



# **UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

---

FACULTAD DE PSICOLOGÍA

## **INFLUENCIA DEL FACTOR NEUROTRÓFICO DERIVADO DEL CEREBRO EN LA CONSOLIDACIÓN DEL CONDICIONAMIENTO AVERSIVO A LOS SABORES EN LA CORTEZA INSULAR**

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
**LICENCIADO EN PSICOLOGIA**

PRESENTA

**MINERVA GUADALUPE MOGUEL GONZÁLEZ**

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. MARTHA LILIA ESCOBAR RODRÍGUEZ

REVISORA DE TESIS:

DRA. MARÍA CORSI CABRERA



MEXICO, D.F.

2007



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **Dedicatoria.**

**A la mujer que más admiro, a mis dos amigos de sangre y a quien me enseñó a vivir un sueño. Ma, Ber, George y Pa los amo!**

## **Agradecimientos**

Gracias,

A mi País, por generar el recurso humano que forma a la máxima casa de estudios, la Universidad Nacional Autónoma de México, porque en ella he podido encontrar un espacio donde la diferencia de ideas tiene un mismo fin, enriquecer el conocimiento, donde me siento afortunada a diario por la oportunidad de convivir y aprender de gente muy valiosa como varios de mis maestros (entre ellos por supuesto mi directora de tesis, mis sinodales y mi revisora), mis compañeros y mis amigos; donde me topé con un grupo selecto de personas, y selecto lo reitero por la calidad, que me mostró lo que ahora se volvió mi pasión, la Neurociencia; Martha gracias por haberme transmitido lo que ha sido música para tus oídos, Andreita, Diane. Luisito y Lau muchas gracias por volver mi cotidianeidad novedosa y sobretodo por las risas que nos acompañan a diario y hacen más divertido aún nuestro trabajo.

Y por que no, gracias a las coincidencias de la vida que han ido formando mi historia, desde mi pasado más próximo, Nina, Papi, Tata y Atita; mi familia nuclear (Moguel – González) y extendida (Astiazarán-Anza , Lecanda-Álvarez del Castillo y Tío Charly) que son mi apoyo incondicional, hasta mis amigas del Sagrado y de otros tantos espacios por el gusto de disfrutar de esta coincidencia.

## ÍNDICE

1.	INTRODUCCIÓN	1
2.	ANTECEDENTES	1
2.1.	Memoria y consolidación	1
2.2.	El condicionamiento aversivo a los sabores	3
2.3.	El CAS y la corteza insular	5
2.4.	Factores tróficos	9
2.4.1.	El factor neurotrófico derivado del cerebro	11
2.5.	Memoria, consolidación y BDNF	12
3.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN	14
4.	OBJETIVOS	15
5.	METODOLOGÍA	15
5.1.	Sujetos	15
5.2.	Procedimiento Experimental	15
5.2.1	Implantación de cánulas e infusión de sustancias	17
5.2.2	Condicionamiento Aversivo a los sabores	19
5.2.3	Histoquímica de Nissl.	20
5.3	Análisis de Resultados	20
6.	RESULTADOS	21
6.1.	Resultados Conductuales.	21
6.2.	Resultados Histológicos.	26
7.	DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES.	27
8.	REFERENCIAS	32

## RESUMEN

Desde la perspectiva de la neurociencia cognitiva, el aprendizaje se puede definir como el proceso mediante el cual un organismo vivo adquiere información, y la memoria como el proceso que permite almacenar esta información (Bear et al., 2001). Según Baddeley este proceso consta de las siguientes etapas: adquisición, consolidación y evocación. El presente trabajo se enfoca en la fase de consolidación de un paradigma de aprendizaje conocido como condicionamiento aversivo a los sabores (CAS) que depende de la integridad de la corteza insular (CI), considerada el relevo final de la vía gustativa. El BDNF (factor neurotrófico derivado del cerebro), es una proteína que se ha visto involucrada en los mecanismos celulares que subyacen al almacenamiento de información. Asimismo, recientes investigaciones demuestran que la administración de BDNF, es capaz de restaurar la fase tardía de la LTP hipocampal, previamente abatida por la administración de inhibidores de la síntesis de proteínas. El objetivo de la presente investigación fue examinar la influencia del BDNF sobre el proceso de consolidación del CAS. Para la presente investigación se utilizaron ratas Wistar con pesos de entre 350 y 380g, fueron divididas en los siguientes grupos experimentales: grupo anisomicina (ANI), cuyo fin fue el bloquear la síntesis de proteínas requerida para la consolidación del aprendizaje, grupo líquido cefalorraquídeo artificial (ACSF) al que se le administró el ACSF como vehículo, grupo anisomicina - BDNF (ANIBDNF) al que se le administró anisomicina e inmediatamente después recibió la infusión de BDNF, grupo anisomicina – vehículo (ANIPBS) al que se le administró anisomicina seguida de amortiguador de fosfatos (empleado como vehículo durante las diluciones de BDNF) y grupo control intacto (CON) el cual permaneció sin la administración de ningún fármaco ni intervención quirúrgica. Los resultados muestran que el BDNF es capaz de revertir los efectos de la anisomicina sobre la consolidación de la aversión al sabor. El presente trabajo constituye una evidencia de que el BDNF es un producto esencial de la síntesis protéica, la presencia de esta neurotrofina y la activación de su receptor generan modificaciones fundamentales para la prevalencia de la información.

## **1. INTRODUCCIÓN**

La investigación en el área de las bases moleculares del aprendizaje y la memoria ha tenido un enorme impulso en la década pasada y constituye una de las áreas de investigación más activas de la neurobiología de nuestros días. Este estudio se ha enriquecido gracias a la utilización de distintos modelos de memoria y de plasticidad neuronal, desarrollados tanto en vertebrados como en invertebrados, y diversos aspectos de este fenómeno sumamente complejo son abordados gracias a esta diversidad de paradigmas. A su vez el desarrollo de novedosas metodologías en el ámbito de la biología molecular e inhibidores de distintas vías metabólicas ha permitido ampliar los conocimientos relacionados con los mecanismos moleculares implicados en estos procesos. En el presente trabajo, se analiza la influencia del factor neurotrófico derivado del cerebro en la consolidación de un paradigma de aprendizaje como lo es el condicionamiento aversivo a los sabores.

## **2. ANTECEDENTES**

### **2.1 Memoria y consolidación**

Desde la perspectiva de la neurociencia cognoscitiva, el aprendizaje se puede definir como el proceso mediante el cual un organismo vivo adquiere información, y la memoria como el proceso que permite almacenar esta información (Bear et al., 2001). La memoria se ha estudiado desde diferentes enfoques, y también se ha clasificado de diferentes maneras. Según Baddeley este proceso se puede dividir en: adquisición, consolidación y evocación, de acuerdo con las etapas de dicho proceso. También por su duración, Atkinson y Shiffrin la dividieron en corto y largo plazo, mientras que por el tipo de información que se almacena, Tulving y Squire propusieron que la memoria se puede dividir en declarativa o explícita (memoria de hechos y eventos) y no declarativa o implícita (memoria de procedimiento) (Milner et al., 1998; Bear et al., 2001; Riegler, 2005).

Desde fines del siglo XIX, a partir de observaciones en humanos, se desarrolló el concepto de consolidación de la memoria. Según esta teoría, aun hoy en boga, la memoria primero existe en una forma lábil, susceptible de perturbación, y luego se

consolida pasando a una forma más estable y de larga duración (Dudai y Eisenberg 2004; Eisenberg y Dudai, 2004). La consolidación tiene lugar en diferentes niveles de organización del Sistema Nervioso Central (SNC) abarcando desde la escala molecular hasta las redes neuronales involucradas. Distintos agentes pueden perturbar la memoria antes de su consolidación, variando desde simples distractores a electro-shock convulsivos o traumas craneanos (McGaugh, 2000; Dudai, 1996; 2002), la consolidación es un fenómeno ubicuo, que ocurre tanto en humanos como en otros vertebrados e invertebrados. El estudio de las bases bioquímicas y moleculares de la memoria se vio favorecido a partir del hallazgo de que inhibidores de la traducción y transcripción, como la anisomicina, producen amnesia cuando se administran durante este periodo crítico (Davis y Squire, 1984, Dudai y Eisenberg, 2004; Rodríguez-Ortiz et al., 2005). Este fenómeno probó ser prácticamente universal para las memorias de larga duración y muestra una analogía con los periodos críticos del desarrollo.

