



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

ESCUELA DE BIOLOGÍA

**MODULACIÓN DE LA ACTIVIDAD DOPAMINÉRGICA EN
EL NÚCLEO ACCUMBENS DURANTE LA FORMACIÓN Y
EVOCACIÓN DE LA MEMORIA AL SABOR**

TESIS QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADA EN BIOLOGÍA

PRESENTA:

MARIANA DENISSE VERGEL MUNGUÍA

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. MARÍA ISABEL MIRANDA SAUCEDO



ABRIL 2015

***“Ser es, esencialmente, ser memoria; es encontrar una forma de coherencia,
un vínculo entre lo que somos, lo que queríamos ser y lo que hemos sido.”***

Emilio Lledó

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. María Isabel Miranda Saucedo, por recibirme en su laboratorio siempre con una sonrisa e incluirme en el equipo de trabajo, la confianza al permitirme ser parte de este proyecto tan bonito, el tiempo que dedicó al compartir su valioso conocimiento, el apoyo económico y por adentrarme en el maravilloso mundo de la memoria gustativa.

A la IBQ. Gabriela Rodríguez García, por ser una excelente asesora tanto en el trabajo experimental como en la escritura de la tesis. Por la paciencia y amabilidad que siempre tuvo conmigo, el tiempo dedicado a sacar adelante este proyecto, todo el conocimiento compartido y la disponibilidad para enseñarme como se trabaja en el laboratorio.

A las personas que conforman el equipo de trabajo del laboratorio: la técnica académica Dra. Ángela Gabriela Vera Rivera, el laboratorista Biol. José Alejandro Rangel Hernández y al Psi. Seraid Caynas Rojas; por la ayuda brindada, el apoyo siempre que lo necesite y por permitir que el ambiente de trabajo fuera agradable.

A la M. en C. Leonor Casanova Rico, jefa de la unidad de enseñanza del INB y a la Lic. Lourdes Lara Ayala, del área de videoconferencia.

A Raúl Sánchez Hernández, por brindarme su amistad, compañía y apoyo al vivir lejos de mi familia, amigos y seres queridos. Además de compartir su tiempo conmigo tanto en el laboratorio como en nuestras escapadas a Antea y a donde lográramos ir (principalmente por comida o al malgastar el dinero felizmente), por permitirme trabajar en su proyecto y todas las cosas buenas, malas y divertidas que vivimos al aprender juntos.

A mis padres; Juan y Blanca Estela, por su apoyo incondicional y amor en libertad. Por darme la fuerza y el ánimo que necesité en los momentos más difíciles, siempre compartiendo mis sueños y metas.

A mis hermanos primeros; Arendala, Maicon, Marioso, Conde Cruz y Demy S., que junto con los asociados; Güerita y Vane, siempre tenían un momento divertido que

compartir conmigo cuando volvía a casa. Y un agradecimiento especial a Maicon, por la ayuda para conseguir los libros que necesite para mis antecedentes interminables.

A mi novio, Hugo, por reaparecer en la etapa final de este proyecto, comprendiendo mis momentos tediosos y animándome a seguir. Gracias por escucharme siempre que me emocionaba hablando de este proyecto y de las cosas académicas que me apasionan, sobre todo por hacerme sentir que son importantes y por hacer el esfuerzo de entenderlas. Juntos es mejor, te amo.

A mis amigos del alma; Llobas, Valerillo, mi Nicolás, Baby Reptil, Astringosol, Ami, Gómez y Figo, por compartir conmigo tantos momentos inolvidables y porque aunque en esta etapa no estuvimos juntos, cada vez que podía verlos me hacían sentir como en casa. Los quiero mucho Troles.

Y por último, pero con mucha importancia, a mis ratitas; que involuntariamente fueron parte mis experimentos, porque gracias a ellos se logró aportar este granito de arena a la ciencia.

El presente trabajo se llevó a cabo en cumplimiento parcial de los requisitos para obtener el título de Licenciada en Biología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Fue realizado en el Instituto de Neurobiología de la Universidad Nacional Autónoma de México, dentro del laboratorio de Neuroquímica de la Memoria a cargo de la Dra. María Isabel Miranda Saucedo, con apoyo de los siguientes donativos: CONACYT 152208, PAPPIT IN220991 e IN204615.

Este trabajo está dedicado, con profunda admiración y todo mi amor, a mis padres; Juan Vergel Pacheco y Blanca Estela Munguía Salazar, quienes son el motor que me ha impulsado en esta y todas las etapas de mi vida. Lo logramos y vamos por más.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	II
DEDICATORIA	IV
I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCIÓN	2
III. ANTECEDENTES	3
LA MEMORIA A LO LARGO DE LA HISTORIA.....	3
APRENDIZAJE Y MEMORIA.....	6
APRENDIZAJE.....	6
CLASIFICACIÓN DEL APRENDIZAJE	7
APRENDIZAJE ASOCIATIVO.....	8
CONDICIONAMIENTO CLÁSICO	8
CONDICIONAMIENTO INSTRUMENTAL	9
APRENDIZAJE NO ASOCIATIVO	12
HABITUACIÓN	12
SENSIBILIZACIÓN	13
MEMORIA	14
CLASIFICACIÓN DE LA MEMORIA	14
MEMORIA SENSORIAL.....	14
MEMORIA A CORTO PLAZO	15
MEMORIA A LARGO PLAZO	15
MEMORIA DECLARATIVA.....	16
MEMORIA NO DECLARATIVA.....	16
ETAPAS EN LA FORMACIÓN DE LA MEMORIA	17
ADQUISICIÓN	17
CONSOLIDACIÓN	17
EVOCACIÓN.....	17
SUSTRATOS CEREBRALES EN EL PROCESO GENERAL DE FORMACIÓN DE LA MEMORIA	17
MEMORIA GUSTATIVA	19

MODELOS DE MEMORIA GUSTATIVA.....	19
MEMORIA GUSTATIVA APETITIVA.....	20
MEMORIA GUSTATIVA AVERSIVA.....	20
PERCEPCIÓN SENSORIAL. LA CONEXIÓN CON EL MUNDO QUE NOS RODEA.....	20
MODALIDADES GUSTATIVAS.....	21
EL RECONOCIMIENTO DE LOS SABORES.....	21
PROCESAMIENTO CENTRAL DEL SABOR.....	25
EL NÚCLEO ACCUMBENS.....	27
NEUROQUÍMICA EN EL NÚCLEO ACCUMBENS.....	28
FUNCIONES DE MAYOR RELEVANCIA EN EL NÚCLEO ACCUMBENS..	29
NEUROQUÍMICA DEL PROCESAMIENTO GUSTATIVO.....	30
CLASIFICACIÓN DE LA DOPAMINA.....	30
SÍNTESIS DE DOPAMINA.....	31
PRIMERA ETAPA DE SÍNTESIS.....	31
SEGUNDA ETAPA DE SÍNTESIS.....	32
REGULACIÓN DE LA SÍNTESIS DE DOPAMINA.....	33
REGULACIÓN POR SUSTRATO Y POR PRODUCTO.....	33
REGULACIÓN DE LA TH POR FOSFORILACIÓN.....	33
REGULACIÓN POR AUTORRECEPTORES.....	34
REGULACIÓN POR HETERORRECEPTORES.....	34
LIBERACIÓN DE DOPAMINA.....	34
REGULACIÓN DE LA LIBERACIÓN DE DOPAMINA.....	35
REGULACIÓN POR AUTORRECEPTORES.....	35
REGULACIÓN POR HETERORRECEPTORES.....	35
RECAPTACIÓN Y DEGRADACIÓN DE LA DOPAMINA.....	35
RECEPTORES DE DOPAMINÉRGICOS.....	36
DISTRIBUCIÓN DE LOS RECEPTORES DOPAMINÉRGICOS.....	38
PRINCIPALES VÍAS DOPAMINÉRGICAS.....	38
FUNCIONES DE MAYOR RELEVANCIA DE LA DOPAMINA.....	39
IV. JUSTIFICACIÓN.....	41

V. HIPÓTESIS.....	41
VI. OBJETIVOS	41
GENERAL	41
PARTICULARES	42
VII. MATERIAL Y MÉTODOS	42
SUJETOS EXPERIMENTALES.....	42
ACLIMATACIÓN.....	42
ESQUEMAS DE CONSUMO	43
CIRUGÍA ESTEREOTÁXICA.....	43
PROTOCOLO GENERAL DE MICRODIÁLISIS EN LIBRE MOVIMIENTO..	43
ANÁLISIS Y CUANTIFICACIÓN DE DOPAMINA A TRAVÉS DE HPLC	46
HISTOLOGÍA.....	46
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	46
VIII. RESULTADOS	47
PROCESO DE MICRODIÁLISIS	50
NEUROQUÍMICA BASAL	50
NEUROQUÍMICA DEL COMPORTAMIENTO	50
NEUROQUÍMICA POST-ESTÍMULO.....	50
NEUROQUÍMICA DEL COMPORTAMIENTO	51
CONSUMOS	52
IX. DISCUSIÓN	52
X. CONCLUSIÓN.....	53
XI. BIBLIOGRAFÍA	54
ANEXO 1. ABREVIATURAS	61
ANEXO 2. CIRUGÍA ESTEROTÁXICA	63
ANEXO 3. HPLC (CROMATOGRFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICACIA)	64

ANEXO 4. TINCIÓN DE VIOLETA DE CRESILO PARA CUERPOS CELULARES	65
--	-----------

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama del experimento de Pavlov	8
Figura 2. Cajas problema de Thornkide	9
Figura 3. Ensayos en caja problema de Thornkide	10
Figura 4. Caja de Skinner	11
Figura 5. Ensayo en caja de Skinner	11
Figura 6. Habitación de sobresalto acústico	13
Figura 7. Sensibilización de sobresalto acústico	13
Figura 8. Esquema de los sustratos cerebrales que participan en el proceso general de memoria	18
Figura 9. Estructura de un botón gustativo	23
Figura 10. Esquema sobre la teoría actual de la distribución de las células receptoras gustativas	23
Figura 11. Distribución de los distintos tipos de papilas gustativas	24
Figura 12. En la lengua no existen sectores divididos para cada modalidad gustativa	25
Figura 13. Ruta de codificación del sabor	27
Figura 14. Representación esquemática del NAc en el cerebro de rata	27
Figura 15. Dinámica de neurotransmisores en el NAc	28
Figura 16. Estructura química de las catecolaminas	31
Figura 17. Primera etapa en la síntesis de DA	32
Figura 18. Segunda etapa en la síntesis de DA	32
Figura 19. Esquema de una sinápsis dopaminérgica	37
Figura 20. Vías dopaminérgicas	39
Figura 21. Sistema de recompensa	40
Figura 22. Protocolo general para el grupo novedoso	44
Figura 23. Protocolo general para el grupo agudo	45

Figura 24. Protocolo general para el grupo crónico	45
Figura 25. Peso corporal del grupo crónico.....	48
Figura 26. Peso de alimento consumido por el grupo crónico	48
Figura 27. Peso del líquido consumido por el grupo crónico	49
Figura 29. Niveles extracelulares de dopamina en el NAc shell durante el protocolo de microdiálisis.....	51
Figura 30. Consumo de azúcar y agua durante protocolo de microdiálisis..	52

I. RESUMEN

El núcleo accumbens (NAc) es una región del cerebro anterior basal, dividido en dos subregiones: shell y core. Funciona como una interfaz entre los sistemas límbico y motor, y es vital en el procesamiento del contenido hedónico y reforzante de los alimentos. Al parecer, esta región participa activamente durante la memoria de reconocimiento del sabor, modulando la información apetitiva de los sabores y las consecuencias post-ingesta, evidencias neuroquímicas demuestran que el consumo de sabores dulces, el consumo compulsivo y la abstinencia a la dieta de azúcares, inducen cambios en la liberación de dopamina (DA) en el NAc. De tal forma, a través de microdiálisis en libre movimiento y HPLC (High Performance Liquid Chromatography) se evaluaron los cambios en la liberación de DA en el NAc shell durante el consumo novedoso de una solución azucarada (azúcar 10%), y tras el consumo agudo durante 2 días / 15 minutos de un sabor ligeramente familiar; así como durante el consumo de un sabor altamente familiar tras un consumo crónico de 14 días, como único líquido de ingesta *ad libitum*. Los resultados mostraron que durante el consumo del sabor novedoso no hay cambios en los niveles extracelulares de DA. Sin embargo, durante el consumo agudo se incrementa la liberación de DA, pero disminuye después del consumo crónico de azúcar. Estos datos indican que la actividad dopaminérgica en el NAc shell cambia con el grado de la familiaridad del sabor y sugiere que durante el reconocimiento de un sabor altamente familiar (consumo crónico), la actividad del sistema dopaminérgico disminuye en el NAc, lo cual podría estar relacionado con cambios conductuales hacia reforzadores dulces.

Palabras clave: Núcleo accumbens shell, dopamina, microdiálisis en libre movimiento, consumo novedoso, consumo agudo, consumo crónico.

II. INTRODUCCIÓN

Aunque no lo parezca, cada una de nuestras acciones requiere el uso del conocimiento que hemos adquirido a través de la experiencia. Preparar el desayuno, ir de la casa al trabajo, llamar por teléfono, platicar con nuestros amigos y cualquier acción cotidiana, desde la más simple a la más compleja, precisa utilizar nuestra memoria de diversas maneras. De tal forma, nuestra identidad personal es definida por las vivencias propias, su almacenamiento y evocación será aquello que nos identifique como individuos.

Si entendemos los procesos que permiten la formación de la memoria, habremos dado el primer paso para establecer las bases biológicas de la individualidad (López, 2000). Los filósofos han especulado sobre la memoria al menos durante dos mil años, pero la investigación científica sobre este tema se inició hace sólo unos cien años (Baddeley, 1999). El campo de investigación de la memoria gustativa está enfocado a describir los procesos y áreas involucradas en la formación y evocación de este tipo de memoria. Abarca diferentes estudios; como lesiones en áreas cerebrales específicas, el análisis de la actividad de neurotransmisores, estimulación de áreas cerebrales, etc.

En el cerebro existen muchas regiones relacionadas con el comportamiento y asociadas con los estímulos gustativos, como el núcleo accumbens (NAc) que es una estructura localizada en la región anterior rostrbasal del cerebro, perteneciendo al estriado ventral. Se encuentra dividido en dos regiones principales; core y shell, aunque también existe otra zona llamada polo rostrbasal (Delfs, Druhan y Aston-Jones, 1998) y cumple una función importante en la regulación del consumo de alimento y bebida (Maldonado-Irizarry, Swanson y Kelley, 1995). También se encuentra asociado con el sistema límbico y el reconocimiento de estímulos hedónicos y posiblemente con los estímulos estresantes o aversivos (Goeders y Smith, 1992). Posee proyecciones dopaminérgicas, que regulan la conducta exploratoria y la búsqueda del placer (Kandel, Shwartz y Jessell, 2001). Además, se ha reportado que la dopamina (DA)

juega un papel importante en el NAc, incrementando durante la formación de asociaciones condicionadas (Young, Joseph y Gray, 1993). Por otro lado, a través de estudios en ratas por microdiálisis *in vivo*, se sabe que la presentación de un sabor novedoso, relevante e impredecible incrementa la transmisión de DA en diferentes regiones, como el NAc shell y core y corteza prefrontal media (De Luca, 2014).

Con base en esta información, el objetivo de este trabajo fue evaluar a través de microdiálisis en ratas en libre movimiento los cambios en los niveles extracelulares de DA en el NAc shell, durante el consumo novedoso de una solución azucarada (azúcar 10%), y tras el consumo agudo durante 2 días / 15 minutos de un sabor ligeramente familiar; así como durante el consumo de un sabor altamente familiar tras un consumo crónico de 14 días, como único líquido de ingesta *ad libitum*, basándose en el modelo gustativo apetitivo.

III. ANTECEDENTES

➤ LA MEMORIA A LO LARGO DE LA HISTORIA

Los **filósofos griegos** fueron los primeros en especular sobre la naturaleza de la memoria. Una de las metáforas más populares de aquella época era que la memoria podría ser semejante a una tableta de cera sobre la cual nuestras experiencias dejaban marcada una impresión. **Sócrates** propuso que la consistencia de la cera era relevante para la durabilidad de la memoria. Así, si la cera era muy dura, el aprendizaje sería pobre, pero la retención buena. Si, por el contrario, la cera era muy blanda, el aprendizaje sería bueno, pero la información se olvidaría rápidamente. Igualmente, una cera con impurezas resultaría en una memoria poco confiable (López, 2000).

Para **Aristóteles** la capacidad de recordar disminuía con la edad, su punto de vista era que los estímulos externos provocaban el movimiento de espíritus que viajaban a través de la sangre hacia el corazón. Estos movimientos no

desaparecerían cuando el estímulo externo fuera eliminado, sino que perduraban en menor escala. Si estos movimientos podían ser ligados al pasado, constituían memoria, pero si no, entonces constituían imaginación o fantasía. La idea de Aristóteles implica que la imagen mental de algo (el movimiento de los espíritus) no es suficiente para llamarla memoria, sino que debe estar enlazada a otros eventos pasados para considerarla como tal (López, 2000). Por otro lado, Aristóteles propuso tres leyes de asociación, de las cuales la tercera es la más relevante, la llamada ley de la contigüidad, en la que menciona que si dos eventos se suceden en orden de manera repetida, los dos quedan encadenados de tal forma que siempre que el individuo perciba el primero, experimentará invariablemente el segundo. Este concepto fue retomado por los filósofos de los siglos XVII y XVIII y sentó las bases para caracterizar el condicionamiento clásico de Ivan Pavlov.

La idea de que la memoria se guarda en alguna parte del cerebro tiene su origen en los estudios de **Galeno**. Basándose en textos aristotélicos, Galeno propuso que los espíritus vitales se producían en el corazón, pero que viajaban al cerebro para convertirse en espíritus animales y permanecer ahí almacenados. Sin embargo, Galeno nos sostenía que el tejido nervioso fuese el que tenía que ver con el almacenamiento, sino que los espíritus residían en los ventrículos cerebrales. Así, los ventrículos anteriores recibían los estímulos sensoriales, el intermedio se encargaba del razonamiento y el posterior era responsable de la evocación de los recuerdos.

Los **filósofos del renacimiento** también especularon acerca de la memoria. **Andrea Vesalio** propuso que el cerebelo era el sitio donde se almacena la memoria. Actualmente se sabe que dicha región está involucrada en la memoria de ciertas tareas de aprendizaje que requieren la participación del sistema locomotor, sin embargo, está no era precisamente la idea que sostenía Vesalio. Posterior a las ideas de Vesalio, **Thomas Willis** postuló que la memoria estaba en el cerebro, no en el cerebelo. Su idea era que, al frotar las sienes o golpear nuestra frente, agitamos el cerebro y despertamos a los espíritus (los recuerdos) que lo habitan (López, 2000). Por su parte, **René Descartes** sostenía que el alma

se hallaba en la glándula pineal y que su movimiento empujaba a los espíritus animales hasta que éstos se topaban con los restos del objeto que uno quería recordar y salían a través de poros en el cerebro, los cuales eran cerrados por válvulas. El filósofo inglés **David Hartley** retomó la ley aristotélica de asociación por contigüidad, sustituyendo la sangre por nervios y propuso que los movimientos eran vibraciones similares a las cuerdas de un violín, hipótesis a la cual se le denominó teoría vibratoria de la memoria.

