Tirado-Medina, H. 2002. *Atención, aprendizaje y memoria. Aspectos psicobiológicos*. México D.F.: Editorial Trillas.

Toates, F. 1986. *Motivational systems*. Cambridge University Press.

Tschanz, J. T. and Rebec, G. V. 1988. Atypical Antipsychotic Drugs Block Selective Components of Amphetamine-Induced Stereotypy. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 31: 519-522.

Tulving, E. how many memory system are there?. *American Psychologist*, núm. 40, 1985, pp.385-398.

----1996. Introduction to memory section, en M.S. Gazzania (ed.), *cognitive neuroscience*, MIT Pres, Cambridge, pp.715-764.

---- 1972. Episodic and semantic memory. In Tulving E, Donaldson W, eds. *The organization of memory*. New York: Academic Press.

----1983. *Elements of episodic memory*. Oxford University Press, Oxford.

Valentijn, J. A., Vaudry, H., Cazin, L. 1993. Multiple control of calcium channel gating by dopamine D2 receptors in frog pituitary menotrophs. *Ann NY Acad Sci*, 37:21

Varela-Ruiz, M., Ávila-Costa, M. R., Fotoul van der Goes, T. I. 2005. *La memoria: definición, función y juego para la enseñanza de la medicina*. México.: Editorial Médica Panamericana.

Yamamoto, T. y Sawa, K. 2000. Comparison of c-fos-like inmunoreactivity in the brainstem following intraoral and intragastric infusions of chemical solutions in rats. *Brain Res* 866, 144-51.

Young, A. M., M. H. Joseph, et al. 1993. Latent inhibition of conditioned dopamine release in rat nucleus accumbens. *Neuroscience* 54(1): 5-9.

Young, A. M., R. G. Ahier, et al. 1998. Increased extracellular dopamine in the nucleus accumbens of the rat during associative learning of neutral stimuli. *Neuroscience* 83(4): 1175-83.

Watling, K. J., Keabian, J. W., Neumeyer, J. L. 1995. *RBI handbook of receptor classification and signal transduction*. Research Biochemicals International.

Whetzel, S. Z., Shih, Y. H., Georgic, L. M., Akunne, H. C., Pugsley, T. A. 1997. Effects of the dopamine D3 antagonist PD 58491 and its interaction with the dopamine D3 agonist PD 128907 on brain dopamine synthesis in rat. *J Neurochem.* 69:2363-68.

Wise, R. A. 1982. Neuroleptics and operant behavior: the anhedonia hypothesis. *Behav Brain Sci* 5:39–87.

Wise, R. A., Spindler, J., Dewitt, H., Gerber, G. J. 1978. Neuroleptic-induced “anhedonia” in rats: pimozide blocks reward quality of food. *Science* 201:262–264.

Wolfarth, S. 1976. Experimental basis of the therapy of Parkinson's disease and the cholinergic-dopaminergic equilibrium in basal brain nuclei, *Pol. J. Pharm. Pharmacol.*, 28:69-493.

Wright, C. I. and H. J. Groenewegen. 1996. Patterns of overlap and segregation between insular cortical, intermediodorsal thalamic and basal amygdaloid afferents in the nucleus accumbens of the rat. *Neuroscience* 73(2): 359-73.

Zahm, D. S., and Heimer, L. 1993. Specificity in the efferent projections of the nucleus accumbens in the rat: comparison of the rostral pole projection patterns with those of the core and shell. *J Comp Neurol*, 327:220–32.

Zahm, D. S. 2000. An integrative neuroanatomical perspective on some subcortical substrates of adaptive responding with emphasis on the nucleus accumbens. *Neurosci Biobehav Rev* 24(1): 85-105.