Considerando este aspecto, se definió entonces la consolidación como un periodo durante el cual nuevas proteínas tienen que ser sintetizadas. Esto llevó a postular que la síntesis protéica es esencial durante la consolidación de la memoria (Rosenblum et al., 1993; Dudai y Eisenberg, 2004).

La anisomicina es un inhibidor que bloquea la actividad metabólica y los efectos fisiológicos de las peptidil transferasas, las cuales son enzimas que catalizan la adición de aminoácidos para la formación de péptidos durante la síntesis protéica; por lo que su administración inhibe la síntesis de proteínas requerida para la consolidación del aprendizaje de una tarea, como ha sido demostrado por numerosas investigaciones. En este sentido Rosenblum y colaboradores en 1993, demostraron que al infundir intracorticalmente anisomicina e inhibir alrededor del 90% de la síntesis protéica en la corteza insular de roedores se impedía la consolidación del condicionamiento aversivo a los sabores.

La anisomicina tiene un periodo de actividad de varias horas, cuyo pico de acción para inhibir alrededor del 90% de la síntesis protéica, se han establecido entre los veinte y los treinta minutos post-administración (Davis. y Squire, 1984; Rosenblum, 1993; Dudai, 2002; Rodríguez-Ortiz et al., 2005).

En la última década, se ha cuestionado la idea de considerar a la consolidación como un proceso unitario, puesto que diferentes grupos de investigación, han planteado que este proceso puede llevarse a cabo de manera reiterada. Tsien y colaboradores proponen una teoría de reactivación sináptica (SRR por sus siglas en inglés: synaptic re-entry reinforcement), la cual sostiene que existe una reactivación continua de los procesos involucrados en la consolidación de la memoria, entre los que participan los receptores glutamatérgicos de tipo N-metil-D-aspartato (rNMDA)<sup>1</sup>, la actividad de algunas cinasas y la síntesis protéica (Tsien y Wittenberg, 2002). En este sentido, un estudio reciente de Beckinschtein y colaboradores muestra que la consolidación hipocampal requiere de recurrentes periodos de síntesis protéica a fin de preservar el trazo de memoria por tiempo prolongado (Bekinschtein et al., 2007).

Considerando lo anterior, la visión actual en torno a la consolidación se concibe como un proceso aun mas complejo que requiere de actividad continua dando origen a una constante reorganización molecular y por ende neuronal.

## **2.2 Condicionamiento aversivo a los sabores.**

La supervivencia de un organismo esta basada entre otras cosas en la capacidad de aprender y recordar que un alimento ingerido fue seguido de malestar, para de esta manera predecir el potencial dañino de cualquier alimento que tenga atributos similares y evitar su consumo. John García describió por primera vez que las ratas desarrollan aversión a soluciones con sabor dulce cuando estas son seguidas por la aplicación de rayos gamma (García et al., 1955). Más tarde, el estímulo aversivo utilizado fue el cloruro de litio (LiCl), el cual causa malestar gástrico debido a la activación del nervio vago y el nervio esplánico. En este sentido, García y Koellin en 1966 demostraron que una solución con sabor se asocia más fácilmente a la inducción de náusea que a la aplicación de choques eléctricos en las patas de los roedores, lo cual nos muestra que en este condicionamiento, donde el estímulo condicionado es el sabor, es importante que el estímulo aversivo sea de tipo visceral (García y Koellin, 1966). A esta conducta de rechazo basada en el aprendizaje se le llamó condicionamiento aversivo a los sabores (CAS). El CAS es un tipo de

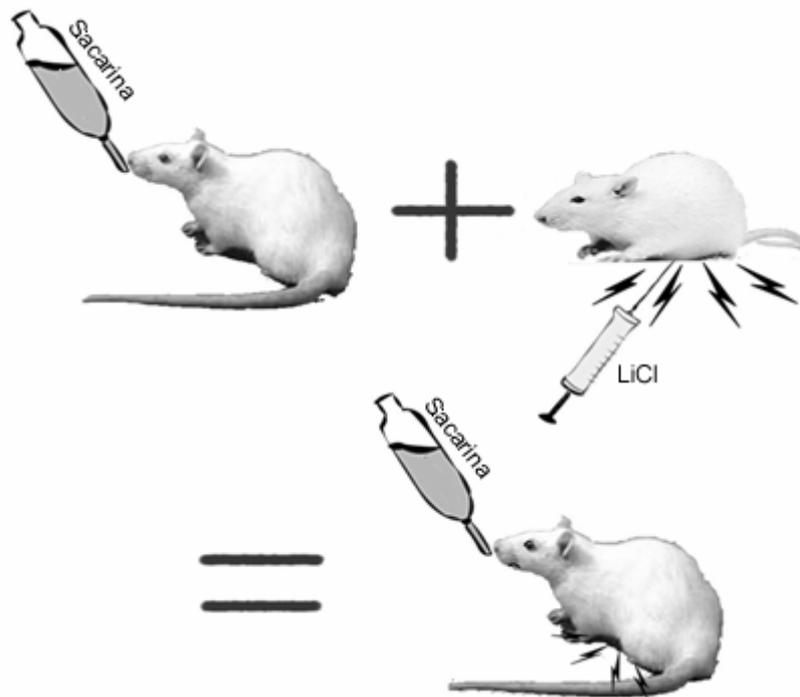
---

<sup>1</sup> Los rNMDA, son un subtipo de receptores glutamatérgicos permeables al Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> y Ca<sup>2+</sup>.

condicionamiento, donde el sabor sirve como estímulo condicionado y el malestar gástrico como estímulo incondicionado, de modo que un estímulo gustativo adquiere la capacidad de inducir una respuesta condicionada. Los animales pueden aprender el CAS si la solución con sabor es ingerida espontáneamente, pero también presentan el aprendizaje de la tarea cuando el estímulo aversivo es inyectado vía intraperitoneal o intravenosa (Bures y Buresova, 1989; Bradley y Mistretta, 1971). A continuación se presentaran los principios generales del CAS.

1. Si un animal consume un alimento con sabor y subsecuentemente sufre malestar gástrico, en los siguientes encuentros con ese sabor el animal evitará o disminuirá drásticamente su consumo (García et al., 1985).
2. La fuerza de la aversión aprendida está directamente relacionada con la intensidad del sabor y del malestar, y está inversamente relacionada al intervalo entre la presentación del sabor y la inducción de malestar. Este intervalo puede durar horas, a diferencia de otros condicionamientos, en los cuales es necesario que el intervalo entre el estímulo condicionado y la respuesta incondicionada sea de segundos (Domjan, 1985).
3. Los estímulos gustativos se asocian más fácilmente a estímulos gástricos (García y Koellin, 1966).

Numerosos experimentos han demostrado que lesiones bilaterales de la corteza insular antes o después de la adquisición del CAS deterioran el aprendizaje o la evocación (McGowan et al., 1972; Bermúdez-Rattoni y Yamamoto, 1998), sin embargo no parece afectar la percepción del sabor, ya que los animales con lesión en la corteza insular pueden discriminar entre diferentes concentraciones de sacarosa y NaCl (Lasiter et al., 1985), así como evitar la quinina, sustancia naturalmente aversiva por su sabor amargo (Bernstein y Koh, 2007).