El **estudio científico** de la memoria inició a finales del siglo XIX, particularmente en la década de 1881 a 1890, la cual es denominada por algunos autores como la **década dorada de la investigación sobre la memoria**. Esta década inició con los trabajos de **Théodule Ribot**, y su principal aportación consistió en la observación de que la pérdida de la memoria obedece a un gradiente temporal en el que las memorias más recientes son más frágiles y pueden perderse más fácilmente que las memorias antiguas. Este gradiente se conoce en la actualidad como Ley de Ribot. Por otro lado, el psiquiatra ruso **Sergei Korsakoff** publicó descripciones iniciales del síndrome amnésico que hoy lleva su nombre, el cual se presenta normalmente en individuos alcohólicos que sufren daño cerebral por una deficiencia crónica de vitamina B₁ y se caracteriza por la incapacidad de formar nuevas memorias (amnesia anterógrada).

En 1885, el filósofo alemán **Hermann Ebbinghaus** publicó una monografía que contenía el primer análisis experimental de la memoria humana, el cual definió los principios básicos sobre los procesos relacionados con la memoria. El primero propone que la memoria se forma de manera gradual, el segundo sentó las bases para el análisis de la memoria de corto y largo plazo, el tercero plantea la idea de que es más fácil aprender algo que se ha olvidado a aprender algo completamente nuevo, fenómeno conocido como ahorro y, que el olvido está conformado por dos fases: una rápida y muy pronunciada después de la primera hora de intentar memorizar algo, y una lenta y menos drástica a lo largo de varias semanas. Los trabajos de Ebbinghaus iniciaron el estudio de los procesos relacionados con la memoria desde una perspectiva primero psicológica y más tarde biológica, y son el punto de partida del que se han originado una gran parte de nuestro

conocimiento actual sobre la organización y el funcionamiento de la memoria (López, 2000). **William James** retomó algunos de los hallazgos de Ebbinghaus, formalizando la existencia de dos tipos de memoria; la memoria primaria y la secundaria, que son lo que ahora conocemos como memoria de corto y largo plazo, respectivamente, marcando el final de la década dorada de la investigación sobre la memoria.

➤ **APRENDIZAJE Y MEMORIA**

El aprendizaje y la memoria son procesos neurobiológicos que se encuentran íntimamente relacionados, interactúan conformando la manera en la cual adquirimos, procesamos y almacenamos la información del medio. Aunque ambos procesos mantienen estrecha relación, es necesario comprender que uno y otro tienen características particulares que los distinguen.

➤ **APRENDIZAJE**

Existen muchas definiciones de aprendizaje, las cuales dependen de la disciplina que lo analiza. Desde un punto de vista psicológico, es definido como el proceso por el cual se produce un cambio de conducta relativamente permanente, resultado de la experiencia (Anderson, 2001). Por otro lado, desde una perspectiva neurobiológica, involucra los procesos ejecutados por el sistema nervioso que permiten adquirir diferentes tipo de información (Bermudez-Rattoni y Prado-Alcalá, 2001), a través de la plasticidad conductual y cerebral. En un inicio, al interactuar con el medio que nos rodea captamos distintos estímulos a través de las experiencias que tenemos, posteriormente procesamos esta información y se determina si es relevante o no, viéndose reflejada en cambios relativamente permanentes en el comportamiento del sujeto (Purves et al., 2004). Para que este cambio de comportamiento sea considerado como aprendizaje, no puede explicarse por un estado transitorio del organismo, por la maduración o por tendencias de respuesta innata.

En primera instancia, el aprendizaje refleja un **cambio en el potencial de una conducta**, lo cual no significa que ésta se realice de manera inmediata. Se debe estar suficientemente motivado para transformar el aprendizaje en conducta. Por ejemplo, podemos conocer el camino para llegar a un restaurante de comida china, pero no iremos ahí a menos que tengamos hambre y queramos este tipo de comida. Por otro lado, es posible que se suprima la realización de una conducta aun cuando haya sido aprendida y se cuente con motivación suficiente. Por ejemplo, podemos saber que en el cine están pasando una película que queremos ver, y sin embargo no acudir debido a que se tiene un compromiso escolar.

Por otro lado, los cambios en el comportamiento producidos por el aprendizaje son **relativamente permanentes** en la conducta. Ya que lo aprendido no dura indefinidamente y con el tiempo se puede olvidar, además; como consecuencia de una experiencia nueva, puede que una conducta previamente aprendida se modifique, causando cambios estructurales y/o funcionales en el cerebro (Téllez López et al., 2002). Por ejemplo, se puede aprender una forma más rápida de realizar una tarea y dejar de utilizar el antiguo método.

En cuanto a los cambios en la conducta ocasionados por estados transitorios del organismo, los mejores ejemplos son comer y estudiar, en donde el cambio es regulado por la motivación que genera estar hambriento, así como el miedo a sacar una mala nota motiva a estudiar. Dichas ejemplos representan un estado temporal del organismo que genera un cambio en la conducta, más que el propio aprendizaje. Además, también existen muchos cambios en el comportamiento como consecuencia del desarrollo madurativo. Como ejemplo, tenemos aquellas conductas que se realizan conforme las personas se van desarrollando físicamente, como es el caminar y el hablar.

➤ **CLASIFICACIÓN DEL APRENDIZAJE**

El aprendizaje puede clasificarse de diversas formas, sin embargo, de manera general, existe un consenso de que el aprendizaje se puede dividir en **asociativo** y **no asociativo**.

- **APRENDIZAJE ASOCIATIVO**

Es aquel que permite establecer una relación entre un estímulo con otro o un estímulo con una respuesta. La relación se establece debido a que dichos estímulos son fácilmente distinguibles por el investigador.

Dentro del aprendizaje asociativo se distinguen particularmente el **condicionamiento clásico** y el **condicionamiento instrumental**.

- ❖ **CONDICIONAMIENTO CLÁSICO**

El modelo más representativo de este tipo de condicionamiento fue descrito en 1970 por el fisiólogo ruso **Iván Pávlov**, y por tal motivo es denominado también como **condicionamiento clásico pavloviano**. Está basado en la presentación de un **estímulo incondicionado (EI)**, el cual de manera natural genera una **respuesta incondicionada (RI)**. Si el EI es precedido por un estímulo neutro de manera repetida y confiable, este estímulo neutro puede convertirse en un **estímulo condicionado (EC)** que provoca una respuesta anticipatoria al EI llamada **respuesta condicionada (RC)** (Gluck, Mercado y Myers, 2009). En la figura 1 se muestra un esquema sobre los experimentos que realizó Pavlov.

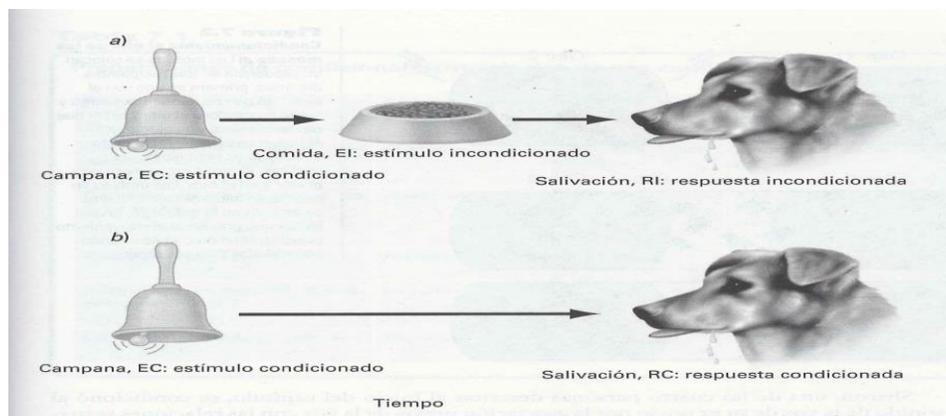


Figura 1. Diagrama del experimento de Pavlov. El aprendizaje empieza con un EI en este caso la comida, que de manera natural provoca una RI, en este caso la salivación. a) Si el EI va precedido de un estímulo neutro, como una campana (EC), esta campana puede llegar a condicionarse al EI. b) luego de múltiples emparejamientos del EC y el EI, el EC llega a provocar la RC de salivación de manera anticipada a la presentación esperada de la comida (EI) (Gluck, Mercado, y Myers, 2009).

Otras formas de condicionamiento clásico son el **condicionamiento aversivo y el apetitivo**. En el primero el EI es un evento desagradable o negativo, mientras que en el segundo es uno positivo. Tanto el condicionamiento aversivo como el apetitivo al sabor serán descritos a mayor profundidad en el apartado de “Modelos de Memoria Gustativa”.

❖ **CONDICIONAMIENTO INSTRUMENTAL**

Es el proceso por el cual los organismos aprenden a emitir respuestas para obtener o evitar ciertas consecuencias. A diferencia del condicionamiento clásico, en donde el EI se presenta sin importar si el organismo da una respuesta o no, en el condicionamiento instrumental el EI es el resultado directo de la conducta (Gluck, Mercado y Myers, 2009).

El primero en adentrarse en el estudio de este tipo de condicionamiento fue **Edward Thorndike** con sus experimentos sobre cómo los gatos aprendían a escapar de lo que llamó **cajas problema** (figura 2).

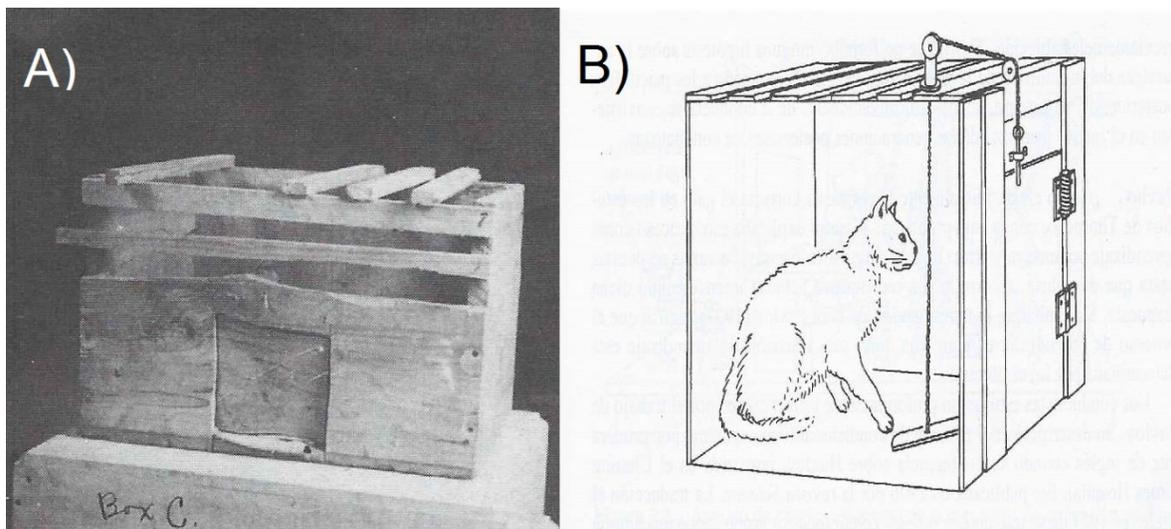


Figura 2. Cajas problema de Thorndike. A) Fotografía de una caja problema de Thorndike (Gluck, Mercado y Myers, 2009) B) Diagrama de la caja problema de Thorndike, el gato hambriento puede escapar de la caja realizando los movimientos necesarios para abrir la puerta, obteniendo posteriormente la comida (Klein, 1994).

La primera vez que Thorndike metió a un gato en una de las cajas, el animal arañaba las paredes y maullaba intentando escapar, después de varias repeticiones, el gato realizaba los movimientos necesarios para abrir la puerta. Thorndike registraba el tiempo en el que el gato lograba escapar y posteriormente lo regresaba a la caja para repetir el ejercicio. Los resultados de este experimento arrojaron que después de una docena de ensayos en la caja los gatos escapaban casi inmediatamente (Gluck, Mercado y Myers, 2009) (figura 3). Este condicionamiento es llamado instrumental debido a que la conducta del organismo es el “instrumento” para producir la consecuencia.

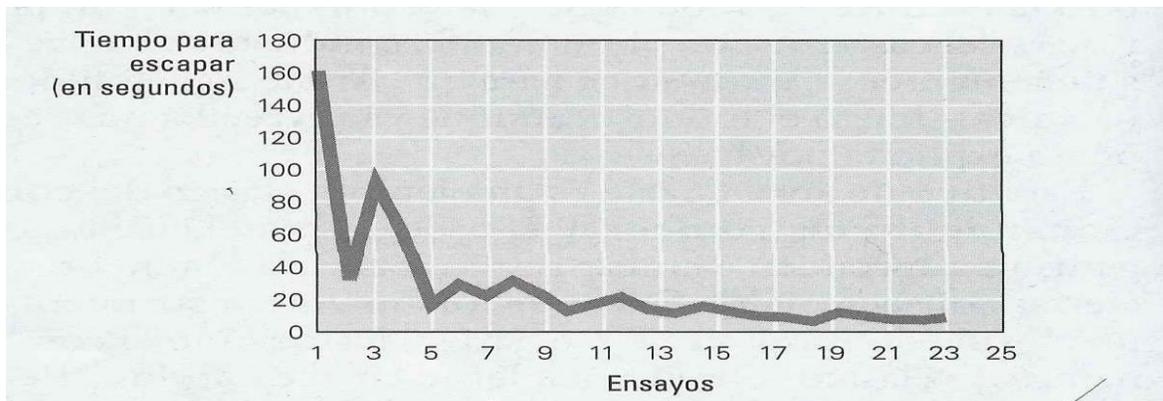


Figura 3. Se muestra que después de varios ensayos el gato aprende a escapar de manera eficiente, ya que en el primer ensayo tardó 160 segundos, mientras que en el ensayo número 23 tardó aproximadamente 10 segundos (Gluck, Mercado, & Myers, 2009).

Thorndike concluyó que cuando la respuesta animal va seguida de una consecuencia satisfactoria se incrementa la probabilidad de que ocurra de nuevo. Por otro lado, si una respuesta va seguida de una consecuencia insatisfactoria entonces la probabilidad de que se repita disminuye. Esto se conoce como **ley del efecto**, donde la probabilidad de una **respuesta (R)** ante un **estímulo (E)** es una función de la **consecuencia (C)** que ha seguido a R en el pasado.

Skinner retomó los experimentos de Thorndike con lo que hoy se conoce como **caja de Skinner** (figura 4), la cual cuenta con un comedero en la pared a través del cual se entrega el alimento de manera automática, además, la caja cuenta con una palanca que controla la entrega de la comida, cuando el sujeto presiona la palanca cae el alimento en el comedero.

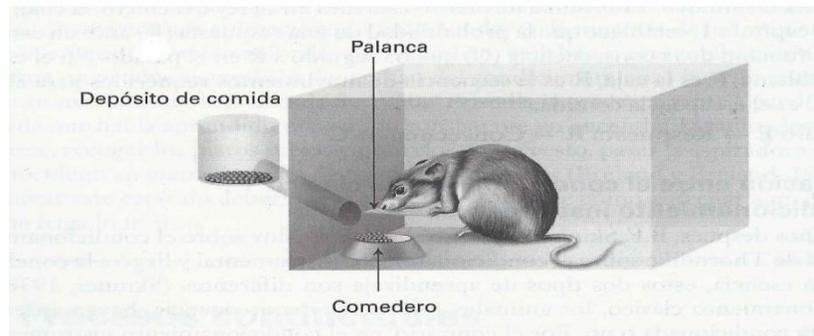


Figura 4. Caja de Skinner. El sujeto puede presionar una palanca para obtener comida en el comedero (Gluck, Mercado y Myers, 2009).

Mientras el sujeto explora la caja, por accidente puede llegar a presionar la palanca y recibir comida, pero, a medida que el sujeto aprenda la relación entre la R (presionar la palanca) y la C (obtener comida) hay un incremento en el número de veces que presiona la palanca (figura 5).

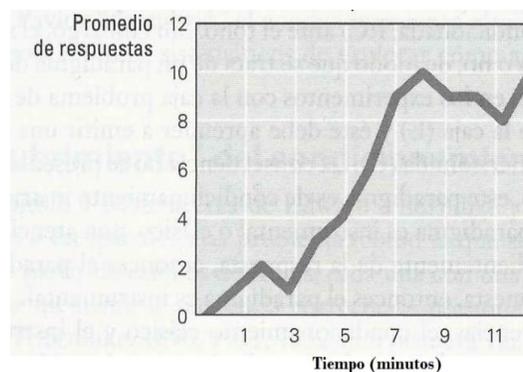


Figura 5. Se muestra como la presión de la palanca aumenta conforme va avanzando el tiempo, debido a que va reforzada con la entrega de comida (modificada de Gluck, Mercado y Myers, 2009).

Skinner llamó a su sistema “paradigma de operante libre”, debido a que el sujeto puede operar el aparato con libertad, siempre y cuando así lo decida. Con el tiempo este sistema fue nombrado como **condicionamiento operante** y llegó a ser sinónimo de condicionamiento instrumental, sin embargo, es necesario destacar que el condicionamiento operante es un tipo de condicionamiento instrumental.

- **APRENDIZAJE NO ASOCIATIVO**

Implica un estímulo relativamente “aislado” y definido por el experimentador. Suele dividirse en **habitación** y **sensibilización**.

- ❖ **HABITUACIÓN**

Es conocida como una disminución en la disposición para responder ante un estímulo como consecuencia de la experiencia repetida con dicho estímulo (Klein, 1994).

Una forma de evaluar el proceso de habituación es mediante el **reflejo de sobresalto acústico**, que es una respuesta defensiva a ruidos fuertes inesperados. En la cámara experimental se presenta un ruido fuerte que hace que el sujeto de estudio se sobresalte, pero si el ruido se presenta una y otra vez, más o menos cada minuto, la respuesta del sujeto disminuye. Y si el estímulo se presenta el tiempo suficiente, el animal puede dejar de sobresaltarse (Gluck, Mercado y Myers, 2009) (figura 6).

En condiciones normales, la habituación es benéfica para un organismo. Al habituarse a los estímulos familiares los organismos evitan desperdiciar tiempo y energía en elaborar una respuesta a cada estímulo de este tipo (Gluck, Mercado y Myers, 2009).

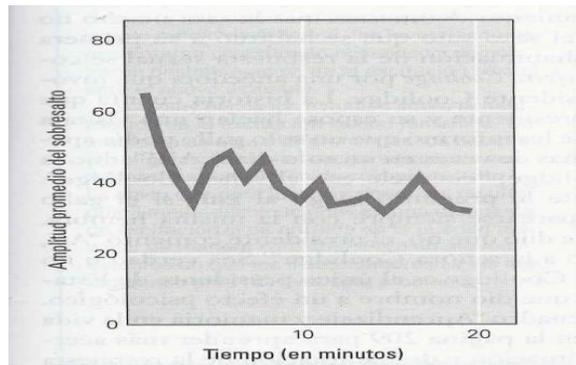


Figura 6. Habitación de sobresalto acústico. La respuesta de sobresalto acústico de los sujetos a un estímulo auditivo fuerte disminuye con la presentación repetida del mismo (Gluck, Mercado, & Myers, 2009).

❖ SENSIBILIZACIÓN

Implica un aumento de la respuesta ante cualquier acontecimiento ambiental tras la exposición a un estímulo intenso (Klein, 1994). De tal forma, la sensibilización es lo opuesto a la habituación.

Como ejemplo de la sensibilización se retomará el experimento de reflejo de sobresalto acústico. Como se describió antes, cuando los sujetos se someten a un ruido fuerte un y otra vez, la respuesta de sobresalto se habitúa. Pero si algunos de los sujetos reciben una descarga eléctrica cuando se vuelve a presentar el ruido, su respuesta de sobresalto será mucho mayor que en los sujetos que no reciben la descarga (Davis, 1989) (figura 7).