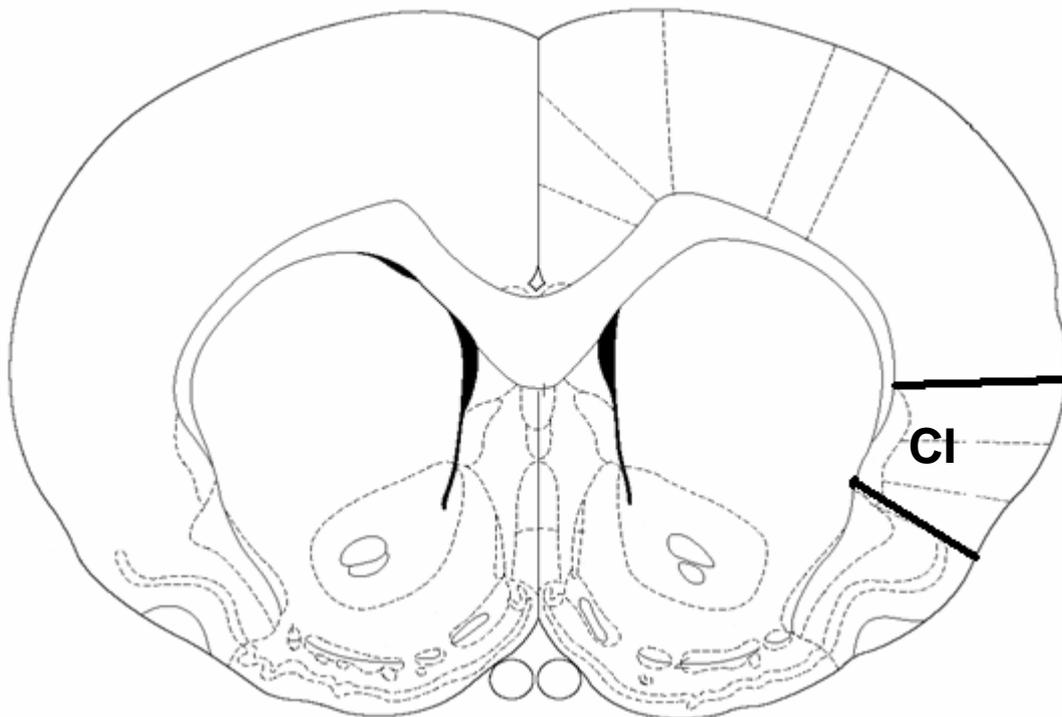
**Figura 1. Condicionamiento aversivo a los sabores.** Cuando un sabor novedoso es asociado con un malestar gástrico (inyección de LiCl) da como resultado una asociación, ya que al presentar la siguiente vez el sabor, éste evoca el malestar gástrico; lo que causa que el animal muestre aversión a dicho sabor, evitando su consumo.

### 2.3 El CAS y la corteza insular

La corteza insular (CI) es una región en la corteza temporal que se ha visto implicada en la adquisición y almacenamiento de diferentes tareas de aprendizaje de aversión como el laberinto de agua de Morris, la prevención pasiva y como se mencionó en líneas anteriores, el condicionamiento aversivo a los sabores (Bermúdez-Rattoni y McGaugh, 1991 y Bermúdez – Rattoni et al., 1995).

La CI en ratas comprende un área aproximadamente de 3mm x 1mm que corre por encima y a lo largo del surco rhinal, alrededor de la arteria cerebral media (Braun et al., 1982). Se extiende dorsalmente hacia los bordes de las áreas somatosensoriales primaria y secundaria, posee una región anterior que es principalmente agranular y una región posterior con dos subregiones denominadas disgranular y granular. La

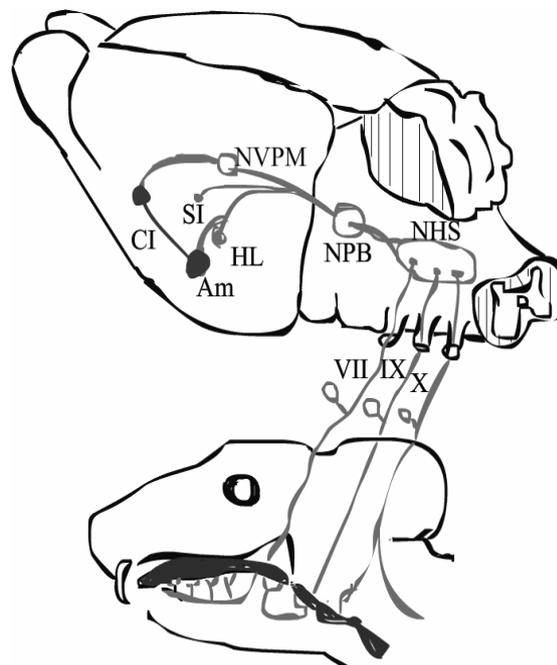
corteza insular agranular se fusiona imperceptiblemente con la corteza perirhinal (Paxinos y Watson, 1995; Bures et al., 1998).



**Figura 2. Esquema de la corteza insular (CI):** Corte coronal de un cerebro de rata en el que puede apreciarse la ubicación de la corteza insular. CI: corteza insular (Paxinos et al., 1995).

Estudios electrofisiológicos mediante estimulación gustativa y evocación de señales de la lengua a la corteza gustativa sugieren que los estímulos gustativos están confinados al área agranular de la corteza insular. (Travers, 1993). La corteza insular agranular es el relevo final de la vía gustativa. Los pares craneales VII (facial), IX (glossofaríngeo) y X (vago), llevan información de las yemas gustativas. El nervio facial lleva información de las papilas fungiformes en la parte posterior de la lengua y de las yemas gustativas localizadas en el paladar y en el conducto nasoincisor. El nervio glossofaríngeo lleva información de las papilas foliadas y circunvaladas en la parte posterior de la lengua, mientras que el nervio vago lleva información de las yemas gustativas de la epiglotis laringe y esófago. El segundo relevo de la vía

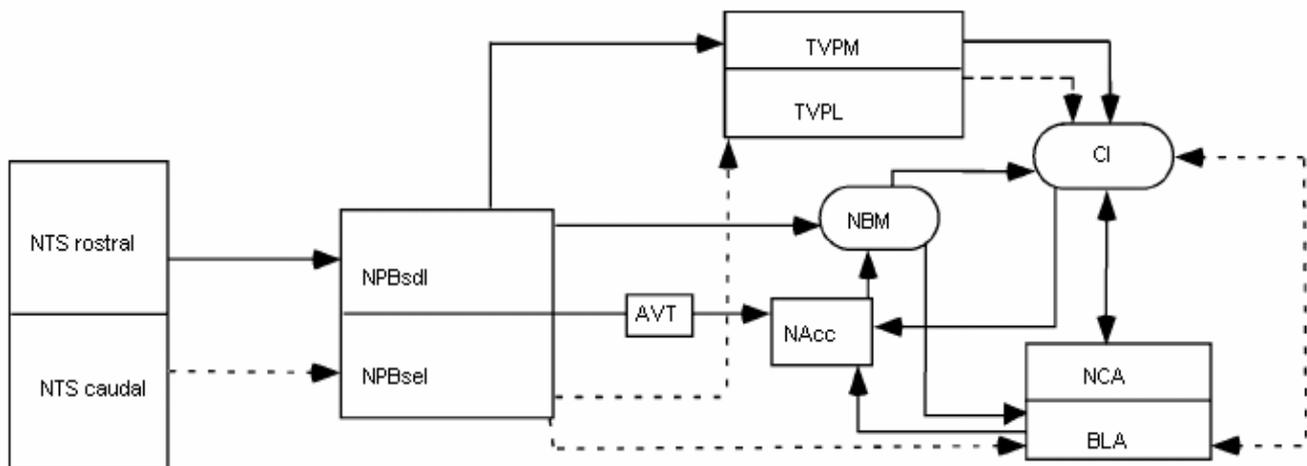
gustativa se encuentra en el núcleo parabraqueal del puente, en lo que se ha denominado como área gustativa del puente. Una vez ahí se reconocen dos rutas: unas aferencias se dirigen a estructuras ventrales del cerebro basal como la amígdala, la zona ventral del hipocampo y la sustancia innominada, mientras que una segunda vía se dirige hacia el complejo ventrobasal del tálamo, el cual se comunica con la corteza insular (Travers, 1993). Es importante señalar que el núcleo del tracto solitario recibe aferencias que son originarias del área hepática del vago así como señales del área postrema a través del torrente sanguíneo, estas vías son importantes ya que transmiten información relacionada con irritación por intoxicación gástrica (Lasiter et al., 1982; Yamamoto et al., 1992). También es importante considerar las conexiones recíprocas entre la corteza insular y la amígdala, esta última relacionada con tareas aversivas como el condicionamiento al miedo y la prevención pasiva, así como con respuestas emocionales como el miedo y la agresión (McGaugh et al., 1990; Le Doux, 1993). Se ha comprobado que la participación de la amígdala es indispensable en el CAS (Lamprencht et al., 1997; Yasoshima y Yamamoto, 1997).