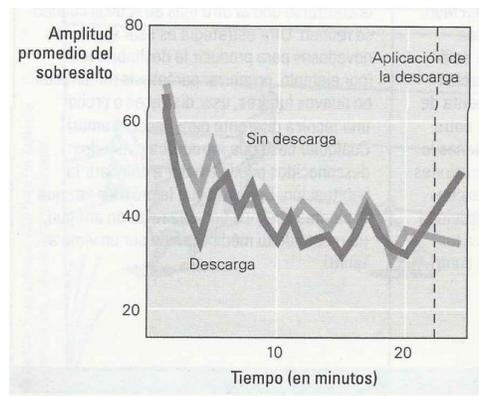


Figura 7. Sensibilización de sobresalto acústico. Cuando se presenta una y otra vez un ruido que provoca sobresalto, el reflejo de sobresalto se habitúa (minutos 1 a 20). Si se aplica una descarga eléctrica a algunos sujetos, la amplitud del reflejo de sobresalto al ruido posterior es mayor en los sujetos que recibieron la descarga que en aquellos que no la recibieron (Gluck, Mercado y Myers, 2009).

Sin embargo, la duración de dicha sensibilización suele ser breve, puede persistir por 10 a 15 minutos después de la descarga, pero luego regresa a sus niveles normales (Gluck, Mercado y Myers, 2009).

➤ **MEMORIA**

Al igual que el aprendizaje, la memoria es definida dependiendo de la disciplina de estudio. Desde el punto de vista de la psicología, es el registro de la experiencia adquirida a través del aprendizaje (Anderson, 2001). Por otro lado, en la neurobiología se entiende como la retención en el tiempo de las representaciones internas dependientes de la experiencia, o la capacidad de reactivar o reconstruir tales representaciones (Dudai, 1989). Pero no es un simple almacén de datos, a través de ella somos capaces de obtener los conocimientos básicos que nos permiten percibir el mundo en el que vivimos. Sin recuerdos no podríamos saber cuáles son las características que nos identifican como individuos, además de que seríamos incapaces de aprender esas conductas que garantizan nuestro bienestar y recordar aquéllas que nos ponen en peligro.

➤ **CLASIFICACIÓN DE LA MEMORIA**

Debido a su complejidad, se han hecho diversas clasificaciones de memoria, las cuales se encuentran en constante actualización. Dichas clasificaciones han evolucionado paralelamente al conocimiento de las bases anatómicas y fisiológicas de la memoria (Rains, 2004).

De acuerdo a la **teoría multialmacén de la memoria**, de Richard Atkinson y Richard Shiffrin, existen tres sistemas de memoria que se comunican e interactúan entre sí: memoria sensorial, memoria a corto plazo y memoria a largo plazo.

• **MEMORIA SENSORIAL**

Es una sensación transitoria breve de lo que se acaba de percibir cuando se ha visto, escuchado, olido, probado o sentido algo. Tiene una duración de medio segundo a un segundo.

Esta memoria funciona como un tipo de interfaz de información, un sistema de almacenamiento temporal para la información que posteriormente será sometida a un procesamiento adicional (Gluck, Mercado y Myers, 2009). La información sensorial que no se procesa decae rápidamente después de dejar el registro sensorial (Klein, 1994).

- **MEMORIA A CORTO PLAZO**

Hace referencia al almacenamiento temporal de nuestras experiencias, es en esta instancia donde transformamos la información sensorial en una experiencia más significativa. Estos recuerdos pueden permanecer en la memoria a corto plazo de 5 a 15 segundos, incluso más.

El tiempo que la información permanece en la memoria a corto plazo depende de dos procesos; el **repaso** y **desplazo**. Primero, la experiencia puede ser repasada o repetida, así se organiza la información en la memoria a corto plazo, de modo que la experiencia se hace más significativa y es más probable que sea recordada posteriormente. Sin embargo, solo se puede retener una cantidad limitada de información, cuando ingresa información nueva la anterior es desplazada. De modo que el repaso impide que la información sea desplazada por información novedosa.

- **MEMORIA A LARGO PLAZO**

Es en esta instancia donde se almacena la información de forma permanente, sin embargo, este almacén no garantiza que posteriormente se pueda recuperar dicha información. Principalmente, existen dos procesos que dificultan recobrar la información almacenada en la memoria a largo plazo; primero, la presencia de otros recuerdos almacenados junto con la información específica que se quiere recordar, lo cual es denominado **interferencia**. Segundo, la ausencia de un estímulo específico que permita recuperar esa información. Las personas pueden utilizar aspectos salientes de un acontecimiento, denominados **atributos de la memoria**, para recordar ese evento. Por ejemplo, el regreso a un lugar en el que

no se ha estado en varios años puede hacer que se recuerde alguna cosa que se hizo ahí años atrás. Un fallo en la identificación de algún aspecto sobresaliente de una experiencia, para utilizarlo como atributo de la memoria, puede impedir el recuerdo posterior de esa experiencia (Klein, 1994).

La memoria a largo plazo, en humanos, suele dividirse en **memoria declarativa** y **memoria no declarativa**.

❖ **MEMORIA DECLARATIVA**

También es llamada memoria explícita, en modelos animales, y se refiere a la información que recordamos de forma consciente, de tal forma que resulta fácil verbalizar o declarar dicho conocimiento. Es dependiente del lóbulo temporal. Almacena acontecimientos autobiográficos relacionados temporalmente o sobre el momento y lugar de la experiencia (Klein, 1994). Además, también almacena hechos que no requieren de un contexto espacial y/o temporal específico, sino conocimientos que la persona tiene sobre el mundo.

❖ **MEMORIA NO DECLARATIVA**

También es llamada memoria implícita, comprende habilidades y hábitos, aprendizaje perceptual (priming), condicionamiento clásico y el aprendizaje no asociativo. Es muy parecida a la memoria declarativa, ya que es duradera y puede mejorar con la repetición. Sin embargo, la memoria no declarativa es difícil que se expresada con palabras; además, se adquiere y se recupera sin tener consciencia de ello (Gluck, Mercado y Myers, 2009). Algunos investigadores han propuesto que las neuronas encargadas de archivar este tipo de memoria son precisamente aquellas que se activaron durante su adquisición, pudiendo así estar distribuida a lo largo de todo el sistema nervioso (Bermudez-Rattoni y Prado-Alcalá, 2001).

➤ ETAPAS EN LA FORMACIÓN DE LA MEMORIA

• ADQUISICIÓN

Es la etapa inicial en la formación de la memoria, se encuentra relacionada con la **memoria sensorial** y la **memoria a corto plazo**. Comienza con la llegada de información o estímulo del medio y depende de la atención, la concentración, el estado de ánimo, la motivación y la intencionalidad para que la información sea procesada de manera adecuada. De tal forma que demanda la capacidad de seleccionar el estímulo relevante e inhibir aquellos que son el objetivo central de atención y aprendizaje (Bermúdez y Garzón, 2011).

• CONSOLIDACIÓN

Es el proceso que permite que la información se mantenga en la **memoria a largo plazo**.

En esta etapa la información es ordenada, categorizada y titulada; lo cual requiere tanto de estructuras cerebrales como de la utilización de diferentes tipos de estrategias que permitan consolidar la información registrada (Bermúdez y Garzón, 2011).

• EVOCACIÓN

Es el momento en el que se tiene acceso a la información que se ha almacenado en la memoria a largo plazo. Se ve facilitada cuando se presenta algún estímulo que se relacione con dicha información; una imagen, sonido, sabor, palabra, etcétera.

➤ SUSTRATOS CEREBRALES EN EL PROCESO GENERAL DE FORMACIÓN DE LA MEMORIA

El proceso de adquisición y consolidación de la memoria comienza con el registro y el procesamiento de los estímulos que llegan del exterior a las **áreas de**

asociación de la corteza cerebral, las cuales codifican e integran información de todas las modalidades sensoriales. La información que se sintetiza en esta zona es enviada a las **cortezas parahipocampal y perirrenal**, llegando posteriormente a la **corteza entorrinal**, la cual es la principal vía de comunicación al **hipocampo**. Por otro lado, el hipocampo también recibe información procedente de la **amígdala**, la cual posee un papel modulador sobre el aprendizaje, potenciando los aprendizajes declarativos de los estímulos y las situaciones con carga emocional. Una vez que el proceso de codificación se ha llevado a cabo en el hipocampo, la información es enviada de nuevo a la corteza cerebral; esto a través del **área CA1** del hipocampo y el **subículo**, quienes llevan la información de regreso a la corteza parahipocampal y perirrenal y finalmente a la corteza cerebral. De igual forma, el hipocampo envía información a través del **fórnix** hacia los **cuerpos mamilares del hipotálamo**, posteriormente pasa al **tálamo posterior** y finalmente llega a las **áreas de asociación cortical**, donde será almacenada como memoria de largo plazo (Adrover-Roing et al., 2014). El circuito explicado anteriormente se encuentra desarrollado en el esquema de la figura 8.

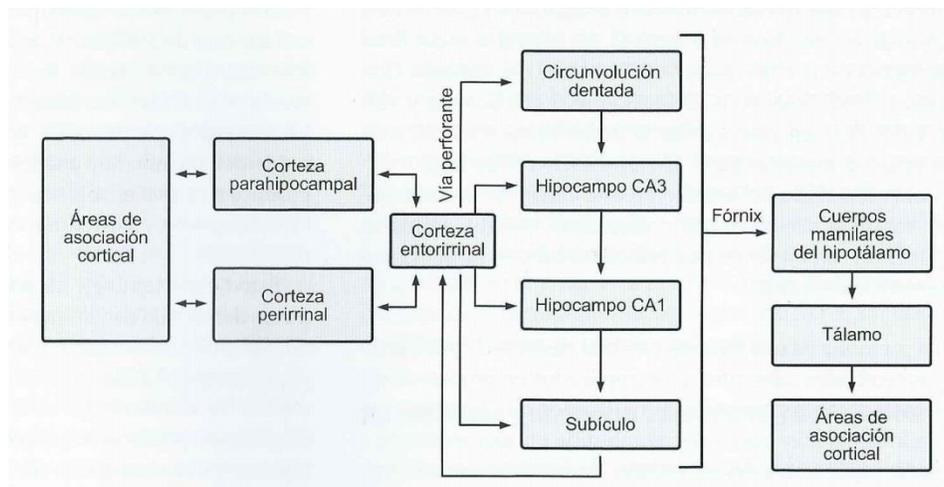


Figura 8. Esquema de los sustratos cerebrales que participan en el proceso general de memoria (Adrover-Roing et al., 2014).

➤ MEMORIA GUSTATIVA

El hecho de ser capaces de percibir el sabor de lo que se ingiere les permitió a diversos organismos, a lo largo de la evolución, diferenciar entre aquellas sustancias que les aportaban energía de aquellas que podrían causarles la muerte. Es así como probar algo con sabor amargo nos genera aversión, ya que evolutivamente el hombre aprendió que los venenos de la naturaleza tenían ese sabor y que aquello con sabor dulce le aportaba energía, por lo que es un sabor preferido.

Por definición, la memoria gustativa es la capacidad que tienen los organismos de registrar, mantener almacenada y evocar información del sistema sensorial del gusto con el fin de hacer uso de esta información para determinar el consumo de alimentos. Incluye el reconocimiento de un sabor, así como sus características relacionadas con el valor hedónico, el grado de familiaridad, y las propiedades nutritivas o tóxicos asociados con ese sabor (Nuñez-Jaramillo et al., 2010).

➤ MODELOS DE MEMORIA GUSTATIVA

Existen aspectos universales (en todos los sistemas nerviosos); aspectos comunes en determinados grupos animales y aspectos específicos. Es por eso que los estudios comportamentales, genéticos, moleculares, en diferentes animales, aportan al avance en los conocimientos del sistema nervioso, aprendizaje y memoria universales, como también al de los conocimientos en determinados grupos, en el que se incluyen los humanos (Würschmidt, 2012).

Dos de los modelos comúnmente utilizados dentro de la memoria gustativa son la **memoria gustativa apetitiva** y la **memoria gustativa aversiva**. Ambos permiten el reconocimiento de un estímulo novedoso y su procesamiento a lo largo de las diferentes etapas de la formación de la memoria. Además, es posible evaluar aspectos hedónicos de recompensa o aversión para un mismo estímulo (Nuñez-Jaramillo et al., 2010).

- **MEMORIA GUSTATIVA APETITIVA**

Forma parte de la memoria de largo plazo implícita, siendo un tipo de condicionamiento clásico. Se identifica cuando un estímulo gustativo novedoso induce una respuesta apetitiva, lo que conlleva a una preferencia medida como un incremento en el consumo (Nuñez-Jaramillo et al., 2010). Este incremento se presenta siempre y cuando el estímulo no sea asociado con algún malestar o síntomas de intoxicación.

Existen diversas formas de evaluar este tipo de memoria de manera experimental, como la **habitua**ción, **elección de preferencia al sabor** y **atenuación a la neofobia** (Nuñez-Jaramillo et al., 2010).

- **MEMORIA GUSTATIVA AVERSIVA**

Forma parte de la memoria de largo plazo implícita, siendo un tipo de condicionamiento clásico. Este modelo está basado en el **condicionamiento aversivo al sabor (CAS)**, en el que se genera una aversión a un sabor novedoso cuando éste es seguido por un malestar digestivo, lo que conlleva a una memoria gustativa aversiva (Nuñez-Jaramillo et al., 2010). El malestar gástrico puede ser causado por radiación, vueltas centrífugas e incluso ciertos venenos, sin embargo, el agente más utilizado es el cloruro de litio inyectado de forma intraperitoneal (Nuñez-Jaramillo et al., 2010).

- **PERCEPCIÓN SENSORIAL. LA CONEXIÓN CON EL MUNDO QUE NOS RODEA**

A través de nuestros sentidos somos capaces de mantener interacción con el medio ambiente en el que nos desarrollamos. Aunque no nos percatemos, de manera constante realizamos una interpretación del mundo que nos rodea y respondemos a los estímulos que se nos presentan. Gracias a los sistemas sensoriales,

encabezados por los órganos de los sentidos, las diferentes energías emitidas en nuestro mundo, como la emisión de energía luminosa, la energía química, etcétera, así como la distribución de la materia y energía en el espacio y el tiempo, son procesados en nuestro cerebro y permiten formar una representación del mundo transformada en actividad neuronal (Miranda, 2011).

➤ MODALIDADES GUSTATIVAS

De forma general, los sabores se clasifican en: **dulce, salado, amargo, ácido y umami**. El último se estableció recientemente, y representa el sabor de la carne, pescado y legumbres (Smith y Margolskee, 2001). Gracias a las moléculas que caracterizan a las distintas modalidades gustativas es que éstas pueden ser detectadas, de tal forma, el **sabor dulce** está relacionado con nutrientes ricos en energía, como los **carbohidratos**, lo **salado** con **iones** y **minerales** que permiten un balance de electrolitos, lo **amargo** y **ácido** evolutivamente se encuentran relacionados con sustancias químicas potencialmente **venenosas** (Chandrashekar et al., 2006), aunque hemos aprendido que existen alimentos con dichas características que son inocuos para nuestra salud. Finalmente el **umami** se relaciona con el **glutamato** y los aminoácidos que forman las **proteínas**, presentes en la carne. (Miranda, 2011).

➤ EL RECONOCIMIENTO DE LOS SABORES

El sentido del gusto trasmite al cerebro la naturaleza química de la gran variedad de sustancias con la que nos alimentamos, además, en esta información va incluido el contexto, es decir dónde y cómo se come (Miranda, 2011). Dicha información se complementa con las características olfativas que percibimos de los alimentos ingeridos.

Los **receptores gustativos** son las células encargadas de la detección del gusto y se encuentran alojados en estructuras especializadas denominadas **botones gustativos** (Smith y Margolskee, 2001) (figura 9), los cuales se localizan a lo largo de toda la lengua, del paladar suave, de la parte trasera de la boca y de la

epiglotis (Miranda, 2011). Existen 3 tipos de receptores gustativos: las **células T1** o células oscuras, representan alrededor del 50% de las células en un botón gustativo. Tienen una función de apoyo y es probable que no participen directamente en la transducción de la información gustativa. Las **células T2** o células claras, constituyen aproximadamente el 30% de las células en un botón gustativo. Estas células expresan los receptores gustativos y señalizan los estímulos amargo, dulce y umami. Las **células T3** o intermedias, representan alrededor del 20% de las células en los botones gustativos y parecen ser los transductores del sabor ácido. Estas células forman sinapsis con fibras nerviosas aferentes. Los receptores gustativos están en contacto directo con las soluciones de la cavidad oral a través de microvellosidades en su extremo apical. A su vez, el botón gustativo está en contacto con el contenido de la cavidad oral a través de una pequeña apertura (de aproximadamente 20 μm), el **poro gustativo**, que restringe el flujo al interior del botón, protegiendo la integridad de las células receptoras, las cuales tienen una vida media de 10 días y son reemplazados por otros generados por las células madre que se ubican en la base del botón gustativo. (Sena y Budelli, 2014).

Actualmente se sugiere que las células receptoras gustativas responden individualmente a alguna de las modalidades de sabor y cada una está inervada por fibras que también responden sólo a una modalidad; es decir, cada modalidad del sabor es especificada por la actividad de células receptoras y fibras que no traslapan la información recibida (Chandrashekar, Hoon, Ryba y Zuker, 2006) (figura 10).

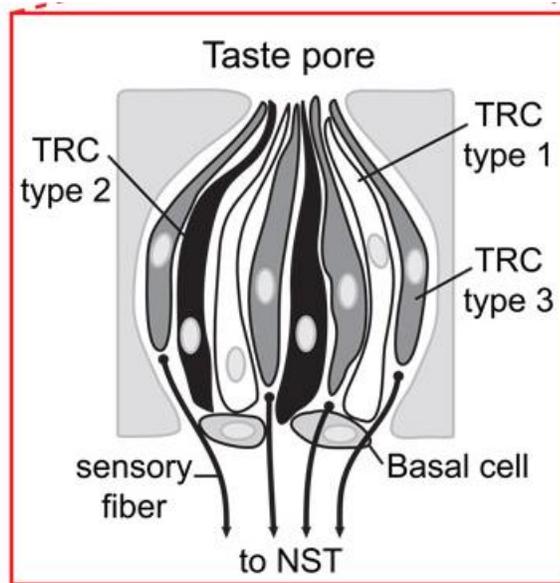


Figura 9. Estructura de un botón gustativo. Se distingue: el poro gustativo (taste pore), que restringe el flujo al interior del botón. Las células receptoras gustativas tipo 1,2 y 3 (TRC type 1,2 & 3), encargados de la detección del gusto. Las células madre basales (basal cell), que generan receptores gustativos nuevos y, finalmente, las fibras nerviosas (sensory fiber) que forman sinapsis con las células T3 (modificada de Carleton, Accolla y Simon, 2010).

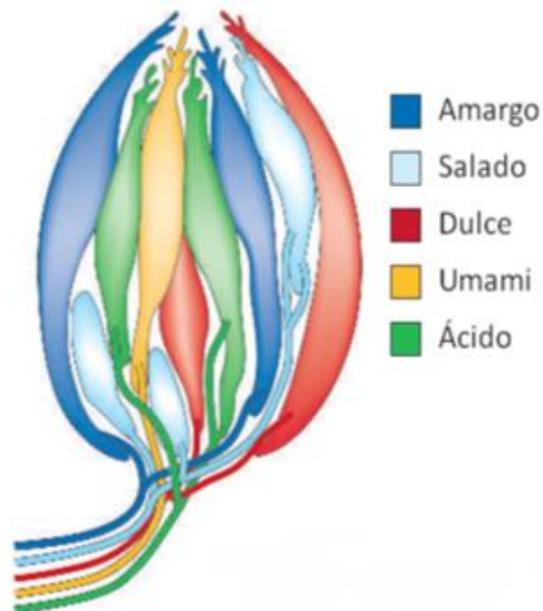


Figura 10. Esquema sobre la teoría actual de la distribución de las células receptoras gustativas (modificada de Chandrashekar et al., 2006).

Los botones gustativos de la lengua se hallan en pequeñas prominencias nombradas **papilas gustativas**, que le confieren su aspecto aterciopelado y que se clasifican según su morfología y ubicación (figura 11), existiendo 4 tipos distintos: las **papilas fungiformes**, que residen en la parte anterior de la lengua. Las **papilas caliciformes**, que son de mayor tamaño que las fungiformes y se encuentran la parte posterior de la lengua distribuidas en número aproximado de doce, en forma de “V” en invertida. Las **papilas foliadas**, que crean pequeños surcos en los bordes laterales de la lengua y, finalmente, las **papilas filiformes**, que son las más numerosas, sin embargo, carecen de botones gustativos y están implicadas en la sensación táctil bucal (Smith y Margolskee, 2001).

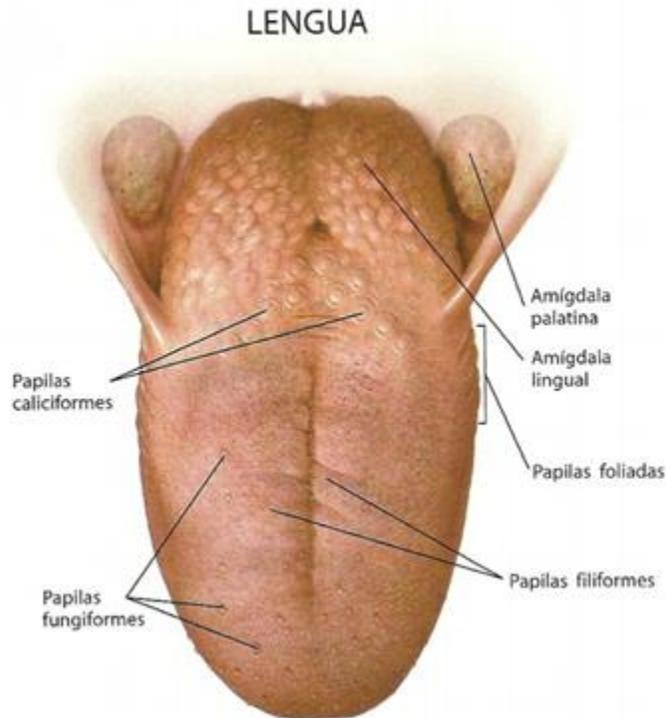


Figura 11. Distribución de los distintos tipos de papilas gustativas (Kasnot, 2014).

La lengua entera puede percibir casi con la misma intensidad las cinco modalidades gustativas, siendo una idea completamente falsa que existen sectores divididos en la lengua para cada modalidad (Miranda, 2011) (Figura 12).

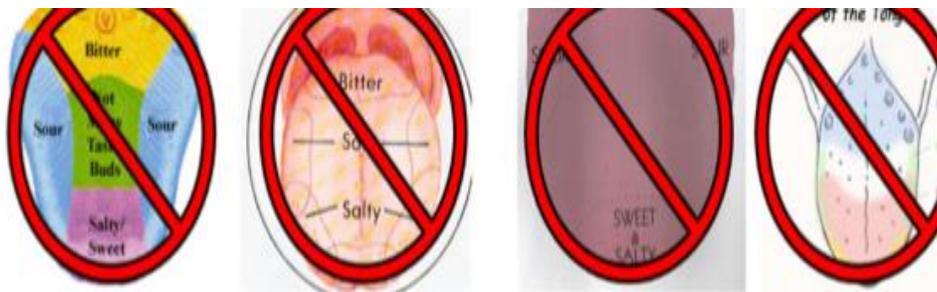


Figura 12. En la lengua no existen sectores divididos para cada modalidad gustativa (Miranda, 2011).

Particularmente, tan sólo en la lengua, se encuentran más de 10,000 papilas gustativas y cada una contiene de 50 a 150 células receptoras gustativas (Miranda, 2011). Aún no se conoce el grado de variación en el número de receptores gustativos contenidos en cada papila, así como tampoco la proporción de los cientos de receptores para las moléculas de los cinco sabores básicos en cada una de ellas (Chandrashekar et al., 2006).

En conjunto las propiedades de los alimentos permiten percibirlos en varias modalidades, escalas y jerarquías; por lo tanto la integración total de su sabor es una vasta gama de propiedades diferentes (Miranda, 2011).

➤ PROCESAMIENTO CENTRAL DEL SABOR

La ruta de codificación del sabor (figura 13) inicia cuando las sustancias ingeridas activan las células receptoras gustativas, con esto se desatan cascadas de activación, mediadas por la liberación de neurotransmisores químicos, que envían señales a través de los nervios facial (VII), glossofaríngeo (IX) y vago (X) a regiones centrales del cerebro (Miranda S. M., 2011).

La primera región del sistema nervioso central que recibe la información proveniente de las células receptoras gustativas es el **núcleo del tracto solitario (NTS)**. Cuando comemos algo, en esta estructura se activan neuronas que responden, la gran mayoría de las veces, a una modalidad gustativa específica de los sabores desprendidos de los alimentos (Carleton, Accolla y Simon, 2010). Las neuronas activadas en esta zona serán las encargadas de activar, igualmente a

través de sus conexiones y cascadas de mensajeros químicos en sus terminales, a las neuronas en **núcleo parabraqueal (NPB)**, las cuales en su mayoría responden de forma específica ante una modalidad de sabor. Sin embargo, en esta zona también existen otras poblaciones de neuronas que responden de una forma más amplia activándose por varios sabores (Miranda S. M., 2011). La tercera región activada es el **tálamo**, donde la codificación esencial de las cinco modalidades gustativas activa específicamente algunas neuronas, pero muchas otras también responden en conjunto a distintas modalidades o estímulos, como el olor, la textura, etcétera (Miranda S. M., 2011). Reconocer los sabores incluye algo más que la codificación de las modalidades básicas del gusto, es necesaria la activación de neuronas que respondan de forma más amplia y compleja, integrando simultáneamente información variada que necesita ser evaluada, comparada y catalogada (Miranda S. M., 2011). De tal forma, la **corteza gustativa (CG)**, que es el cuarto relevo del procesamiento del sabor, funciona como una estructura integradora; ya que sus neuronas son capaces de responder a sabores, temperatura, tacto, dolor y al estado de las vísceras (Hanamori, Kunitake, Kato y Kannan, 1998). Además, la corteza gustativa tiene una función primordial para representar el valor hedónico de los sabores que se adquiere con la experiencia de su ingestión (Nuñez-Jaramillo et al., 2010). Aunada a la corteza gustativa, la **amígdala** es una estructura fundamental encargada de procesar el valor hedónico, no sólo de lo que se come, sino también de una gran gama de experiencias. La activación de las neuronas de la amígdala desencadena a su vez la activación de otras estructuras, incluyendo varias regiones corticales que almacenan la información a largo plazo, que en otras palabras se encargan de formar la memoria del sabor (Nuñez-Jaramillo et al., 2010).

Es importante decir que las estructuras anteriormente mencionadas, son aquellas que participan en el procesamiento central del sabor, sin embargo, estudios recientes indican que existen otras estructuras participando en la formación de la memoria gustativa, como la **corteza perirrinal**, **corteza prefrontal media** y el **NAc** (Nuñez-Jaramillo et al., 2010), cuya anatomía y función dentro de la memoria gustativa serán descritos a continuación.

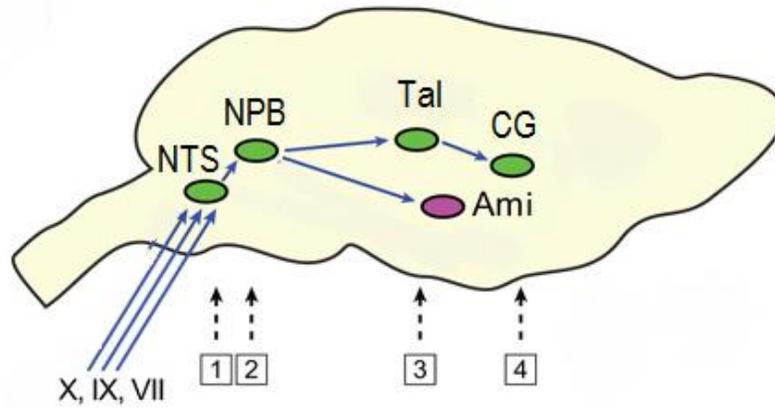


Figura 13. Ruta de codificación del sabor. Los nervios craneales X, IX y VII inervan distintas partes de la cavidad oral y transmiten la información gustativa al NTS, posteriormente la información es recibida por el NPB, que envía información al tálamo (Tal) y a la amígdala (Ami), finalmente, la información es recibida en la CG (modificada de Carleton, Accolla y Simon, 2010).

➤ EL NÚCLEO ACCUMBENS

Es una estructura localizada en la región anterior del cerebro, perteneciendo al estriado ventral (figura 14). Se encuentra dividido en tres regiones, **core y shell**, las cuales ocupan dos tercios de la estructura, mientras que el **polo rostrbasal** comprende el tercer compartimento (Delfs, Druhan, y Aston-Jones, 1998).

El **NAc shell** posee proyecciones hacia la parte medial del **pálido ventral (PV)**, la parte lateral del **hipotalamo**, el **área tegmental ventral (ATV)**, **NPB** y la **sustancia nigra compacta**; por otro lado, el **NAc core** proyecta hacia la parte dorsolateral del **PV**, al **núcleo entopeduncular** y la **sustancia nigra compacta** (Heimer et al., 1991).

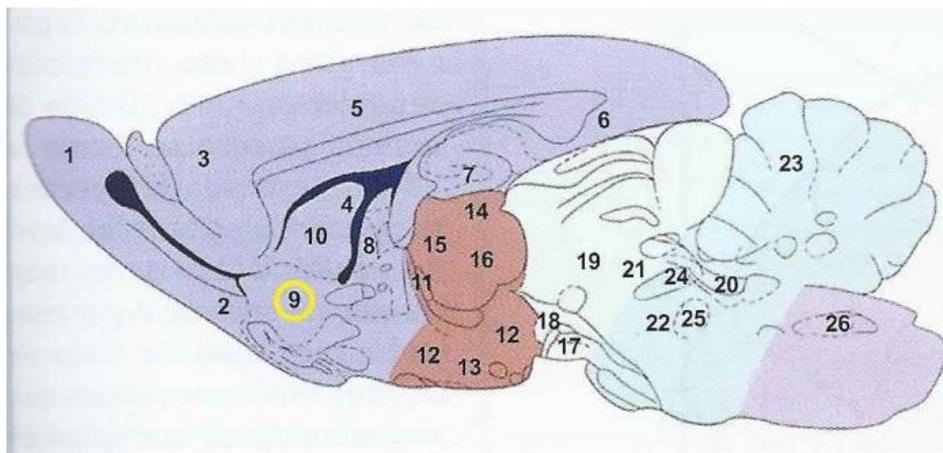


Figura 14. Representación esquemática del NAc en el cerebro de rata. Ubicado en la región anterior rostrbasal del cerebro (número 9, círculo amarillo) (modificada de Redolar, 2014).

Algunos estudios han sugerido que el **NAc shell** se encuentra relacionado con el sistema autónomo, mientras que el **NAc core** con el sistema motor (Zahm, 2000).

➤ NEUROQUÍMICA EN EL NÚCLEO ACCUMBENS

Con respecto a la dinámica de neurotransmisores (figura 15), se sabe que el **AVT** proporciona la principal entrada de DA al **NAc**, por otro lado, las neuronas espinosas (neuronas GABAérgicas con gran número de espinas dendríticas) del **NAc** reciben conexiones excitatorias (glutamatérgicas) del **hipocampo**, **amígdala** y **corteza prefrontal (CP)**. Así mismo, estas neuronas establecen conexiones inhibitorias (GABAérgicas) con neuronas ubicadas en el **ATV** y **PV**. (Redolar, 2014).

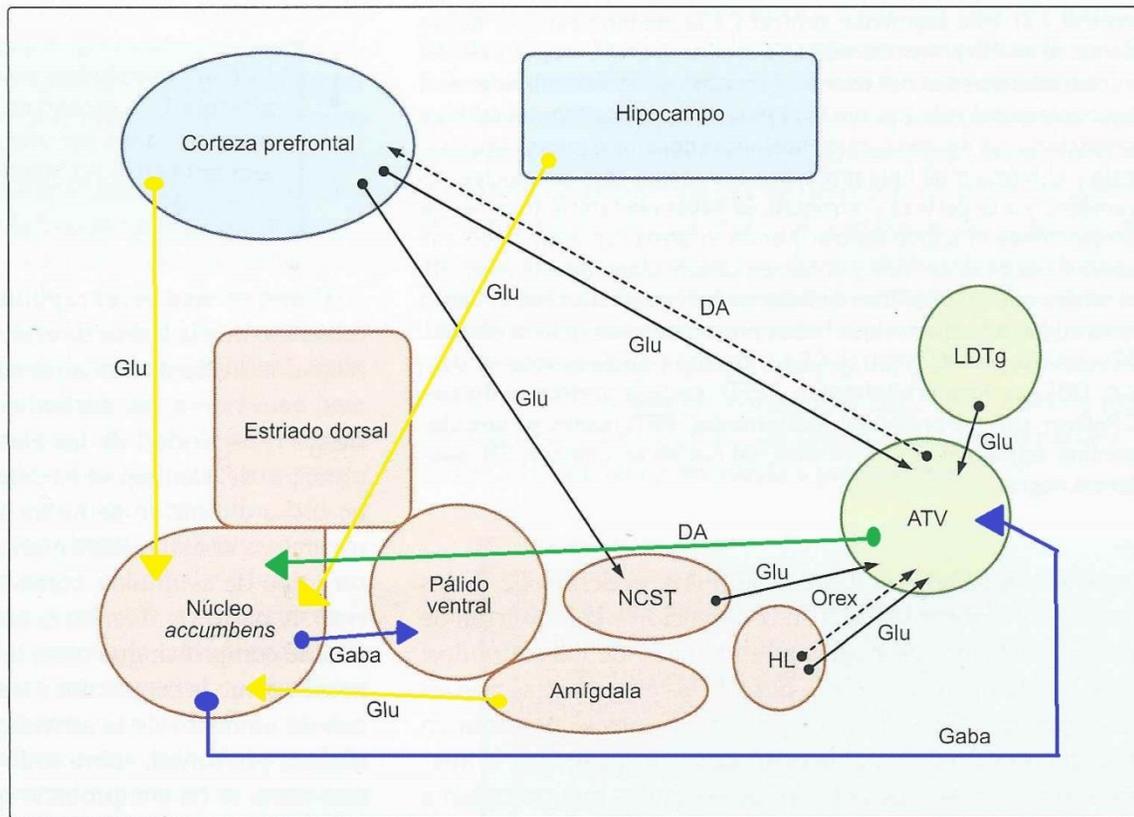


Figura 15. Dinámica de neurotransmisores en el NAc. Se muestra la entrada de DA proveniente del ATV (flecha verde), las entradas glutamatérgicas (Glu) provenientes de hipocampo, amígdala y CP (flechas amarillas) y la salida de GABA hacia el PV y ATV (flechas azules) (modificada de Redolar, 2014).

➤ FUNCIONES DE MAYOR RELEVANCIA EN EL NÚCLEO ACCUMBENS

El NAc es un sustrato neural relevante en los procesos involucrados en la **memoria gustativa**. Está relacionado con la **detección de un sabor novedoso**, disminuyendo la actividad neuronal espontánea en esta estructura (Lee, Koob y Henriksen, 1998). Evidencia previa sugiere que el NAc shell funciona como un enlace entre los circuitos corticales y los hipotalámicos/tallo cerebral, **regulando en consumo de comida** (Kelley, 2004). En cuanto al **reconocimiento del valor hedónico de un estímulo**, se encuentran involucrados diferentes sistemas de neurotransmisión. Se sabe que la estimulación intraoral con sabores tanto apetivos como aversivos incrementan la liberación de DA en el NAc core, sin embargo, en el NAc shell, las respuestas generadas dependen del tipo estímulo. La estimulación intraoral con un sabor apetitivo, como una solución dulce de chocolate, genera un rápido incremento en la liberación de DA; por otro lado, un estímulo aversivo como una solución salina saturada o una solución de quinina no alteran los niveles basales de DA en el NAc shell (Mark, Blander y Hoebel, 1991). Existen estudios que sugieren que el NAc shell participa en el **procesamiento de estímulos viscerales** durante un CAS, incrementando la expresión de C-Fos (proteína que funciona como marcador de actividad neuronal) (Ferreira et al., 2006). Se sabe que la actividad de los receptores de NMDA (N-metil-D-aspartato) tanto en el NAc shell como en el core es necesaria para la formación de la **memoria aversiva al sabor**.

El NAc también está relacionado con procesos presentes en el **reforzamiento**. Como los efectos eufóricos de drogas de abuso; tales como psicoestimulantes, opiáceos y alcohol (Weiss et al., 1992). Además, existen reportes que sugieren que la DA en el NAc juega un papel importante durante **procesos asociativos**, incrementando su liberación durante la formación de asociaciones condicionadas (Young, Joseph y Gray, 1993). Por otro lado, el NAc es considerado una **interfase entre el sistema límbico y motor**, donde el procesamiento de la información afectiva se traduce a acciones motoras (Mongenson, Jones y Yim, 1980).

➤ NEUROQUÍMICA DEL PROCESAMIENTO GUSTATIVO

Existen diversos sistemas de neurotransmisión que interactúan con las estructuras cerebrales involucradas en la formación de la memoria gustativa. Ejemplo de estos sistemas son el colinérgico, glutamatérgico, adrenérgico, GABAérgico y el dopaminérgico. La actividad colinérgica se relaciona con el aprendizaje gustativo, se sabe que la administración de drogas colinérgicas, las cuales estimulan la actividad de la **acetilcolina (ACh)**, facilita la memoria del sabor, mientras que los antagonistas de los receptores de ACh provocan un deterioro de la misma (Ruetti, Justel, y Bentosela, 2009). Por otro lado, en el caso del **glutamato** se sabe que los receptores de NMDA son necesarios para la adquisición de la memoria aversiva al sabor (Ramírez-Lugo, Zavala-Vega y Bermúdez-Ratoni, 2006). En cuanto a la **adrenalina**, se ha demostrado que la administración de propanolol (antagonista β -adrenérgico) en la corteza insular de modo previo a la presentación de un sabor novedoso, afecta el reconocimiento de éste cuando se presenta por segunda vez (Miranda et al., 2008). Con respecto al sistema GABAérgico, se sabe que el **ácido gamma-aminobutírico (GABA)** es el principal neurotransmisor inhibitorio cerebral y tiene un papel importante en el CAS (Berman et al., 2000). El sistema dopaminérgico será descrito a mayor detalle a continuación.

➤ CLASIFICACIÓN DE LA DOPAMINA

Las catecolaminas constituyen una familia de neurotransmisores que derivan de un precursor en común, la **tirosina**, y a la que pertenecen la **DA**, **noradrenalina** y **adrenalina**. Las tres presentan una estructura muy similar (figura 16), compuesta por un anillo de benceno con dos grupos hidroxilos adyacentes y una cadena lateral de etilamina (Miranda et al., 2014).