**Figura 3. Vía gustativa en la rata.** Esquema donde se muestran las vías aferentes gustativas en la rata. Abreviaturas: VII, nervio facial; IX, nervio glossofaríngeo; X, nervio vago; NHS, núcleo del haz solitario; NPB, núcleo parabraqueal del puente; NVPM, núcleo ventroposteromedial del tálamo; CI, corteza insular; SI, sustancia innominada; HL, hipotálamo lateral; Am, amígdala. (Modificado de Bear et al., 2001)

Tanto el complejo amigdalino como la CI contribuyen a la formación y retención de la memoria aversiva al sabor, clara es la evidencia de que al lesionar bilateralmente la CI tanto la adquisición como la retención del CAS se ven significativamente afectados (Bermúdez-Rattoni, 2004). Asimismo, estudios previos de nuestro grupo demuestran que la estimulación tetánica de la amígdala basolateral induce LTP (Potenciación a Largo Plazo)<sup>2</sup> en la corteza insular agranular de ratas adultas (Escobar et al., 1998a), y que éste fenómeno es dependiente de los receptores NMDA (Escobar et al., 1998a; 1998b; 2002). De manera análoga encontramos que inhibidores del rNMDA deterioran la adquisición del CAS (Escobar et al., 1998b; 2002). Cabe mencionar que ni el CAS ni la LTP en la corteza insular se vieron alterados cuando se infundieron inhibidores de receptores glutamatérgicos metabotrópicos en la corteza insular agranular (Escobar et al., 2002).

Debido a la evidencia presentada, se ha sugerido que la CI afecta la representación mnémica de los sabores y sus respuestas gastrointestinales (Kiefer, 1985; Bermúdez-Rattoni, 2004).



**Figura 4. Esquema de la vía del sabor** (modificada Ramírez-Lugo, 2007). NTS, núcleo del tracto solitario; NPB, núcleo parabraquial (sdl, subnúcleo dorsolateral; sel, subnúcleo exterior lateral); TVPM, núcleo talámico ventral posterior medial; TVPL, núcleo talámico ventral posterior lateral; AVT, área tegmental ventral; NBM, núcleo basal magnocelular; NAcc, núcleo accumbens; CI, corteza insular; NCA, núcleo central de la amígdala; BLA, núcleo basolateral amigdalino.

<sup>2</sup> La LTP es el incremento prolongado de la eficiencia sináptica debido a la estimulación de las fibras aferentes a un área determinada del sistema nervioso (Bliss y Lømo, 1973).

## 2.4 Factores tróficos

La diversidad celular en el sistema nervioso se origina a partir de la acción concertada de los procesos de proliferación celular, diferenciación, crecimiento, migración, sobrevivencia y formación de sinapsis. Entre los mensajeros involucrados en la comunicación neuronal, que dan origen a estos procesos, se encuentran ciertas moléculas llamadas neurotrofinas, factores tróficos o factores neurotróficos (FNT), que son proteínas que controlan la sobrevivencia, el crecimiento y capacidades funcionales de las poblaciones específicas de neuronas (Escobar, 1994). El estudio de los FNT ha llevado a la postulación de la hipótesis neurotrófica del SNC, que señala lo siguiente (Varon, 1985):

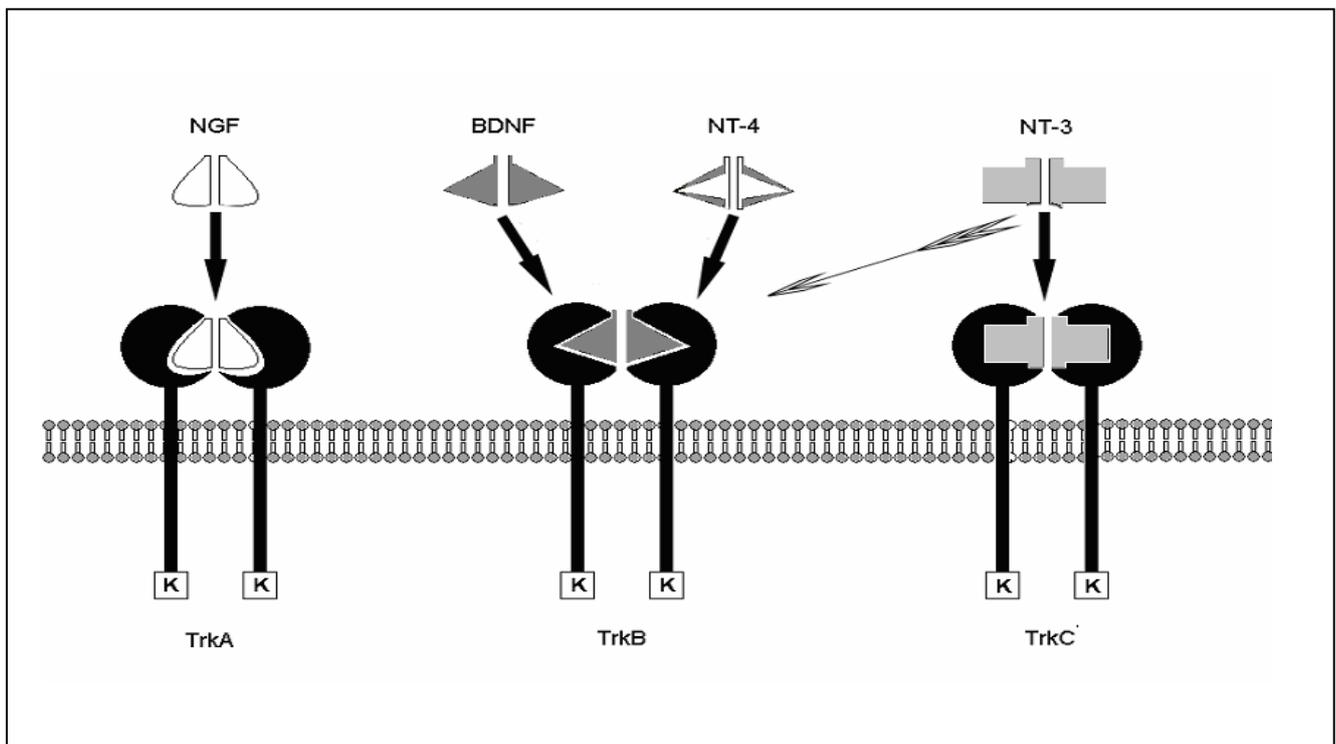
1. Las neuronas del SNC adulto dependen de las neurotrofinas para su mantenimiento, función y reparación.
2. Las neurotrofinas endógenas son liberadas por sus territorios de innervación (parejas post-sinápticas y glía).
3. Deficiencias de los FNT originan trastornos neuronales: disfunción, hipotrofia y degeneración.
4. La administración exógena de las neurotrofinas, previene y o corrige los daños o trastornos producidos por lesiones crónicas o agudas.
5. Los FNT pueden ayudar en el tratamiento de algunas patologías neurodegenerativas humanas.

Los factores neurotróficos pueden agruparse convenientemente en familias, tomando en consideración dos criterios: a) las poblaciones celulares sobre las que actúa, es decir considerando las células blanco y b) por su estructura, puesto que algunos factores neurotróficos presentan obvias similitudes estructurales en sus secuencias aminoacídicas (Escobar, 1994). La familia de las neurotrofinas está constituida por los siguientes miembros el Factor de Crecimiento Neuronal (NGF), Factor Neurotrófico Derivado del Cerebro (BDNF), Neurotrofina 3 (NT 3) y Neurotrofina 4 y 5 (NT 4/5) (Escobar, 1994), Neurotrofina 6 (NT 6) y Neurotrofina 7 (NT 7), las cuales se han encontrado recientemente en peces (Lessman et al., 2003).

Las neurotrofinas efectúan sus acciones mediante dos clases de receptores, los de alta afinidad, con acción de tirosina cinasa (receptores Trk) y los receptores de baja afinidad denominados p75 (Dechant et al., 1994, Lindsey et al., 1994; Ip et al., Yancopolus, 1996; Segal y Greenberg, 1996).