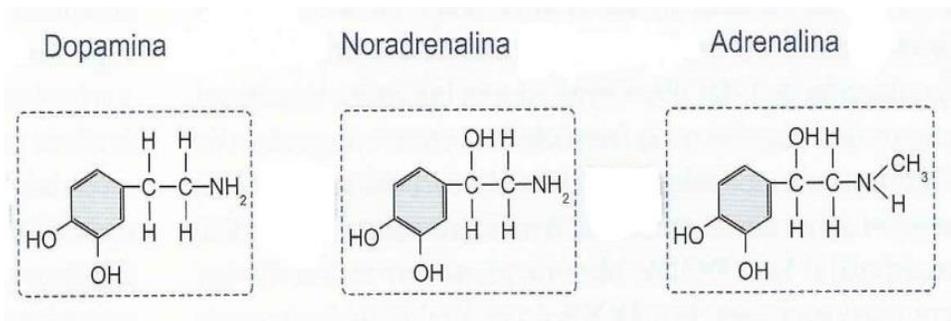


Figura 16. Estructura química de las catecolaminas (modificada de Miranda et al., 2014).

➤ SÍNTESIS DE DOPAMINA

La síntesis de la DA (y de las demás catecolaminas) se produce de forma secuencial a partir de su aminoácido precursor, la **tirosina**. La circunstancia que limita su síntesis en diferentes grupos de neuronas es la disponibilidad de enzimas específicas encargadas de su síntesis. La tirosina puede obtenerse mediante la transformación enzimática de las **fenilalanina** por acción de la enzima hepática **fenilalanina-hidroxilasa**. El transportador de tirosina al cerebro depende de un proceso de captación dependiente de energía, y compite con otros aminoácidos neutros por el transportador. Generalmente se dispone de elevados niveles cerebrales de tirosina, de modo que los cambios en la disponibilidad del transportador no afecta a la síntesis de DA cerebral (Miranda et al., 2014). La síntesis de DA involucra 2 enzimas: **tirosina hidroxilasa (TH)** y **L-aminiácido aromático-descarboxilasa (AADC)**.

• PRIMERA ETAPA DE SÍNTESIS

La **tirosina**, que se acumula en la fracción citosólica de las terminales catecolaminérgicas, es hidroxilada por la **TH** convirtiéndose en **3,4-dihidroxifenilalanina (L-DOPA)** (figura 17). Se considera que la TH es la enzima limitante de la síntesis de catecolaminas, es un péptido de 498 aminoácidos (56 kDa), siendo una oxidasa requiere de la tirosina y oxígeno como sustratos, además del **BH₄** como cofactor para formar la L-DOPA (Miranda et al., 2014).

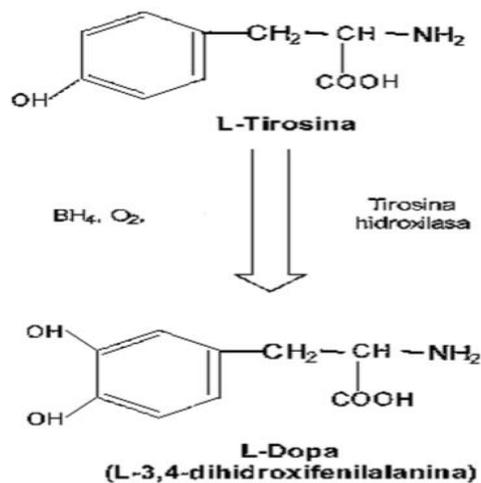


Figura 17. Primera etapa en la síntesis de DA. La tirosina es hidroxilada por la TH convirtiéndose en L-DOPA (modificada Bahena-Trujillo, Flores y Arias-Montaña, 2000).

- **SEGUNDA ETAPA DE SÍNTESIS**

Posteriormente la **L-DOPA** es descarboxilada por la **AADC**, obteniéndose **DA** (figura 18). El aumento de los niveles de L-DOPA en el cerebro da lugar a una rápida síntesis de DA.

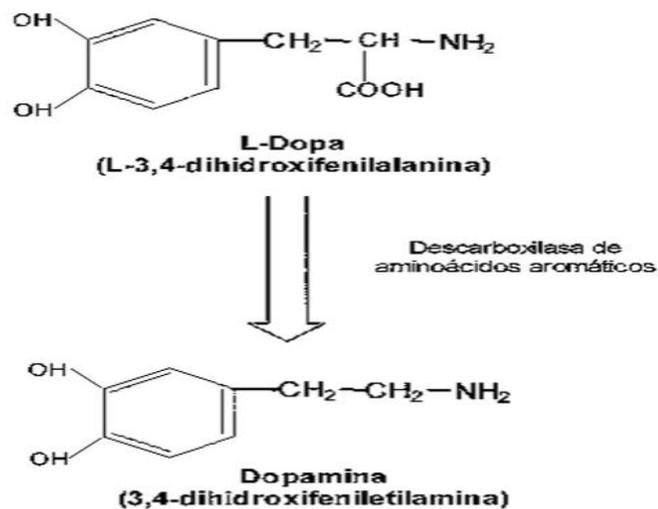


Figura 18. Segunda etapa en la síntesis de DA. La L-DOPA es descarboxilada por la AADC, obteniéndose DA (modificada de Bahena-Trujillo, Flores, & Arias-Montaña, 2000).

En las células dopaminérgicas como las del AVT o la sustancia nigra, la síntesis se detiene con la formación de DA. Al concluir etapa, la **dopamina β-hidroxilasa** y la **feniletanolamina N-metil transferasa** se encargan de la síntesis de noradrenalina y adrenalina, que son los demás neurotransmisores pertenecientes al grupo de las catecolaminas.

La síntesis de catecolaminas se produce en las **terminales sinápticas**, donde la concentración de neurotransmisores es elevada y donde se hayan niveles altos de las enzimas necesarias para su síntesis. Sin embargo, el soma de las neuronas catecolaminérgicas disponen cantidades relativamente escasas de neurotransmisores (Miranda et al., 2014).

➤ **REGULACIÓN DE LA SÍNTESIS DE DOPAMINA**

Existen cuatro procesos principales mediante los cuales se lleva a cabo la regulación de la síntesis de DA:

• **REGULACIÓN POR SUSTRATO Y POR PRODUCTO**

La TH es inhibida por la propia **tirosina**, sin embargo, esto solo se produce en concentraciones superiores a 120 μM de tirosina, por lo que no parece tener alta relevancia en la regulación (Kaufman, 1986). Por otro lado, se sabe que los **productos metabólicos** de la síntesis del neurotransmisor (L-DOPA y DA) inhiben la actividad de la TH en homogenados de tejido cerebral (Fujisawa y Okuno, 1989). Se ha demostrado que la rápida acción de **AADC** hace que la concentración de L-DOPA sea extremadamente baja y que altas concentraciones de DA podrían ser un mecanismo regulador de TH (Gray, 1982).

• **REGULACIÓN DE LA TH POR FOSFORILACIÓN**

La adición de **grupos fosfato** a la TH provoca un importante aumento de su actividad catalítica (Weiner y Molinoff, 1989). La TH es un importante sustrato para la acción de diversas proteínas cinasas como la **PKA** y la **PKC**, entre otras (Miranda et al., 2014).

- **REGULACIÓN POR AUTORRECEPTORES**

Diversos estudios tanto in vivo como in vitro han mostrado que los **agonistas dopaminérgicos** disminuyen la síntesis del neurotransmisor, actuando sobre **autorreceptores** localizados en las terminales dopaminérgicas (Hetey et al., 1985). El efecto inhibitor se encuentra mediado por receptores pertenecientes a la familia D₂ cuya activación inhibe la liberación de DA (Dwoskin y Zahniser, 1986). La familia a la que pertenecen los receptores de DA, así como su mecanismo de acción será abordada a mayor detalle en el apartado de “Receptores Dopaminérgicos”.

- **REGULACIÓN POR HETERORRECEPTORES**

Otros neurotransmisores pueden también modular la síntesis de la DA activando receptores presentes en las terminales nerviosas dopaminérgicas (Bahena-Trujillo, Flores y Arias-Montaña, 2000). Ejemplos de esta modulación son: para la estimulación de la actividad de la TH; **receptores A₂** para adenosina (Chowdhury y Fillenz, 1991) y **receptores NMDA** para glutamato (Arias-Montaña, Martínez-Fong y Aceves, 1992), y para la inhibición de la síntesis; los **receptores para GABA_B** (Arias-Montaña, Martínez-Fong y Aceves, 1992).

- **LIBERACIÓN DE DOPAMINA**

Una vez sintetizada, la DA puede ser liberada o almacenada en **vesículas** presentes en las terminales sinápticas. El almacenamiento en estas vesículas previene la degradación de la DA por la acción de la enzima monoaminooxidasa (**MAO**). El almacenamiento en estas vesículas depende del transportador **VMAT-2** (Miranda et al., 2014).

Cuando una neurona dopaminérgica es convenientemente estimulada, la DA almacenada se libera al espacio extracelular por **exocitosis dependiente de calcio**. Mediante este proceso, la **membrana de las vesículas** que contienen a la DA se fusiona con la **membrana de la terminal presináptica**, dando lugar a la liberación de DA al **espacio sináptico**. Una vez liberada, la DA se une a

receptores específicos, ubicados en las neuronas pre y postsinápticas, modificando su actividad funcional (Miranda et al., 2014).

➤ **REGULACIÓN DE LA LIBERACIÓN DE DOPAMINA**

La liberación de DA es regulada tanto por **autorreceptores** como por **heterorreceptores**.

• **REGULACIÓN POR AUTORRECEPTORES**

Las terminales dopaminérgicas poseen **autorreceptores** cuya activación reduce la liberación de DA (Dwoskin y Zahniser, 1986), el efecto se debe principalmente a la inhibición de la formación de **AMPc** y de la apertura de **canales de Ca²⁺** (Bahena-Trujillo, Flores y Arias-Montaña, 2000). La distribución de los autorreceptores determina el tipo de inhibición que producen (inhibición de la liberación mediada por autorreceptores localizados en las terminales presinápticas y reducción de la tasa de disparo neuronal por receptores somatodendríticos) (Miranda et al., 2014).

• **REGULACIÓN POR HETERORRECEPTORES**

Se ha demostrado que las terminales dopaminérgicas poseen receptores para **GABA, glutamato, ACh y serotonina** (Raiteri, Marchi y Maura, 1982).

Estudios in vitro e in vivo han mostrado que la liberación de DA es estimulada por la activación de receptores **GABA_A** (Giorguieff et al., 1978), glutamatérgicos **NMDA** (Cheramy et al., 1986) y **colinérgicos** (Lehmann y Langer, 1982). Por otro lado, se observa inhibición de la liberación al estimular **receptores GABA_B** (Reimann, Zumstein y Starke, 1982).

➤ **RECAPTACIÓN Y DEGRADACIÓN DE LA DOPAMINA**

La eliminación y, por lo tanto, la inactivación funcional de la DA se obtiene a través de dos mecanismos: la **recaptación presináptica** a través de transportadores y la **degradación** mediante la acción de enzimas catabólicas situadas tanto intracelular como extracelularmente.

La **recaptación presináptica** de DA es el mecanismo más importante de inactivación de dicho neurotransmisor. Este transporte a la terminal presináptica permite que la DA pueda ser almacenada nuevamente en vesículas o que se inactive mediante la acción de ciertas enzimas de degradación presentes en la terminal. Los transportadores de DA, al igual que los de las demás catecolaminas y otros neurotransmisores, son proteínas que dependen del gradiente de Na^+ y de Cl^- extracelular, son saturables, el proceso de transporte es dependiente de energía y se encuentran presentes en la membrana celular de las neuronas dopaminérgicas. Son dos los transportadores identificados: el **transportador de DA (DAT)** y el **transportador de noradrenalina (NAT)**.

Ambos transportadores presentan poca especificidad por un sustrato y transportan tanto DA como noradrenalina. No obstante, su localización anatómica se restringe a las neuronas que producen cada catecolamina (dopaminérgicas en el caso de DAT y noradrenérgicas en el caso de NAT). Una vez recaptada en la terminal presináptica, la DA es **degradada** por la acción de dos enzimas: una mitocondrial, la **MAO**, y otra soluble, la **catecol-O-metiltransferasa (COMT)**. La DA recaptada es convertida en **ácido dihidroxifenilacético (DOPAC)** por acción de la MAO y la **aldheído-deshidrogenasa** que a su vez servirá de sustrato a la COMT para metabolizarlo en **ácido homovanílico (HVA)**. La **DA no recaptada será metabolizada** por acción de la COMT a **3-MT**, que a su vez será metabolizada a **HVA** por la actividad de la MAO y la aldheído-deshidrogenasa. En primates, el HVA constituye el metabolito principal, mientras que en otras especies como la rata el DOPAC es el metabolito principal. Estos dos metabolitos constituyen buenos indicadores de la actividad dopaminérgica y se estudian frecuentemente en estudios animales y clínicos (Miranda et al., 2014).

➤ **RECEPTORES DE DOPAMINÉRGICOS**

La capacidad de la DA para afectar a la actividad neuronal se debe a su acción a través de un conjunto de receptores pertenecientes a la **familia de receptores acoplados a proteína G con siete dominios transmembranales**. Estos receptores son **metabotrópicos** y **de acción lenta**, modulando la actividad de

otros receptores y algunos canales iónicos. La DA liberada por la terminal presináptica interacciona con **cinco receptores dopaminérgicos (D₁-D₅)** divididos en **dos subfamilias** por la similitud estructural y funcional que presentan, de modo que los receptores **D₁ y D₅** pertenecen a la **familia de receptores D₁** (activan principalmente a la adenilato-ciclasa, aumentando la acumulación intracelular de AMP_C), y los receptores **D₂, D₃ y D₄** pertenecen a la **familia de receptores D₂** (inhibien la adenilato-ciclasa, disminuyendo la acumulación intracelular de AMP_C) (Miranda et al., 2014).

En la figura 19 se muestra un esquema con algunos de los elementos que constituyen una sinápsis dopaminérgica.

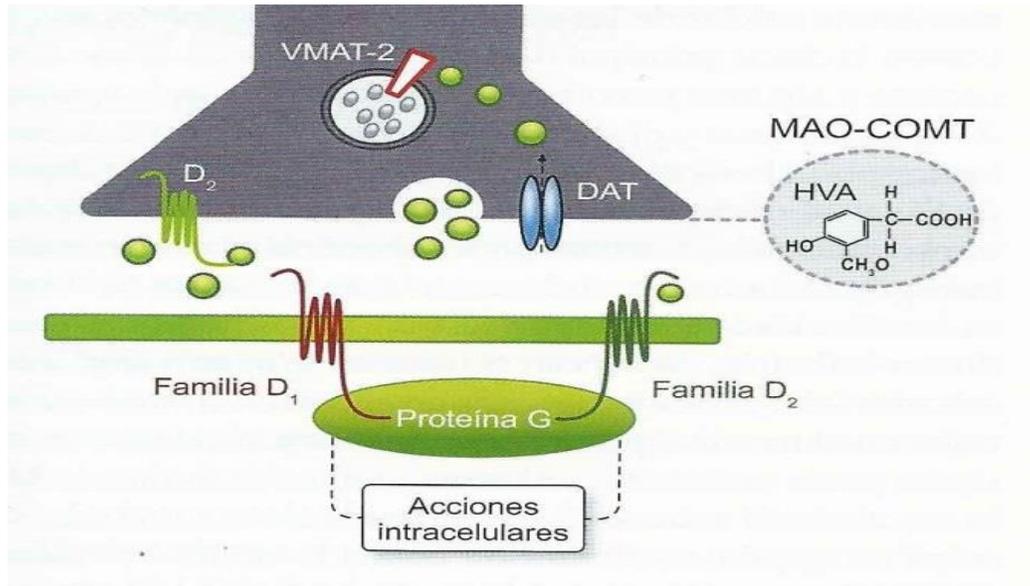


Figura 19. Esquema de una sinápsis dopaminérgica. En la terminal presináptica se observa a la DA almacenada en vesículas (lo cual depende del transportador VMAT-2), la membrana de las vesículas se fusiona con la membrana de la terminal presináptica, dando lugar a la liberación de DA al espacio sináptico, donde encontramos a las enzimas de degradación MAO y COMT que la metabolizan a HVA (en primates). También se aprecian autorreceptores D₂ que regulan la síntesis y liberación, mientras que el transportador DAT se encarga de la recaptura. Por otro lado, en la terminal postsináptica se aprecian a los receptores de DA acoplados a proteína G (Miranda et al., 2014).

➤ DISTRIBUCIÓN DE LOS RECEPTORES DOPAMINÉRGICOS

Los receptores **D₁** son los receptores dopaminérgicos que presentan una distribución mas amplia en el sistema nervioso central. Se han detectado niveles elevados de este receptor en los **tubérculos olfatorios, el neoestrado, el NAc, la amígdala, la sustancia nigra y el cerebelo**, siendo más moderados los niveles observados en la **corteza cerebral, globo pálido y el tálamo**. Aunque presentes, su densidad es escasa en el **hipocampo, el septum, el hipotálamo y el ATV**. Los receptores **D₅**, sin embargo, tienen poca densidad de expresión en la **corteza cerebral** y su expresión parece restringirse principalmente a la **formación hipocampal y al núcleo parafascicular del tálamo**. Con respecto al receptor **D₂** se ha observado una elevada densidad en el **neoestriado, los tubérculos olfatorios, la formación hipocampal, el NAc y el ATV**, siendo de menor densidad su expresión en la **sustancia nigra, la corteza cerebral, el globo pálido la amígdala, el tálamo, el hipotálamo y la hipófisis**. Los receptores **D₃** se encuentran ampliamente distribuidos por el **prosencefalo basal, los tubérculos olfatorios, el NAc, el estriado y la sustancia nigra**. Los receptores **D₄** se localizan en el **tálamo, la corteza frontal, el hipocampo, el estriado, los ganglios basales y el cerebelo** (Miranda et al., 2014).

➤ PRINCIPALES VÍAS DOPAMINÉRGICAS

Con relación a las neuronas dopaminérgicas pueden distinguirse cinco vías (figura 20) claramente diferenciadas: la **vía dopaminérgica nigroestriada**, que proyecta de la sustancia nigra del mesencéfalo al estriado dorsal, formando parte del sistema nervioso extrapiramidal. La **vía dopaminérgica mesolímbica**, que posee proyecciones del ATV al NAc. La **vía dopaminérgica mesocortical**, que proyecta del ATV a diferentes regiones de la CP. La **vía dopaminérgica tuberoinfundibular**, que posee proyecciones del hipotálamo a la hipófisis anterior. Finalmente se ha descrito una **quinta vía dopaminérgica** que procede de diferentes localizaciones, como la sustancia gris periacueductal, el mesencéfalo ventral, diferentes núcleos hipotalámicos y el NPB lateral, dichas estructuras proyectan al tálamo (Redolar, 2014).