Se piensa que las neurotrofinas son transferidas de la célula postsináptica a la presináptica (Collin et al., 2001), sin embargo, evidencias recientes muestran como las neurotrofinas pueden ser igualmente transferidas de la pre-sinapsis a la post-sinapsis como los neurotransmisores (Kohara et al., 2001). Las neurotrofinas son transportadas en gránulos secretores, su secreción en el SNC tiene lugar fundamentalmente en forma regulada por actividad sináptica.

El descubrimiento de que el proto – oncogen TrkA codifica para el receptor de NGF, coadyuvó a la identificación de la familia de receptores Trk. Algunos genes estrechamente relacionados con el TrkA, tales como el TrkB y TrkC, codifican proteínas que actúan como receptores para el BDNF, NT – 3 y 4/5 respectivamente (Ip et al., 1992).



**Figura 5. Neurotrofinas con sus respectivos receptores Trk.** Modificado de Gómez-Palacio-Schjetnan y Escobar-Rodriguez, 2007. K= porción intracelular de tirosincinasa

### **2.4.1 El factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF)**

El BDNF es una molécula neurotrófica, cuyo peso molecular es de 27 KDa, que fue originalmente aislada a partir del cerebro del cerdo. Hoy en día sabemos que forma parte del SNC de los mamíferos en particular del hipocampo y la neocorteza. Recientes investigaciones muestran la presencia de BDNF y sus receptores TrkB en densidades postsinápticas de la corteza cerebral de ratas adultas (Aoki et al., 2000). Después de haber aislado el BDNF se comparó su secuencia y se encontró que era parcialmente homóloga a la del NGF. A la fecha se ha secuenciado el BDNF de distintas especies, encontrando una conservación evolutiva incluso mucho mayor a la del NGF (Boulton et al., 1993)

Una propiedad fundamental de los “sitios blancos” del BDNF es que se ubican o proyectan hacia alguna área específica del SNC. A pesar de que el factor neurotrófico NGF presenta amplia difusión en el SNC, los reportes indican que hay entre 20 y 50 veces más BDNF que NGF en el sistema nervioso central de la rata (Escobar, 1994). La regulación de los niveles de BDNF depende de la actividad neuronal, principalmente en el hipocampo, la neocorteza y algunas otras áreas del SNC, así como algunas partes del tejido periférico (aunque en menor cantidad) como el corazón, riñón y timo (Boulton et al., 1993).

Como se mencionó anteriormente, el BDNF interactúa con un receptor de alta afinidad llamado TrkB. La cadena de señalización que activa esta interacción incluye la mayoría de las veces una cascada de proteínas cinasas, las cuales se caracterizan por transferir un grupo fosfato a sus sustratos, fosforilando a otras cinasas que traslocan el núcleo y esto trae consigo modificaciones en el proceso celular (Finkbeiner et al., 1997; Petapoutian y Reichardt, 2001; Minichiello et al., 2002; Ying et al., 2002)

Además de las acciones anteriormente mencionadas de las neurotrofinas, éstas y en especial el BDNF, está involucrado en la regulación de la plasticidad sináptica dependiente de la actividad (Carmignoto et al., 1997). Ya que se expresan en áreas del cerebro donde hay una importante manifestación de plasticidad, la actividad regula sus niveles de secreción, éstas a su vez, regulan tanto la transmisión sináptica

como el crecimiento neuronal (McAllister et al., 1999). La expresión del BDNF en la neocorteza visual experimenta un rápido y significativo incremento debido a la actividad neuronal (Bozzi et al., 1995). La inducción de LTP en el giro dentado hipocampal, incrementa los niveles de ARNm<sup>3</sup> para el BDNF, NT3 así como para el receptor TrkB (Bramham et al., 1996; Morimoto et al., 1998). Cepas de ratón carentes del gen que codifica para la expresión del BDNF, exhiben una disminución significativa en la expresión de LTP hipocampal (Korte et al., 1995; Patterson et al., 1996). Se ha reportado que la adición de BDNF o NT-3 produce incrementos de larga duración en la transmisión sináptica (similares a la LTP) en rebanadas o cultivos neuronales hipocampales procedentes de roedores adultos (Levine et al., 1995; Kang y Schuman, 1995).

## **2.5 Memoria, consolidación y BDNF**

La memoria involucra cambios en las propiedades eléctricas así como alteraciones estructurales en la sinapsis. En virtud de que el BDNF modula ambas expresiones de plasticidad sináptica, esta neurotrofina ha sido considerada como un importante señalizador durante los procesos de aprendizaje y memoria. En este sentido, una serie de investigaciones muestran que el aprendizaje espacial produce incrementos en los niveles de ARNm de BDNF (Kesslak et al., 1998 y Mizuno et al., 2000), así como en su receptor TrkB en el hipocampo (Gómez-Pinilla et al., 2001). Empleando hibridación *in situ*, se han revelado incrementos rápidos y selectivos en la expresión del BDNF en el área CA1 del hipocampo, durante el aprendizaje contextual (Hall et al., 2000). La infusión intraventricular de anti-BDNF, origina decrementos significativos en el desempeño en el laberinto de agua en roedores (Mu et al., 1999). De manera similar, en animales en los que se induce el bloqueo de expresión del gen de BDNF, se producen decrementos en el desempeño de tareas espaciales dependientes del hipocampo (Johnston y Rose, 2001). Alonso y colaboradores en el 2002 reportaron que la presencia de BDNF en el hipocampo es esencial para que se lleven a cabo tareas relacionadas con la memoria de corto y largo plazo. La administración intrahipocampal de BDNF incrementa la retención de la memoria en tareas espaciales (Johnston y Rose, 2001). De manera similar, Liu et al. (2004) y

---

<sup>3</sup> ARNm: Ácido Ribonucleico mensajero

Rattiner et al. (2004) observaron que la producción de BDNF y de su receptor TrkB, juega un papel crítico en el condicionamiento al miedo. En este orden de ideas, investigaciones recientes realizadas en nuestro laboratorio, muestran que la microinfusión intracortical de BDNF (en concentraciones capaces de producir incrementos de la eficiencia sináptica), aumenta la retención del condicionamiento aversivo a los sabores (Castillo et al., 2006).

Esta serie de hallazgos respalda la idea de que el BDNF juega un importante papel en los procesos de almacenamiento de información en el sistema nervioso de los seres vivos.

A pesar de que se han reportado efectos rápidos en la transmisión sináptica regulados por el BDNF a través de la activación de los canales de sodio dependientes de voltaje, numerosos experimentos señalan que el BDNF tiene una participación primordial en la fase tardía de la LTP (Korte et al., 1995), lo cual requiere de la secreción lenta y prolongada de la neurotrofina (Patterson et al., 2001). Pang y colaboradores, observaron que la administración de BDNF, es capaz de restaurar la fase tardía de la LTP hipocampal, previamente abatida por la administración de inhibidores de la síntesis proteica. De manera similar, Barco y colaboradores en el 2006, reportaron la restauración de la fase tardía de la LTP hipocampal en animales carentes del gen que codifica al factor de transcripción CREB (elemento de unión responsivo al AMPc), tras la administración de BDNF. Recientemente, Beckinschtein et al. (2007) reportaron que tiempo después de la consolidación del aprendizaje, se continúa requiriendo de mecanismos de síntesis de proteínas y BDNF, para la persistencia de la memoria en el hipocampo. Asimismo, se ha demostrado que el condicionamiento al miedo, regula la expresión del BDNF en la amígdala (Ou y Gean, 2007). Estos estudios sugieren que el BDNF es un producto clave de la síntesis proteica que subyace la fase tardía de la LTP así como la consolidación de la memoria.

### 3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

Estudiar los procesos de memoria y aprendizaje desde la perspectiva de los mecanismos moleculares que sustentan dichos procesos, nos puede acercar a entender el comportamiento y procesamiento de información en los seres vivos.

El CAS es un paradigma de aprendizaje ampliamente utilizado para el estudio de los procesos de aprendizaje y memoria, ya que se tiene un conocimiento claro de las aferencias que recibe la corteza insular y la influencia de ésta en la consolidación del condicionamiento (Bermúdez-Rattoni y McGaugh, 1991, Escobar y Bermúdez-Rattoni, 2000), así como de los mecanismos moleculares que lo permiten (Bermúdez-Rattoni, 2004).