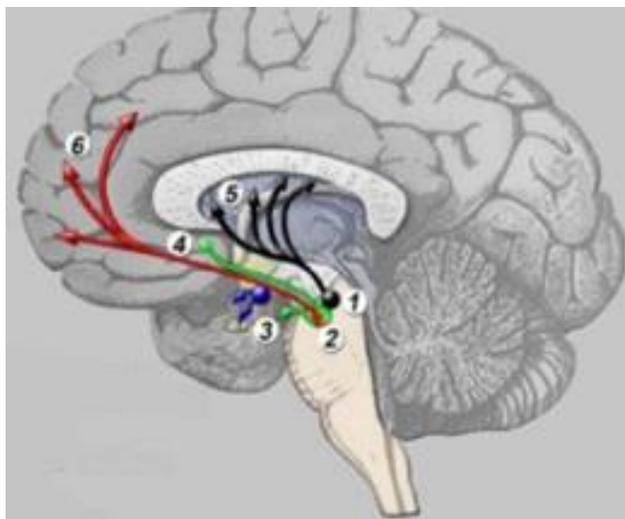


Figura 20. Vías dopaminérgicas. Se muestra: vía dopaminérgica nigroestriada (en negro), vía dopaminérgica mesolímbica (en verde), vía dopaminérgica mesocortical (rojo) y la vía dopaminérgica tuberoinfundibular (en azul), las cuales interactúan con la sustancia nigra (1), ATV (2), amígdala (3), NAc (4), estriado dorsal (5) y la CP (6). En la imagen no se muestran las proyecciones dopaminérgicas que llegan al tálamo (modificada de Litvin, 2013).

➤ FUNCIONES DE MAYOR RELEVANCIA DE LA DOPAMINA

Se ha sugerido que la participación de las vías dopaminérgicas tiene un papel importante durante la formación de la **memoria gustativa**. La DA se ha relacionado con la **adquisición de conductas apetitivas**. Diversos estudios utilizando la técnica de microdiálisis han reportado que al alimentar a ratas privadas de alimento se obtiene un incremento en la concentración extracelular de DA en el NAc y CP (Church, Justice y Neill, 1987). Así mismo, se ha relacionado con la **adquisición de conductas aversivas**. Se ha demostrado que al aplicar un estímulo gustativo aversivo, como una inyección intraoral de quinina, incrementan los niveles extracelulares de DA en la CP, pero no en el NAc (Bassareo, De Luca y Di Chiara, 2002). De igual forma, se ha asociado con el **reconocimiento del valor hedónico de un estímulo**, anteriormente se mencionó que la DA incrementa o disminuye dependiendo del estímulo y de la estructura.

La DA también es fundamental para regular los **estados motivacionales** y es el principal neurotransmisor del **sistema cerebral del refuerzo y recompensa** (figura 21). **La vía dopaminérgica mesolímbica** es el sistema más importante

para explicar cómo los **reforzadores tanto naturales** (comida, sexo, bebida) como **no naturales** (drogas de abuso) refuerzan la conducta. En general, todas las drogas que puedan ser objeto de abuso y generar dependencia **aumentan la concentración de DA en el NAc** (Miranda et al., 2014).

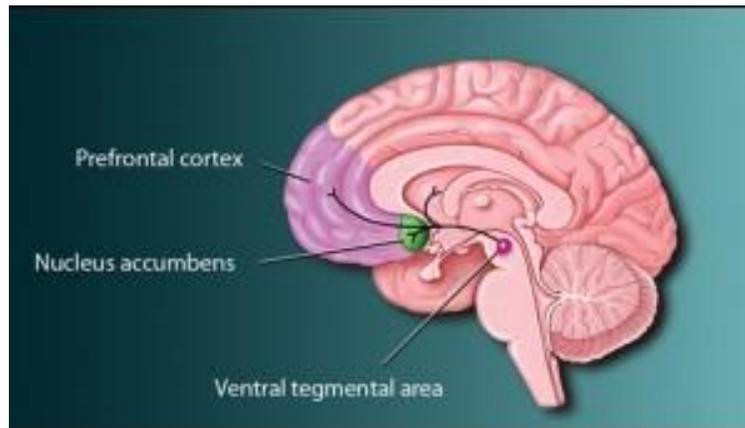


Figura 21. Sistema de recompensa. La DA es transmitida de ATV (en rosado) hacia el NAc (en verde) y posteriormente llega a la CP (en morado) (Karageorgos, 2013).

Por otro lado, los sistemas dopaminérgicos regulan numerosas funciones cerebrales, desde el control de **funciones neurovegetativas** como **la presión arterial** hasta **funciones motoras** o, incluso, los **procesos cognitivos y emocionales** más complejos. La participación de la DA en estas funciones queda claramente demostrada cuando se estudian algunos trastornos neurológicos y neuropsiquiátricos, entre ellos la **enfermedad de Parkinson**. La importancia de la DA en la aparición y el curso de esta enfermedad fue evidenciada por Ehringer y Hornykiewicz, quienes a principios de la década de 1960 demostraron que la **disminución de DA** en pacientes con esta enfermedad. La característica neuroquímica fundamental de este trastorno es la **degeneración de la vía dopaminérgica nigroestriada**. Otro trastorno que se relaciona estrechamente con la neurotransmisión dopaminérgica es la **esquizofrenia**. Diversos datos experimentales y clínicos indican que la **hiperactividad dopaminérgica** en los pacientes que presentan dicho trastorno es una de las características más importantes.

IV. JUSTIFICACIÓN

Se sabe que el NAc tiene un papel relevante durante la formación de la memoria gustativa. Estudios basados en la técnica de microdiálisis han demostrado que estímulos gustativos apetitivos inducen un incremento en los niveles extracelulares de DA en la región core, pero no en el shell (Bassareo y Di Chiara, 1999), por lo que se sugiere que la transmisión de DA cumplirá diferentes roles dependiendo de la porción (core o shell) que se estudie. Por otro lado, se sabe que el NAc tiene una función importante en el reconocimiento de un sabor novedoso, sin embargo, no se conocen los cambios que ocurren en esta estructura tras un consumo crónico, por lo que resulta importante conocer los cambios en los niveles extracelulares de DA en dicha estructura cuando el estímulo es altamente familiar, comparando dicha respuesta con la que genera el consumo de un sabor novedoso y un sabor ligeramente familiar. Además, se decidió trabajar en la región shell debido a que está mayormente relacionada con los estímulos apetitivos, mientras que el core se relaciona con los estímulos aversivos.

V. HIPÓTESIS

La transmisión dopaminérgica en el NAc shell tendrá cambios diferenciales en los niveles extracelulares de DA dependiendo del grado de familiarización con el consumo de azúcar.

VI. OBJETIVOS

- **GENERAL**

Evaluar a través de microdiálisis en ratas en libre movimiento los cambios en los niveles extracelulares de DA en el NAc shell, durante el consumo novedoso de una solución azucarada (azúcar 10%), y tras el consumo agudo durante 2 días / 15 minutos de un sabor ligeramente familiar; así como durante el consumo de un sabor altamente familiar tras un consumo crónico de 14 días, como único líquido de ingesta *ad libitum*.

➤ **PARTICULARES**

- Caracterizar el procedimiento para determinar los niveles extracelulares de DA, a través de la técnica de HPLC, en microdializados obtenidos en animales en libre movimiento.
- Determinar los cambios en los niveles extracelulares de DA en el NAc shell durante el consumo novedoso, familiar (2 días) y altamente familiarizado (consumo crónico de 14 días) de azúcar.

VII. MATERIAL Y MÉTODOS

➤ **SUJETOS EXPERIMENTALES**

Se utilizaron 22 ratas macho de la cepa Wistar, en un peso de 300 g para el grupo crónico y de 400 g para el agudo. Fueron proporcionadas por el bioterio del Instituto de Neurobiología de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Los animales se mantuvieron a lo largo de los experimentos en cajas de plástico individuales (45 x 25 x 20 cm), ubicadas en el *vivarium* del laboratorio. Bajo un ciclo de luz-oscuridad invertido: 12 h de luz/12 h de oscuridad (9 a.m. a 9 p.m.). Con temperatura regulada a 23 ± 2 °C y humedad relativa del 60 ± 5 %. La manipulación de los animales y los experimentos se realizó durante su fase de actividad. Todos los procedimientos siguieron las normas establecidas por el Comité de Bioética y Cuidado Animal del Instituto de Neurobiología de la UNAM. Así también, están acordes con la normatividad internacional para el manejo y uso de animales de experimentación.

➤ **ACLIMATACIÓN**

Tras su llegada del bioterio, los animales fueron habituados una semana al *vivarium* del laboratorio con agua y alimento *ad libitum* antes de iniciar el protocolo experimental.

➤ **ESQUEMAS DE CONSUMO**

Al término de la habituación, los animales fueron divididos en tres grupos: novedoso (n=8), agudo (n=8) y crónico (n=8). En el caso del grupo crónico, los animales tuvieron un consumo de azúcar al 10% durante 14 días como único líquido de ingesta *ad libitum* y consumo *ad libitum* de alimento. Durante este periodo se llevó un registro diario de su peso corporal, consumo de alimento y de líquido consumido.

Posteriormente, fueron sometidos a cirugía estereotáxica. En el caso de los grupos novedoso y agudo fueron sometidos a cirugía inmediatamente después de la semana de aclimatación.

➤ **CIRUGÍA ESTEREOTÁXICA**

Los animales fueron anestesiados con una mezcla de xilacina (3 ml/kg) y ketamina (7 ml/kg), vía intraperitoneal, mediante la técnica de cirugía estereotáxica se les implantó una guía cánula para microdiálisis (unilateral) dirigida al NAc shell, teniendo como referencia las siguientes coordenadas a partir de Bregma: (anteroposterior +1.8 mm), (lateral \pm 0.9 mm) y (dorsoventral -6.2 mm), de acuerdo al atlas de Paxinos y Watson, 1998. La cánula fue fijada con dos tornillos y acrílico dental. El estilete fue insertado en la guía cánula para microdiálisis, para prevenir su obstrucción. Los animales se dejaron recuperar durante una semana con agua-alimento *ad libitum* para los grupos novedoso y agudo; y azúcar-alimento *ad libitum* para el grupo crónico. Posteriormente se llevaron a cabo los protocolos experimentales.

➤ **PROTOCOLO GENERAL DE MICRODIÁLISIS EN LIBRE MOVIMIENTO**

Todos los animales fueron privados de agua o azúcar 24 horas antes de la microdiálisis y habituados a consumir en una probeta graduada con 40 ml de agua (grupo novedoso y agudo) y 40 ml de azúcar (grupo crónico), por 15 minutos respectivamente, en la cámara de microdiálisis, durante 2 días para establecer la línea base (LB). Al finalizar se registró su consumo.

Posterior a los dos días de LB, el procedimiento de microdiálisis inicio conectando la sonda de microdiálisis de 2 mm (Eicom CX-I-12-03 807) a una bomba de microinyección que circuló a un flujo constante de 2 μ l/min con una solución de Ringer. Posteriormente fue insertada la sonda de microdiálisis en la guía cánula en el NAc shell y la rata fue colocada en la cámara de microdiálisis.

Los primeros 60 min de muestreo de microdiálisis correspondientes al período de estabilización fueron descartados. Posteriormente, se colectaron 5 muestras basales, en la muestra 6 se les presentó a los animales una probeta con 40 ml de azúcar, durante 15 min; finalizando se registró el consumo y se colectaron 6 muestras basales posteriores al consumo de azúcar (de la 7 a la 12). En la muestra 13 se les presentó a los animales una probeta con 40 ml de agua, durante 15 min; de la misma manera se registró el consumo y se colectó una muestra adicional. Inmediatamente después de coleccionar todas las muestras de microdiálisis fueron congeladas a -30 °C, para su posterior análisis por HPLC.

En las figuras 22, 23 y 24 se muestra el protocolo general que se llevó a cabo para los grupos novedoso, agudo y crónico.

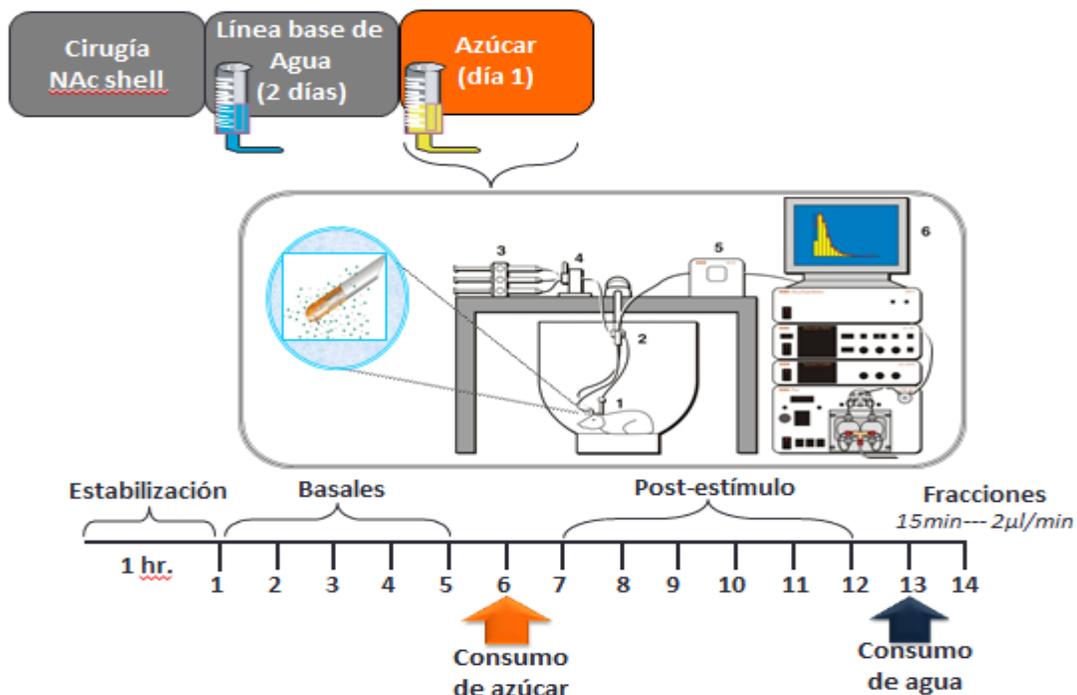


Figura 22. Protocolo general para el grupo novedoso.

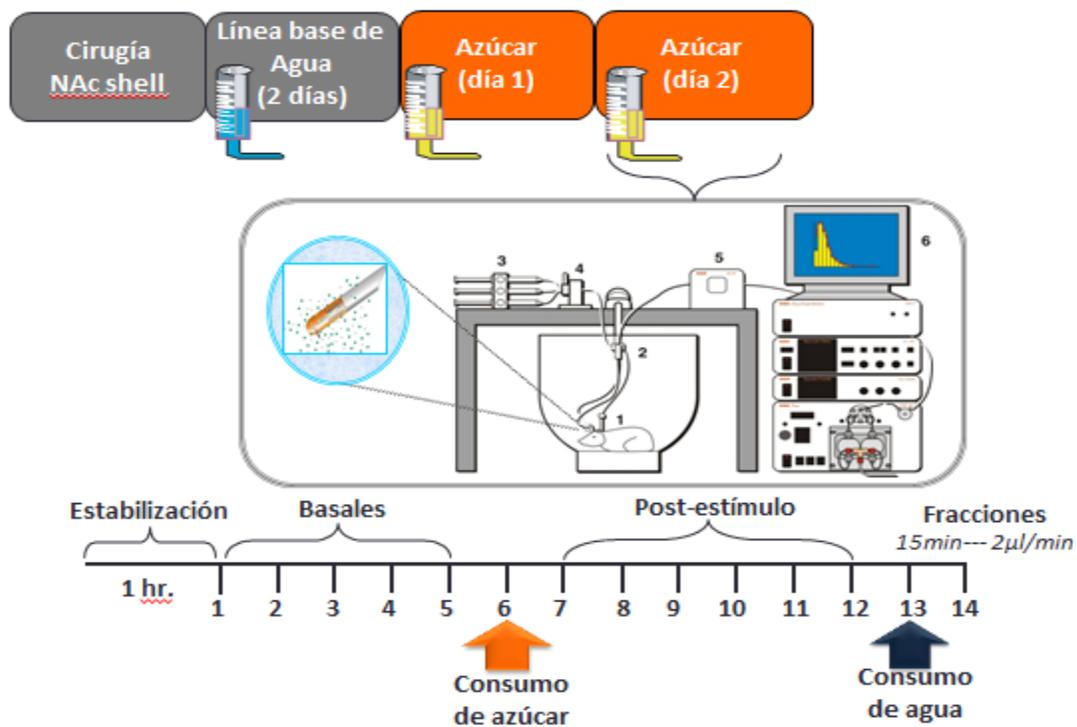


Figura 23. Protocolo general para el grupo agudo.

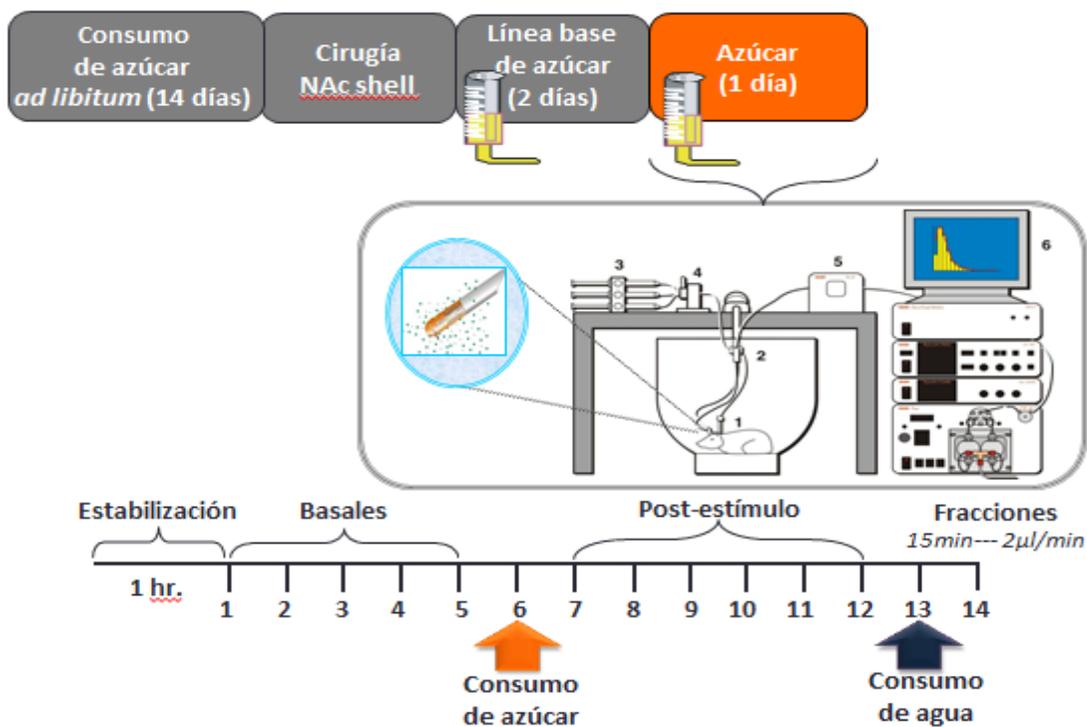


Figura 24. Protocolo general para el grupo crónico.

➤ **ANÁLISIS Y CUANTIFICACIÓN DE DOPAMINA A TRAVÉS DE HPLC**

Los niveles extracelulares de DA de las muestras de microdiálisis se analizaron a través del HPLC con detección electroquímica (BAS, West Lafayette, IN). Se utilizó una fase móvil de fosfato de sodio 90 mM ajustada a un pH = 3.0 con NaOH. El volumen de las muestras (25 µl) se mezcló con 10 µl de antioxidante (ácido acético + ácido oxálico). Las muestras fueron inyectadas a una columna C18 (ODS 100* 3mm) de 3 µm a 30°C a un flujo de 0.6 ml/min. Las concentraciones fueron determinadas del área de cada pico utilizando un estándar externo de DA (dopamine hydrochloride, SIGMA) el mínimo detectable fue de 1 pmol/µl.