El BDNF tiene un papel muy importante en la consolidación de la memoria en el sistema nervioso de los seres vivos, como lo han demostrado numerosas investigaciones entre las que se encuentran las de nuestro grupo, al dar evidencia de que este proceso se potencia, gracias a la infusión previa de esta neurotrofina en la CI durante el CAS (Castillo et al., 2006); de manera similar, la infusión de BDNF es capaz de rescatar la inducción de L – LTP (fase tardía de la Potenciación a Largo Plazo) cuando previamente se ha bloqueado la síntesis de proteínas, en el hipocampo *in vitro* (Pang et al 2004). Así mismo se ha demostrado que el BDNF es requerido aún tiempo después de una primera fase de consolidación, para el mantenimiento de la memoria (Beckinschtein et al., 2007).

Por lo tanto este estudio pretende probar la influencia que ejerce el BDNF, sobre el proceso de consolidación neocortical, así como su contribución sobre las funciones cognitivas en las que interviene la neocorteza insular.

## 4. OBJETIVOS

Tomando en consideración lo anteriormente expuesto, los objetivos de la presente investigación son:

- 1) Examinar la influencia del BDNF en la consolidación del condicionamiento aversivo a los sabores.
- 2) Analizar la influencia de la infusión de anisomicina en la consolidación del aprendizaje de aversión al sabor.
- 3) Contribuir al estudio acerca de la influencia de las neurotrofinas sobre los mecanismos celulares que subyacen al almacenamiento de información en el sistema nervioso.

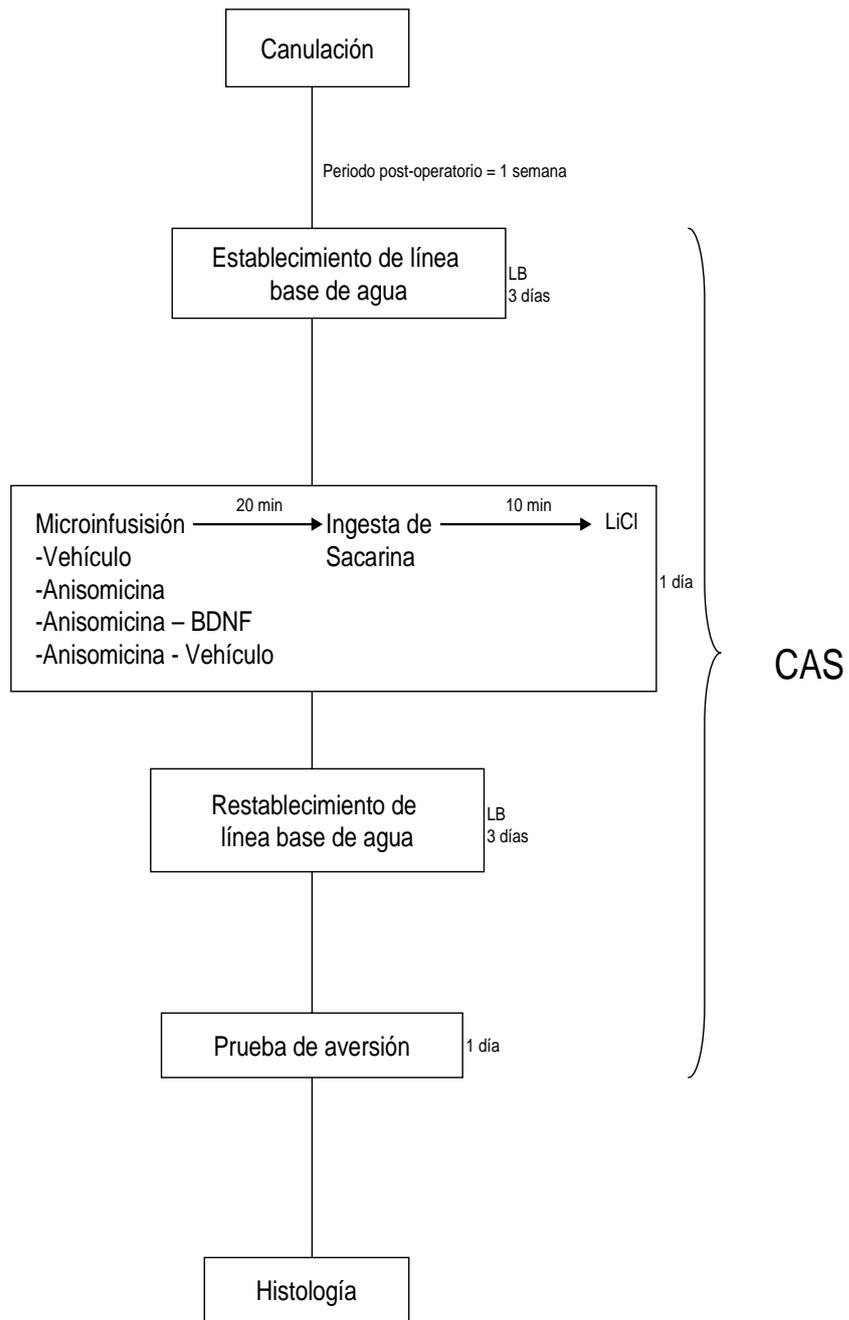
## 5. METODOLOGÍA

### 5.1 Sujetos:

Los sujetos utilizados fueron ratas macho de la cepa Wistar con pesos de 350-380g, que se mantuvieron en cajas individuales de policarbonato, en un ciclo de luz-obscuridad 12h/12h a una temperatura promedio de 21°C, con comida y agua *ad libitum* (excepto en las fases experimentales que especifiquen lo contrario).

### 5.2 Procedimiento Experimental

El procedimiento experimental en el presente trabajo consistió en la canulación de los sujetos, seguida de un periodo post-operatorio de una semana, al término del cual se procedió al entrenamiento del CAS, que consta de: 1) el establecimiento de la línea base de consumo de agua, 2) la sesión de adquisición durante la cual se efectuaron las microinfusiones intracorticales que se detallan en líneas posteriores 20 minutos antes de la ingesta del estímulo gustativo, 3) el reestablecimiento de la línea base de consumo de agua y 4) la prueba de aversión. Finalmente se realizó el análisis histológico (ver figura 6).



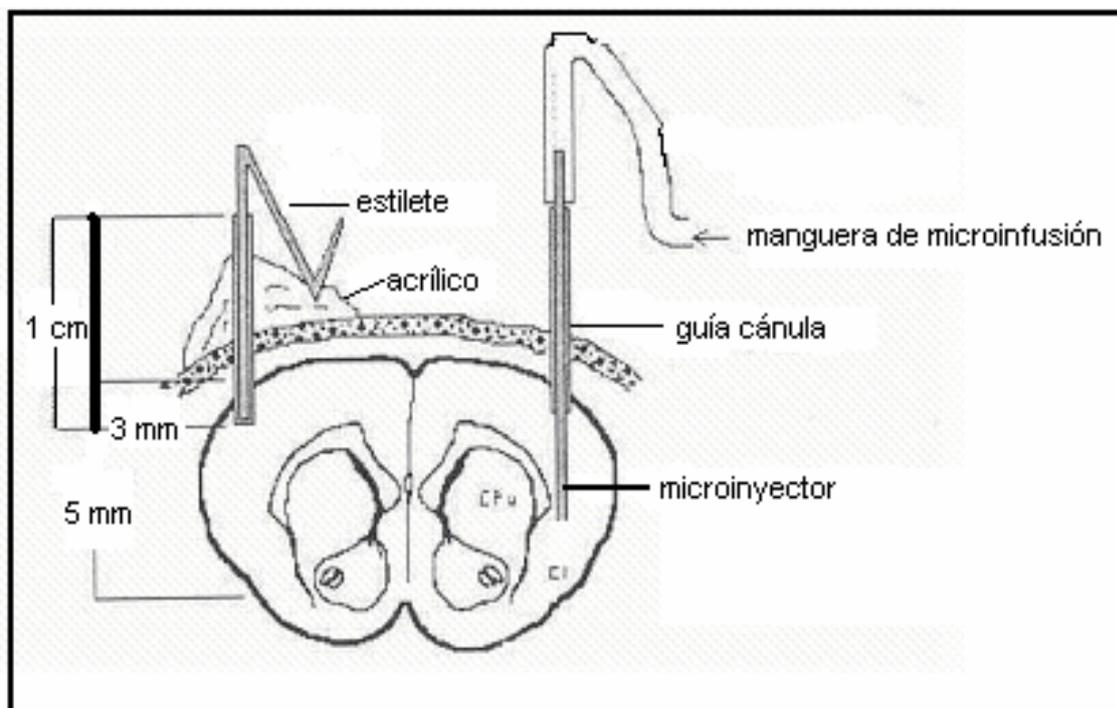
**Figura 6. Diagrama de flujo correspondiente al procedimiento experimental.**