➤ **HISTOLOGÍA**

Una vez finalizado el experimento, los animales fueron inyectados intraperitonealmente con una sobredosis de pentobarbital sódico y fueron perfundidos intracardialmente con solución salina isotónica. Se extrajeron los cerebros y se conservaron en una solución de formaldehído al 10% cuatro días. Posteriormente se cambiaron a una solución de sacarosa al 30%, en la que se mantuvieron durante un mínimo de cuatro días hasta el momento del corte.

Se realizaron cortes coronales de 40µ m en un microtomo a -30°C. Los cortes fueron colocados en portaobjetos gelatinizados para su posterior tinción con violeta de cresilo. Una vez teñidos se examinaron en un microscopio óptico para determinar el lugar en que la sonda de microdiálisis fue colocada.

➤ **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Para comparar las diferencias que hubo en el grupo crónico en cuanto al peso corporal, consumo de alimento y de líquido a lo largo de los 14 días del consumo crónico se realizó una prueba t pareada, donde los valores de $p < 0.05$ fueron considerados significativos.

En cuanto a los cortes histológicos, sólo aquellos sujetos cuya sonda de microdiálisis estuvo localizada correctamente (NAc shell) y que no presentaron

necrosis tisular fueron tomados en cuenta para el análisis estadístico. Seis animales canulados fueron excluidos.

Por otro lado, se realizó un ANOVA factorial para determinar si existían diferencias significativas en los niveles extracelulares de DA entre grupos y a lo largo de las fracciones (1-14) durante el proceso de microdiálisis. Posteriormente, se hizo una prueba *post-hoc Fisher* para determinar el valor de dichas diferencias, donde $p < 0.05$ fue considerado significativo.

Las diferencias entre grupos durante el consumo de azúcar y agua, fueron determinadas por un ANOVA factorial, seguido de una prueba *post-hoc Fisher* en donde los valores de $p < 0.05$ fueron considerados significativos.

VIII. RESULTADOS

Durante la primera etapa de los experimentos se logró replicar algunos de los efectos ocasionados por el consumo crónico de azúcar, observados en experimentos previos del laboratorio. Se midieron en g. los cambios que el grupo crónico tuvo tanto en peso corporal como en consumo de alimento y de líquido; dichos cambios fueron graficados con respecto a los 14 días de consumo. Para comparar las diferencias que hubo se realizó una prueba t pareada, donde los valores de $p < 0.05$ fueron considerados significativos. El consumo crónico de azúcar ocasionó un aumento significativo en el peso corporal de los animales (figura 25), así mismo, se encontraron diferencias significativas en la cantidad de líquido que consumieron (figura 26), la cual se acompañó de un menor consumo de alimento a lo largo del periodo de consumo (figura 27), esto puede deberse, a que los animales compensaron el exceso de calorías reduciendo la ingesta en la dieta sólida.

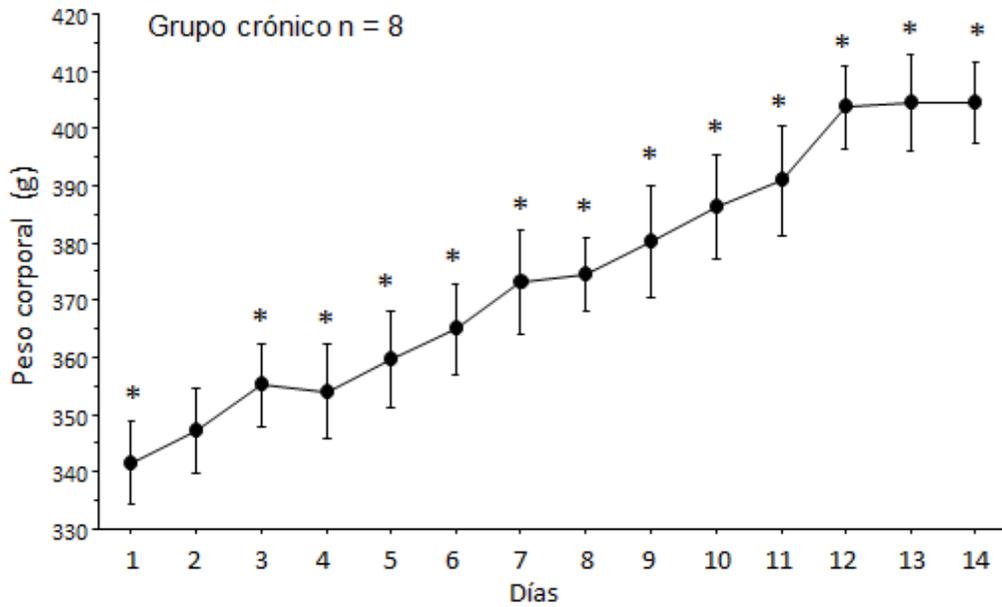


Figura 25. En la gráfica se muestran el peso corporal a lo largo de los 14 días de consumo crónico (consumo *ad libitum* de azúcar). * Indica diferencias significativas ($p < 0.05$) con respecto al día 1.

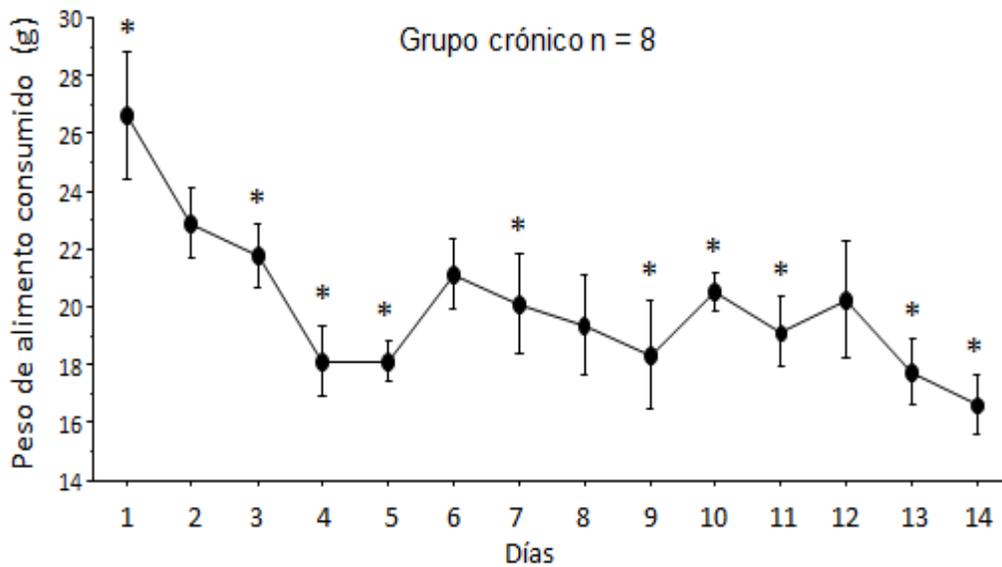


Figura 25. En la gráfica se muestra el peso de alimento consumido a lo largo de los 14 días. * Indica diferencias significativas ($p < 0.05$) con respecto al día 1.

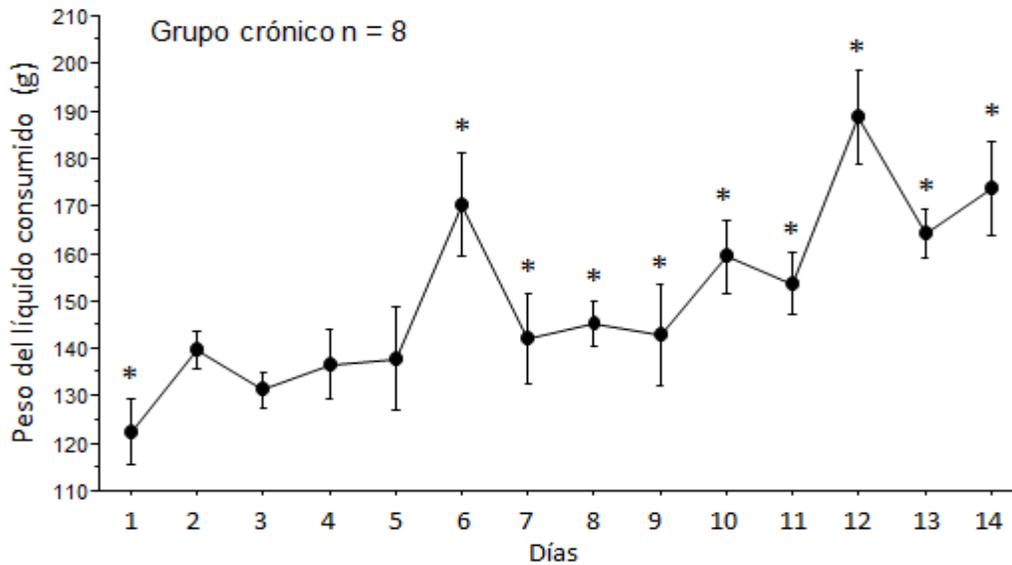


Figura 26. En la gráfica se muestra el peso del líquido consumido a lo largo de los 14 días. * Indica diferencias significativas ($p < 0.05$) con respecto al día 1.

Por otro lado, los resultados obtenidos en los cortes histológicos mostraron que de los 24 animales canulados, en 6 de ellos la sonda de microdiálisis se encontraba en una región distinta al NAc shell (4 del grupo novedoso, 2 del agudo y 2 del crónico), por lo que fueron excluidos del análisis estadístico. Restando 16 sujetos cuya posición de la sonda de microdiálisis se encontró en la zona de interés y sin presentar necrosis tisular (figura 28).

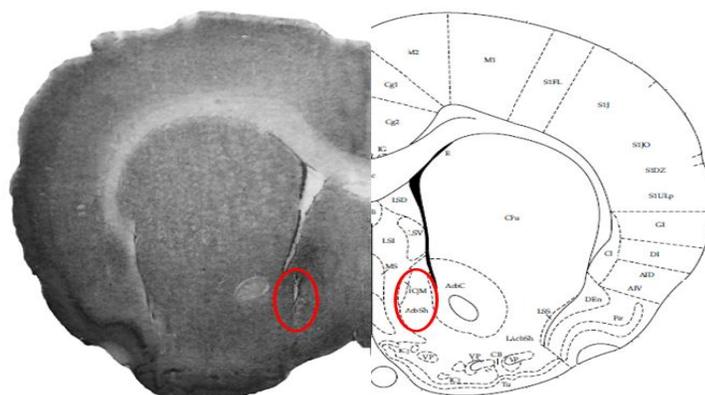


Figura 28. Microfotografía NAc Shell. (IZQ) Corte histológico coronal obtenido de los animales tras haber sido sometidos a la cirugía para colocar la sonda de microdiálisis, el óvalo rojo muestra la posición de dicha sonda. (DER) Esquema representativo de la ubicación del NAc en el cerebro de rata (óvalo rojo).

➤ PROCESO DE MICRODIÁLISIS

• NEUROQUÍMICA BASAL

Se realizó un promedio de las 4 primeras muestras basales para establecer la LB. Por medio de un ANOVA factorial se determinó si existían diferencias significativas en los niveles extracelulares de DA, los resultados revelaron que no hubo diferencias significativas entre grupos ni con la muestra 5 (figura 29).

• NEUROQUÍMICA DEL COMPORTAMIENTO

Se registró la liberación de DA durante el consumo de azúcar. Por medio de un ANOVA factorial se determinó si existían diferencias significativas en los niveles extracelulares de DA, seguido de una prueba *post-hoc Fisher* en donde los valores de $p < 0.05$ fueron considerados significativos. Los resultados revelaron que durante el consumo novedoso no hubo cambios significativos en la liberación de DA. Sin embargo, durante el consumo agudo se incrementaron significativamente los niveles extracelulares de DA, pero disminuyeron después del consumo crónico (figura 29).

• NEUROQUÍMICA POST-ESTÍMULO

Se registró la liberación de DA durante las muestras posteriores al consumo de azúcar. Por medio de un ANOVA factorial se determinó si existían diferencias significativas en los niveles extracelulares de DA, seguido de una prueba *post-hoc Fisher* en donde los valores de $p < 0.05$ fueron considerados significativos. En el caso del grupo novedoso se observa una tendencia a disminuir la liberación de DA a lo largo de las muestras post-estímulo, además, muestra diferencias significativas con el grupo agudo hasta la muestra 9 y con el grupo crónico hasta la muestra 7. Con respecto al grupo agudo, la liberación de DA disminuye significativamente a lo largo de las muestras post-estímulo, además presenta diferencias significativas con el grupo crónico hasta la muestra 9. En el caso del

grupo crónico se observa una tendencia a aumentar la liberación de DA a lo largo de las muestras post-estímulo (figura 29).

- **NEUROQUÍMICA DEL COMPORTAMIENTO**

Se registró la liberación de DA durante el consumo de agua. Por medio de un ANOVA factorial se determinó si existían diferencias significativas en los niveles extracelulares de DA. Los tres grupos aumentaron la liberación de DA con respecto a la muestra anterior al consumo de agua, sin embargo, no se obtuvieron diferencias significativas entre los grupos durante el consumo (figura 29).

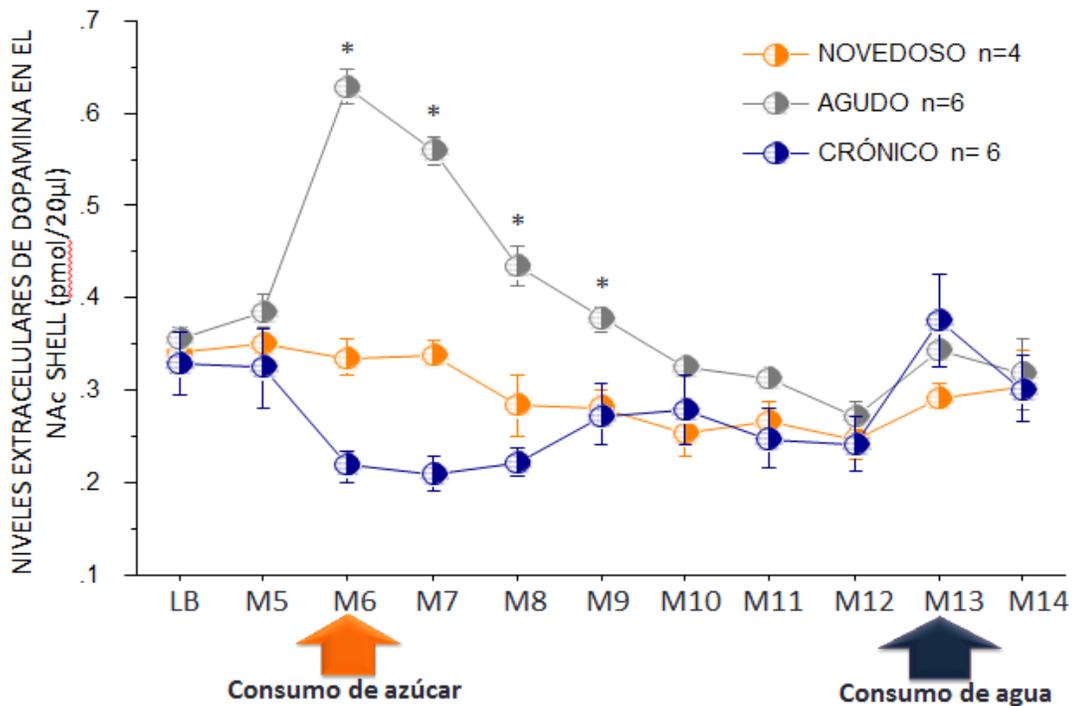


Figura 27. Se muestran los niveles extracelulares de DA en el NAc shell durante el consumo novedoso, agudo y familiar. La flecha anaranjada indica el tiempo en el cual se dio el consumo de azúcar, mientras que la flecha azul indica el tiempo en el cual se dio el consumo de agua (Grupos independientes; * $p < 0.05$).

- **CONSUMOS**

Se registró el consumo en ml de azúcar y agua de los tres grupos (figura). Por medio de un ANOVA factorial se determinó si existían diferencias significativas en los niveles extracelulares de DA, seguido de una prueba *post-hoc Fisher* en donde los valores de $p < 0.05$ fueron considerados significativos. Durante el consumo de azúcar, no hubo cambios significativos entre los tres grupos, sin embargo, durante el consumo de agua se observa un mayor consumo sólo en el grupo crónico, el cual reveló diferencias significativas con respecto al grupo novedoso (Figura 30).

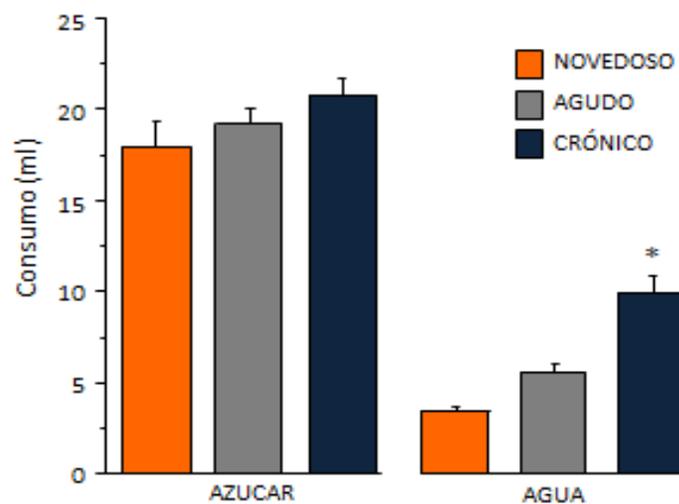


Figura 28. Se muestra el consumo (ml) de azúcar y agua de los tres grupos (novedoso, agudo y crónico), durante la muestra 6 y 13, respectivamente, del protocolo de microdiálisis. (Grupos independientes; * $p < 0.05$).

IX. DISCUSIÓN

Los estudios realizados en esta investigación fueron enfocados hacia el NAc shell, que es una región relevante durante el procesamiento de conductas motivadas y el reconocimiento de reforzadores.

Se determinó a través de microdiálisis en ratas en libre movimiento los cambios en los niveles extracelulares de DA en el NAc shell, tras el consumo crónico de azúcar. Los resultados obtenidos mostraron que durante la presentación del sabor novedoso no hay cambios en la liberación de DA, sin embargo, durante la segunda presentación del sabor (ligeramente familiar) hubo un incremento

significativo en los niveles extracelulares de DA. Por otra parte cuando el sabor fue altamente familiar (consumo crónico) disminuyó la liberación de DA. Dichos resultados sugieren que los niveles extracelulares de DA se ven afectados dependiendo de las características del estímulo y su grado de familiaridad. Así mismo, el incremento en la liberación de DA durante el consumo del sabor familiar podría estar relacionado con el componente apetitivo del estímulo.

Las evidencias previas han mostrado que tanto la cantidad de comida como su asociación apetitiva elevan la concentración extracelular de DA en el NAc (Martel y Fantino, 1996). Además, en experimentos que han utilizado la técnica de microdiálisis en libre movimiento, se encontró un aumento notable en los niveles de DA en ratas que consumieron una solución de sacarosa (Hajnal y Norgren, 2001). Otras evidencias (Bassareo, De Luca y Di Chiara, 2002) mostraron que un estímulo novedoso y apetitivo provoca un incremento inmediato de DA en el NAc y la CP. Sin embargo, en los presentes resultados este incremento de DA no se observó cuando el estímulo fue novedoso, sino que fue observado hasta la segunda presentación de sacarosa (estímulo familiar). Por otro lado, se sabe que las neuronas dopaminérgicas de los sistemas mesolímbico y mesocortical, fundamentalmente las proyecciones de ATV al NAc se distinguen por ser elementos clave en los sustratos del reforzamiento, sobre todo la región shell de NAc (Redolar, 2014). Esto podría estar relacionado con la disminución de DA que se encontró durante el consumo crónico de azúcar.