### 5.2.1 Implantación de cánulas e infusión de sustancias

El procedimiento quirúrgico en los sujetos se llevó a cabo utilizando técnicas estereotáxicas convencionales y consistió en la implantación bilateral de cánulas guías de acero inoxidable de 1 cm de largo y .022 pulgadas de calibre, bajo el efecto de anestesia Pentobarbital (Nembutal) aplicado a dosis de 50mg/kg; vía intraperitoneal. Las coordenadas empleadas fueron AP= +1.2 mm; ML=  $\pm$  5.5 mm; DV= -3 mm (Paxinos et al., 1995) (ver figura 7). El extremo de cada una de las cánulas guías fue colocado 5 mm arriba de la CI; ambas cánulas fueron fijadas al cráneo usando acrílico dental de secado rápido. Un estilete de alambre de acero inoxidable se colocó en el interior de las cánulas con el fin de proteger su luz de obstrucciones con material orgánico durante el periodo de entrenamiento.

Los grupos canulados fueron infundidos bilateral e intraparenquimalmente en la región correspondiente a la CI. Para todos los grupos canulados, las microinyecciones fueron administradas por microinyectores consistentes en agujas dentales de calibre 30 ga. El microinyector fue introducido en la cánula previa remoción del estilete y se extendió 5mm por debajo del extremo inferior de la cánula, alcanzando así la región correspondiente a la CI, el mismo procedimiento se llevó a cabo para cada uno de los hemisferios. Los microinyectores fueron conectados mediante tubos de polietileno a jeringas Hamilton de 10  $\mu$ L. Las microinyecciones fueron dosificadas mediante una bomba de microinfusión (Carnegie Medicin, MA), las soluciones y los fármacos fueron inyectados a una tasa de 1  $\mu$ L/min. Una vez inyectado el volumen total de la solución vehículo con o sin fármaco, de acuerdo al protocolo experimental, los microinyectores permanecieron durante un minuto más para asegurar la adecuada difusión de la solución en el tejido.

## Implantación de cánulas en la corteza insular



**Figura 7. Esquema en un corte coronal de la posición de las guías cánula utilizadas para la infusión de los fármacos dentro de la corteza insular.** Abreviaturas: CI, Corteza Insular; Cpu, Caudado-putamen.

Los animales fueron divididos en los siguientes grupos experimentales:

1. Grupo anisomicina (ANI, n=10), al que se le infundió anisomicina (100 $\mu$ g/ $\mu$ L; 1  $\mu$ L; 1  $\mu$ L/min) 20 minutos antes de la ingesta de sacarina, con el fin de bloquear la síntesis de proteínas requerida para la consolidación de la memoria. La anisomicina es considerada como un inhibidor específico que bloquea la reacción de la peptidil transferasa en el ribosoma, inhibiendo de esta manera la síntesis de proteínas (Dudai y Eisenberg, 2004; Rodríguez-Ortiz et al., 2005).
2. Grupo líquido cefalorraquídeo artificial (ACSF, n=11), al que se le administró el ACSF como vehículo ( 1  $\mu$ L ; 1  $\mu$ L/min; pH 7.4) 20 minutos antes de la ingesta de sacarina

3. Grupo anisomicina - BDNF (ANIBDNF, n=11) al que se le administró anisomicina con los mismos parámetros que el grupo ANI e inmediatamente después recibió la infusión de BDNF (2  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ; 2 $\mu\text{L}$ ; 1  $\mu\text{L}/\text{min}$ ).
4. Grupo anisomicina – vehículo (ANIPBS, n=10) al que se le administró anisomicina con los mismos parámetros empleados en los dos grupos anteriores, seguida de la administración de amortiguador de fosfatos (PBS; 0.1M; pH 7.4; 2 $\mu\text{L}$ ; 1  $\mu\text{L}/\text{min}$ ) empleado como vehículo durante las diluciones de BDNF.
5. Grupo control intacto (CON, n=11) el cual permaneció intacto, sin la administración de ningún fármaco ni intervención quirúrgica.

### **5.2.2 Condicionamiento aversivo a los sabores (CAS):**

Al inicio del entrenamiento en el CAS, los animales fueron privados de agua por 24 horas. Posteriormente se les entrenó para beber agua dos veces al día (10:00 y 18:00 horas) durante 10 minutos por cada sesión de entrenamiento en un periodo de tres días durante los cuales se estableció la línea base de consumo. Los bebederos consistieron en probetas graduadas cubiertas con tapones de caucho horadados con boquillas de metal. El día de la adquisición los animales fueron privados de alimento y se sustituyó el agua por un sabor novedoso, solución de sacarina al 0.1% (Sigma, WI) durante 10 minutos. Después de 10 minutos de la presentación del estímulo novedoso, se administró una dosis intraperitoneal de cloruro de litio (0.2 M; 9.37 mL/Kg) para inducir el malestar digestivo; ocho horas después de la adquisición se les volvió a proporcionar agua a los animales, no modificando así la frecuencia del entrenamiento de consumo, como fue mencionado. Después de la sesión de adquisición, se proporcionó de nueva cuenta agua dos veces al día con el fin de restablecer la línea base de consumo de agua. Una vez restablecida la línea base (tres días después de la adquisición), el agua fue sustituida nuevamente por la solución de sacarina al 0.1% durante la prueba de aversión.

### **5.2.3 Histoquímica de Nissl.**

Tras los experimentos, los animales fueron analizados histoquímicamente con el fin de observar la ubicación exacta de las cánulas; para ello fueron perfundidos. La perfusión se efectuó transcárdialmente con 400 mL de solución salina, seguido por 400 mL de solución fijadora (paraformaldehído 4%; glutaraldeído 0.2% en amortiguador de fosfatos 0.1M / pH 7.4). El periodo de post-fijación fue de 30 minutos. Los cerebros fueron transferidos a una solución de sucrosa al 30% en PBS 0.1M (pH 7.4) en la cual se mantuvieron a 4°C durante 48 horas. Secciones coronales de 40 µm fueron colectadas en amortiguador de fosfatos tras su obtención por microtomo de congelación (LEICA RM 2000R). Las muestras fueron teñidas con violeta de cresilo y examinadas en un microscopio de luz, con el fin de verificar la posición exacta de las cánulas en el cerebro de la rata (Figura 8).

### **5.3 Análisis de Resultados**

El análisis de los datos generados durante los experimentos conductuales se efectuó a través del ANOVA factorial, posteriormente se utilizó la prueba post-hoc de Fisher para ver las diferencias particulares entre cada grupo.