X. CONCLUSIÓN

El modelo de memoria apetitiva utilizado en este trabajo ayuda a entender algunos de los procesos y estructuras que involucran el reconocimiento del sabor, el cual es de suma importancia para la sobrevivencia.

Los datos obtenidos en este trabajo indican que la actividad dopaminérgica en el NAc shell cambia con el grado de la familiaridad del sabor y sugiere que durante el reconocimiento de un sabor altamente familiar (consumo crónico), la actividad del sistema dopaminérgico disminuye en el NAc, lo cual podría estar relacionado con cambios conductuales hacia reforzadores dulces.

XI. BIBLIOGRAFÍA

- Adrover-Roing, D., Marrón, E. M., Sánchez-Cubillo, I., & García, R. M. (2014). Neurobiología de los sistemas de aprendizaje y memoria. En D. R. Ripoli, *Neurociencia Cognitiva* (págs. 411 - 438). Madrid, España: Medica Panamericana.
- Anderson, J. R. (2001). *Aprendizaje y memoria: un enfoque integral*. España: Mc Graw-Hill.
- Arias-Montaño, J. A., Martínez-Fong, D., & Aceves, J. (1992). Glutamate stimulation of tyrosine hydroxylase is mediated by NMDA receptors in the rat striatum. *Brain Research*, 569, 317-322.
- Arias-Montaño, Martínez-Fong, J.A, & Aceves, J. (1992). GABA B receptor activation partially inhibits N-methyl-D-aspartate mediated tyrosine hydroxylase stimulation in rat striatal slices. *European Journal of Pharmacology*, 218, 335-338.
- Baddeley, A. (1999). *Memoria humana. Teoría y práctica* (Primera ed.). Mc graw-hill.
- Bahena-Trujillo, R., Flores, G., & Arias-Montaño, J. A. (2000). Dopamina: síntesis, liberación y receptores en el Sistema Nervioso Central. *Revista Biomédica*, 11, 39-60.
- Bassareo, V., & Di Chiara , G. (1999). Differential responsiveness of dopamine transmission to food-stimuli in nucleus accumbens shell/core compartments. *Neuroscience*, 89(3), 637-641.
- Bassareo, V., De Luca, M. A., & Di Chiara, G. (2002). Differential Expression of Motivational Stimulus Properties by Dopamine in Nucleus Accumbens Shell versus Core and Prefrontal Cortex. *The Journal of Neuroscience*, 22(11), 4709-4719.

- Berman, D. E., Hazvi, S., Neduva, V., & Dudai, Y. (2000). The Role of Identified Neurotransmitter Systems in the Response of Insular Cortex to Unfamiliar Taste: Activation of ERK1–2 and Formation of a Memory Trace. *The Journal of Neuroscience*, 20(18), 7017-7023.
- Bermúdez, E. R., & Garzón, N. A. (2011). El papel de la memoria en el proceso lector. *Umbral científico*(19), 24-31.
- Bermúdez-Rattoni, F., Ramírez-Lugo, L., Gutiérrez, R., & Miranda, M. I. (2004). Molecular Signals into the Insular Cortex and Amygdala During Aversive Gustatory Memory Formation. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 24(1), 25-36.
- Carleton, A., Accolla, R., & Simon, S. A. (2010). Coding in the mammalian gustatory system. *Trends Neurosciences*, 33(7), 326-334.
- Chandrashekar, J., Hoon, M. A., Ryba, N. J., & Zuker, C. S. (2006). The receptors and cells for mammalian taste. *Nature*, 444, 289-294.
- Cheramy, A., Romo, R., Godeheu, G., Baruch, P., & Glowinski, J. (1986). In vivo presynaptic control of dopamine release in the cat caudate nucleus-II. Facilitatory or inhibitory influence of l-glutamate. *Neuroscience*, 19, 1081-1090.
- Chowdhury, M., & Fillenz, M. (1991). Presynaptic adenosine A2 and N-methyl-D-aspartate receptors regulate dopamine synthesis in rat striatal synaptosomes. *Journal of Neurochemistry*, 56, 1783-1788.
- Church, W. H., Justice, J. B., & Neill, D. B. (1987). Detecting behaviorally relevant changes in extracellular dopamine with microdialysis. *Brain Research*, 412(2), 397-399.
- Davis, M. (1989). Sensitization of the acoustic startle reflex by footshock. *Behavioral Neuroscience*, 103(3), 495-503.

- De Luca , M. A. (2014). Habituation of the responsiveness of mesolimbic and mesocortical dopamine transmission to taste stimuli. *Frontiers in Integrative Neuroscience*, 8 , 1-5.
- Delfs, J. M., Druhan, Y. Z., & Aston-Jones, G. S. (1998). Origin of noradrenergic afferents to the shell subregion of the nucleus accumbens: anterograde and retrograde tract-tracing studies in the rat. *Brain Research*(806), 127-140.
- Dwoskin, L. P., & Zahniser, N. R. (1986). Robust modulation of [3H]dopamine release from rat striatal slices by D-2 dopamine receptors. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 239(2), 442-453.
- Ferreira, G., Ferri, B., Meurisse, M., & Lévy, F. (2006). Forebrain structures specifically activated by conditioned taste aversion. *Behavioral Neuroscience*, 120(4), 952-962.
- Fujisawa, H., & Okuno, S. (1989). Regulation of the activity of tyrosine hydroxylase in the central nervous system. *Advances in enzyme regulation* , 93-110 .
- Giorguieff, M. F., Flo'h, M. L., Glowinski, J., & Besson, M. J. (1978). Stimulation of dopamine release by GABA in rat striatal slices. *Brain Research*, 139, 115-130.
- Gluck, M. A., Mercado, E., & Myers, C. E. (2009). *Aprendizaje y memoria. Del cerebro al comportamiento* (Primera ed.). México, D.F: McGraw-Hill.
- Goeders, N. E., & Smith, J. E. (1992). Intracranial Cocaine Self-Administration into the Medial Prefrontal Cortex Increases Dopamine Turnover in the Nucleus Accumbens. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 265(2), 592-600.
- Gray, E. G. (1982). Molecular Neurobiology of the Mammalian Brain. *Journal of Anatomy* , 186 .
- Hajnal, A., & Norgren, R. (2001). Accumbens dopamine mechanisms in sucrose intake. *Brain Research*, 904(1), 76-84.

- Hanamori, T., Kunitake, T., Kato, K., & Kannan, H. (1998). Responses of neurons in the insular cortex to gustatory, visceral, and nociceptive stimuli in rats. *Journal Neurophysiology*, 79, 2535-2545.
- Heimer, L., Zahm, D. S., Churchill, L., Kalivas, P. W., & Wohltmann, C. D. (1991). Specificity in the projection patterns of accumbal core and shell in the rat. *Neuroscience*, 41(1), 89-125.
- Hetey, L., Kudrin, V. S., Shemanow, A. Y., Rayevsky, K. S., & Oelssner, W. (1985). Presynaptic dopamine and serotonin receptors modulating tyrosine hydroxylase activity in synaptosomes of the nucleus accumbens of rats. *European Journal of Pharmacology*, 113(1), 1-10.
- Kandel, E. R., Schwartz, J. H., & Jessell, T. M. (2001). *Principios de Neurociencia* (Cuarta ed.). España: McGraw Hill-Interamericana.
- Karageorgos, A. (18 de junio de 2013). *LifestyleScience*. Recuperado el 8 de noviembre de 2014, de <http://lifestylescience.eu/>
- Kasnot, K. (2014). *Medical Illustration Sourcebook*. Obtenido de <http://www.medillsb.com/>
- Kaufman, S. (1986). Amino acids in health and disease: new perspectives. *Journal of Cellular Biochemistry*, 31, 171-192.
- Kelley, A. E. (2004). Ventral striatal control of appetitive motivation: role in ingestive behavior and reward-related learning. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 27(8), 765-776.
- Klein, S. B. (1994). *Aprendizaje. Principios y aplicaciones* (Segunda ed.). España: Mc Graw-Hill.
- Lee, R.-S., Koob, G. F., & Henriksen, S. J. (1998). Electrophysiological responses of nucleus accumbens neurons to novelty stimuli and exploratory behavior in the awake, unrestrained rat. *Brain Research*, 799(2), 317-322.

- Lehmann, J., & Langer, S. Z. (1982). Muscarinic receptors on dopamine terminals in the cat caudate nucleus: neuromodulation of [3H]dopamine release in vitro by endogenous acetylcholine. *Brain Research*, 248, 61-69.
- Litvin, R. (12 de mayo de 2013). *O Neurotransmissor* . Recuperado el 8 de noviembre de 2014, de <http://oneurotransmissor.blogspot.mx/>
- López, J. C. (2000). *El telar de la memoria. El cerebro y la textura de los recuerdos* (Primera ed.). Algar.
- Maldonado-Irizarry, C. S., Swanson, C. J., & Kelley, A. E. (1995). Glutamate Receptors in the Nucleus Accumbens Shell Control Feeding Behavior via the Lateral Hypothalamus. *The Journal of Neuroscience*, 10(15), 6779-6788.
- Mark, G., Blander, D., & Hoebel, B. G. (1991). A conditioned stimulus decreases extracellular dopamine in the nucleus accumbens after the development of a learned taste aversion. *Brain Research*, 551(1-2), 308-310.
- Martel, P., & Fantino, M. (1996). Mesolimbic dopaminergic system activity as a function of food reward: A microdialysis study. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 53(1), 221-226.
- Miranda García, R., Santín Núñez, L. J., Redolar Ripoll, D., & Valero Cabré, A. (2014). Neuronas y comunicación neural. En D. R. Ripoll, *Neurociencia Cognitiva* (págs. 27-66). Madrid, España: Médica Panamericana.
- Miranda, M. I., Rodríguez-García, G., Reyes-López, J. V., Ferry, B., & Ferreira, G. (2008). Differential effects of β -adrenergic receptor blockade in basolateral amygdala or insular cortex on incidental and associative taste learning. *Neurobiology of Learning and Memory*, 90(1), 54-61.
- Miranda, S. M. (2011). El sabor de los recuerdos: formación de la memoria gustativa. *Revista digital universitaria*, 12(3), 1-14.

- Mongenson, G. J., Jones, D. L., & Yim, C. Y. (1980). From motivation to action: Functional interface between the limbic system and the motor system. *Progress in Neurobiology*, 14(2-3), 69-97.
- Nuñez-Jaramillo, L., Ramírez-Lugo, L., Herrera-Morales, W., & Miranda, M. I. (2010). Taste formation: Latest advances and challenges. *Behavioural Brain Research*, 207, 232-248.
- Paxinos, G., & Watson, C. (1998). *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates* (4th ed.). New York: Academic Press.
- Periáñez Morales, J. A., Miranda García, R., & Ríos Lagos, M. (2014). Exploración de los procesos cognitivos: metodología y técnicas. En D. R. Ripoll, *Neurociencia Cognitiva* (págs. 111-141). Madrid: Médica Panamericana.
- Purves, D., Augustine, G. J., Fitzpatrick, D., Hall, W. C., Lamantia, A.-S., Mcnamara, J. O., y otros. (2004). *Neurociencia* (Tercera ed.). Buenos Aires: Panamericana.
- Raiteri, M., Marchi, M., & Maura, G. (1982). Presynaptic muscarinic receptors increase striatal dopamine release evoked by “quasi-physiological” depolarization. *European Journal of Pharmacology*, 83, 123-129.
- Ramírez-Lugo, L., Nuñez-Jaramillo, L., & Bermudez-Rattoni, F. (2007). Taste memory formation: role of nucleus accumbens. *Chemical Senses*(32), 93-97.
- Ramírez-Lugo, L., Zavala-Vega, S., & Bermúdez-Rattoni, F. (2006). NMDA and muscarinic receptors of the nucleus accumbens have differential effects on taste memory formation. *Learning & Memory*, 13, 45-51.
- Redolar Ripoll, D. (2014). Sistemas de refuerzo en el cerebro. En D. R. Ripoll, *Neurociencia cognitiva* (págs. 537-573). Madrid, España : Médica Panamericana.

- Reimann, W., Zumstein, A., & Starke, K. (1982). Aminobutyric acid can both inhibit and facilitate dopamine release in the caudate nucleus of the rabbit. *Journal of Neurochemistry*, 39, 962-969.
- Ruetti, E., Justel, N., & Bentosela, M. (2009). Perspectivas clásicas y contemporáneas acerca de la memoria. *Suma Psicológica*, 16(1), 65-83.
- Sena, L. G., & Budelli, R. (2014). Percepción olfativa y gustativa. En D. R. Ripoll, *Neurociencia Cognitiva* (págs. 331-350). Madrid, España : Médica Panamericana.
- Smith, D. V., & Margolskee, R. F. (2001). El sentido del gusto. *Investigación y ciencia*(296), 4-13.
- Weiner, N., & Molinoff, P. (1989). Catecholamines. En G. J. Siegel, B. Agranoff, R. Albers, & P. Molinoff, *Basic Neurochemistry* (págs. 233-251). New York : Rayen Press .
- Weiss, F., Hurd, Y., Ungerstedt, U., Markou, A., Plotsky, P. M., & Koob, G. F. (1992). Neurochemical correlates of cocaine and ethanol self-administration. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 28(654), 220-241.
- Young, A. M., Joseph, M. H., & Gray, J. A. (1993). Latent Inhibition Of Conditioned Dopamine Release In Rat Nucleus Accumbens. *Neuroscience*, 54(1), 5-9.
- Zahm, D. S. (2000). An integrative neuroanatomical perspective on some subcortical substrates of adaptive responding with emphasis on the nucleus accumbens. *Neuroscience and Biobehavioral Review*, 24(1), 85-105.

ANEXO 1. ABREVIATURAS

- **AADC.** L-aminoácido aromático-descarboxilasa
- **ACh.** Acetilcolina
- **AMPc.** Adenosín monofosfato cíclico
- **ANOVA.** Analysis Of Variance (Análisis de Varianza)
- **ATV.** Área tegmental ventral
- **BH₄.** Tetrahidrobiopterina
- **C.** Consecuencia
- **CAS.** Condicionamiento Aversivo al Sabor
- **CG.** Corteza gustativa
- **COMT.** Catecol-O-metiltransferasa
- **CP.** Corteza prefrontal
- **DA.** Dopamina
- **DAT.** Transportador de dopamina
- **DOPAC.** Ácido dihidroxifenilacético
- **E.** Estímulo
- **EC.** Estímulo Condicionado
- **EI.** Estímulo Incondicionado
- **GABA.** Ácido gamma-aminobutírico
- **HPLC.** High Performance Liquid Chromatography (Cromatografía Líquida de Alta Eficacia)
- **HVA.** Ácido homovanílico
- **LB.** Línea Base
- **L-DOPA.** 3,4-dihidroxifenilalanina
- **MAO.** Monoaminoxidasa
- **NAc.** Núcleo accumbens
- **NAT.** Transportador de Noradrenalina
- **NMDA.** N-metil-D-aspartato
- **NPB.** Núcleo parabraqueal
- **NTS.** Núcleo del tracto solitario
- **PKA.** Proteína cinasa A

- **PKC.** Proteína cinasa C
- **PV.** Pálido ventral
- **R.** Respuesta
- **RC.** Respuesta Condicionada
- **RI.** Respuesta Incondicionada
- **TH.** Tirosina hidroxilasa
- **VMAT-2.** Transportador vesicular de monoaminas 2
- **3-MT.** 3-metoxitriptamina

ANEXO 2. CIRUGÍA ESTEROTÁXICA

Implica la utilización de un aparato estereotáxico para fijar la posición de la cabeza de los animales y un atlas estereotáxico, con las coordenadas espaciales de todos los núcleos y áreas cerebrales conocidos. Estos mismos elementos son igualmente empleados en intervenciones quirúrgicas con pacientes humanos y tienen como objetivo dirigir con precisión una cánula o electrodo hacia una región predeterminada del cerebro (Periáñez, Miranda y Ríos, 2014).

El primer paso para realizar la cirugía consiste en la colocación del animal de experimentación en el aparato estereotáxico, fijando la cabeza con ayuda de los incisivos y meatos auditivos. Posteriormente, se detalla la posición de los puntos de orientación bregma y lambda en la parte anterior y posterior de la superficie craneal, para después ubicar las coordenadas de interés y dirigir la cánula que se va a introducir.

Las aplicaciones de la cirugía estereotáxica van más allá de las lesiones cerebrales, siendo, por ejemplo, empleada para la disposición de electrodos para registros intracerebrales de actividad eléctrica (Periáñez, Miranda y Ríos, 2014) o para llevar a cabo la técnica de microdiálisis, la cual fue empleada en el presente trabajo.

ANEXO 3. HPLC (CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICACIA)

La cromatografía es una técnica que permite la separación de los componentes de una mezcla debido a la influencia de dos efectos contrapuestos:

A) Retención. Efecto producido sobre los componentes de la mezcla por una fase estacionaria, que puede ser un sólido o un líquido anclado a un soporte sólido.

B) Desplazamiento. Efecto ejercido sobre los componentes de la mezcla por una fase móvil, en este caso un líquido.

El fenómeno de migración de los componentes de una mezcla a lo largo de la fase estacionaria, impulsados por la fase móvil, recibe el nombre de elución. La mezcla a separar se deposita sobre la fase estacionaria, mientras que la móvil atraviesa el sistema desplazando a los componentes de la mezcla a distinta velocidad, dependiendo de la magnitud de sus interacciones relativas con ambas fases. Las dos fases se eligen de forma que los componentes de la muestra se distribuyan de modo distinto entre la fase móvil y la fase estacionaria. Aquellos componentes que son fuertemente retenidos por la fase estacionaria se mueven lentamente con el flujo de la fase móvil; por el contrario los componentes que se unen débilmente a la fase estacionaria, se mueven con rapidez. Como consecuencia de la distinta movilidad, los componentes de la muestra se separan en bandas o zonas discretas que pueden analizarse cualitativa y/o cuantitativamente.

ANEXO 4. TINCIÓN DE VIOLETA DE CRESILO PARA CUERPOS CELULARES

REACTIVOS:

- Agua desionizada
- Etanol absoluto
- Etanol al 96 %
- Etanol al 80 % en agua desionizada
- Etanol al 70 % en agua desionizada
- Etanol al 80 % en agua desionizada, acidificado con 10 gotas de ácido acético glacial
- Xilol
- Resina sintética

PROCEDIMIENTO:

1. Hidratar en agua destilada, 1 minuto.
2. Sumergir en etanol al 80 % acidificado, 1 minuto.
3. Lavar con agua destilada, sumergiendo durante un segundo en tres ocasiones.
4. Teñir en el violeta de cresilo, 20 minutos. (Si el colorante se ha dejado en reposo durante varios días, es probable que el tiempo de tinción tenga que ser más corto. Vigilar para evitar que el tejido quede sobreteñido)
5. Deshidratar en alcoholes graduales; etanol al 70 %, 10 segundos.
6. Etanol al 80 %, 10 segundos.
7. Etanol al 96 %, 10 segundos. Esperar más tiempo si es necesario, hasta que el tejido presente una tonalidad azul o hasta que las fibras se noten claras y las células presenten una tonalidad púrpura.
8. Nuevamente etanol al 96 %, 5 segundos.
9. Etanol 100 %, 5 segundos.
10. Xilol, 10 segundos.

11. Nuevamente xilol, mantenerlo ahí hasta que se vaya a montar la resina.
(Procurar que sea el menor tiempo posible).
12. Sin dejar secar por completo el xilol, agregar unas gotas de resina sobre el portaobjetos, lo suficiente como para que quede una capa delgada y homogénea al colocar encima un cubreobjetos. Evitar la formación de burbujas de aire.
13. Dejar secar.
14. Limpiar y observar al microscopio.