## **6. RESULTADOS**

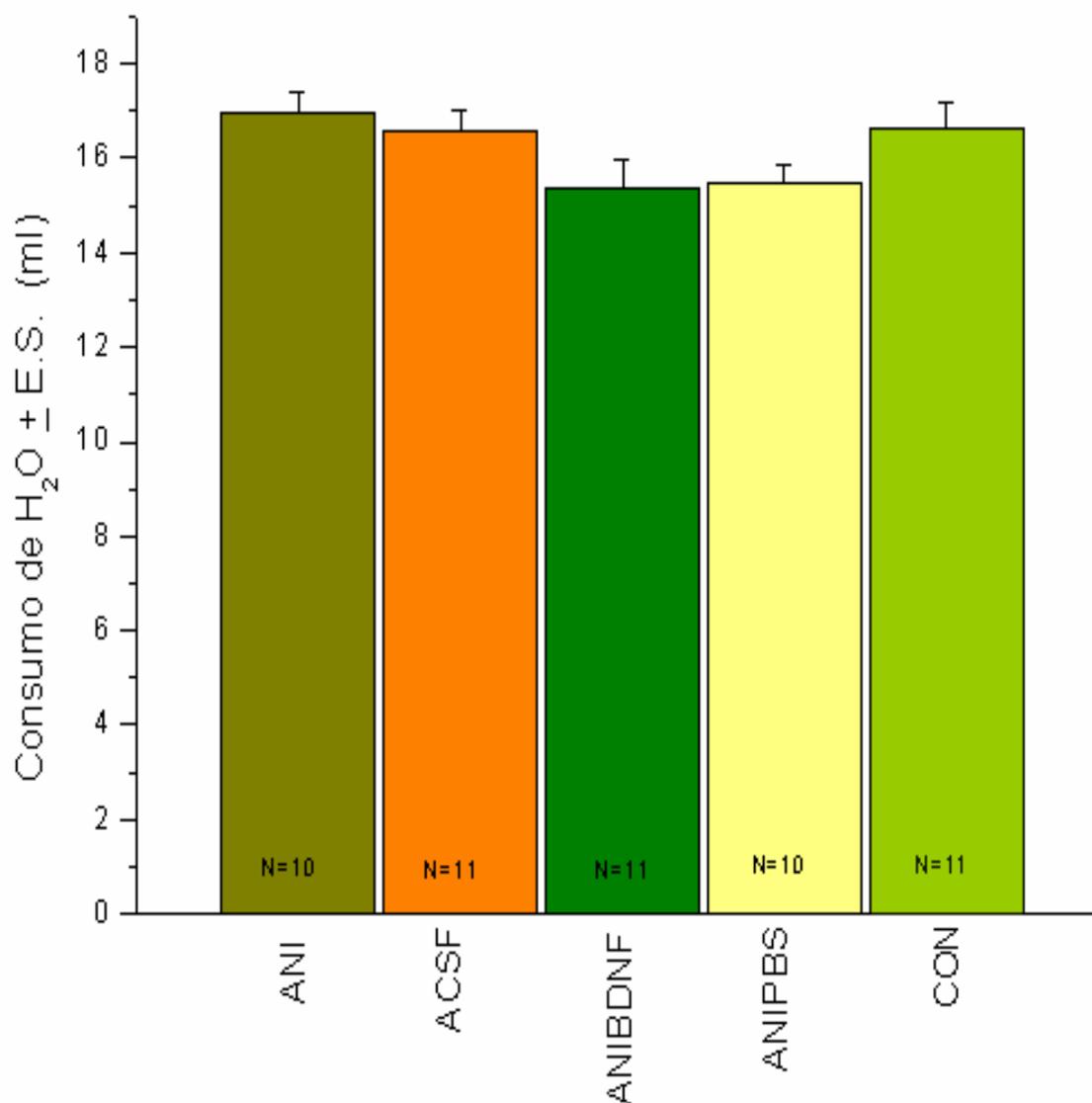
### **6.1 Resultados conductuales**

#### **Línea base y adquisición**

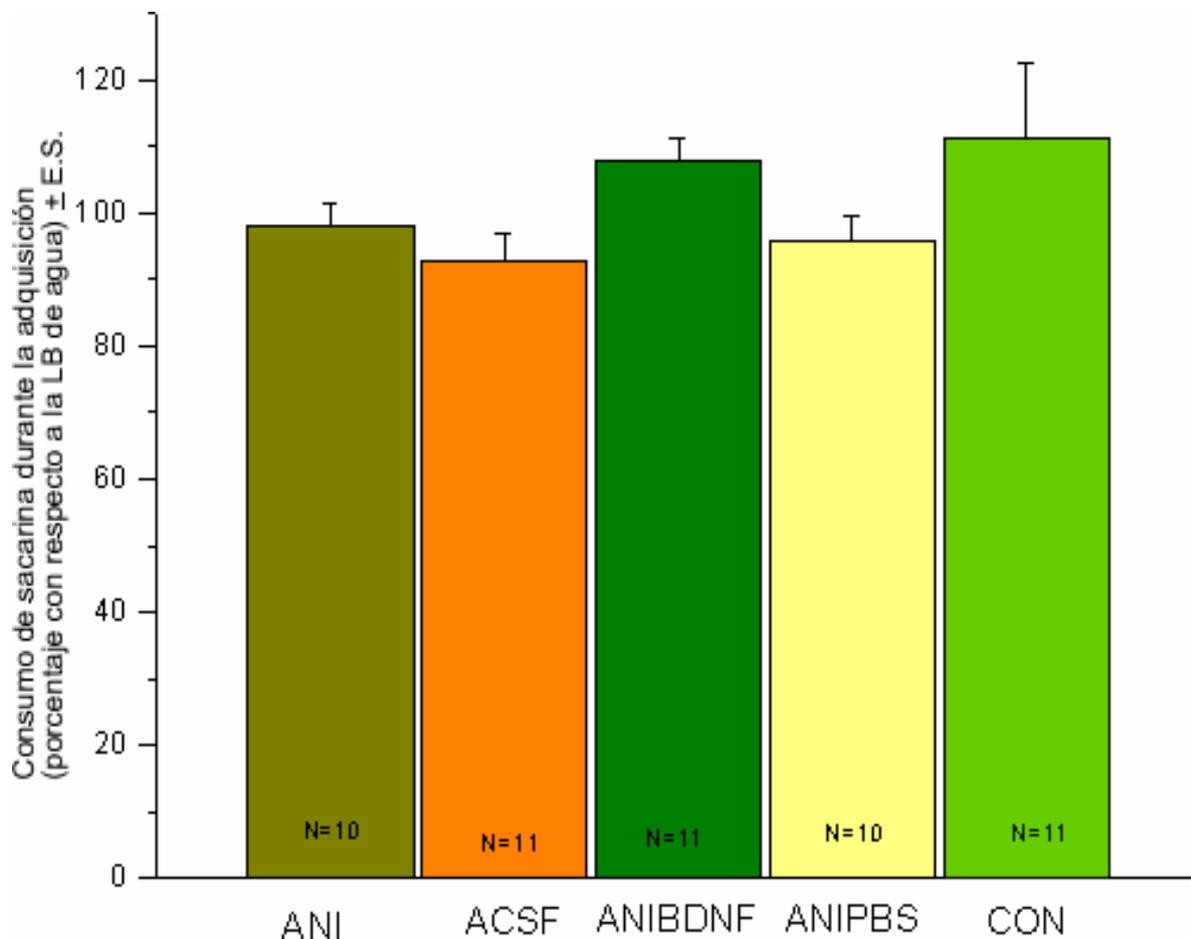
No se presentaron diferencias significativas entre los cinco grupos durante el consumo basal de agua (línea base) ni durante el consumo de la solución de sacarina durante la sesión de adquisición del CAS, como se aprecia en las gráficas 1 y 2 respectivamente.

Las medias de consumo de agua, fueron las siguientes:  $16.98 \pm .44$  para el grupo ANI,  $15.47 \pm .41$  para el grupo ACSF,  $16.57 \pm .44$  para el grupo ANIBDNF,  $15.38 \pm .57$  para el grupo ANIPBS y  $16.65 \pm .54$  para el grupo CON.

Los promedios de consumo de sacarina durante la adquisición de cada uno de los grupos fueron:  $16.7 \pm 0.88$  para el grupo ANI,  $15.62 \pm 0.56$  para el grupo ACSF,  $16.45 \pm 0.47$  para el grupo ANIBDNF,  $14.25 \pm .66$  para el grupo ANIPBS, y  $18.42 \pm .83$  para el grupo CON.



**Gráfica 1. Consumo promedio de agua de cada uno de los grupos durante la línea base.** No se presentaron diferencias significativas en el consumo de agua durante la LB previa a la adquisición. LB Línea base, ANI = grupo anisomicina, ACSF = grupo líquido cefalorraquídeo artificial, ANIBDNF = grupo anisomicina + BDNF, ANIPBS = grupo anisomicina + vehículo, CON = grupo control intacto.

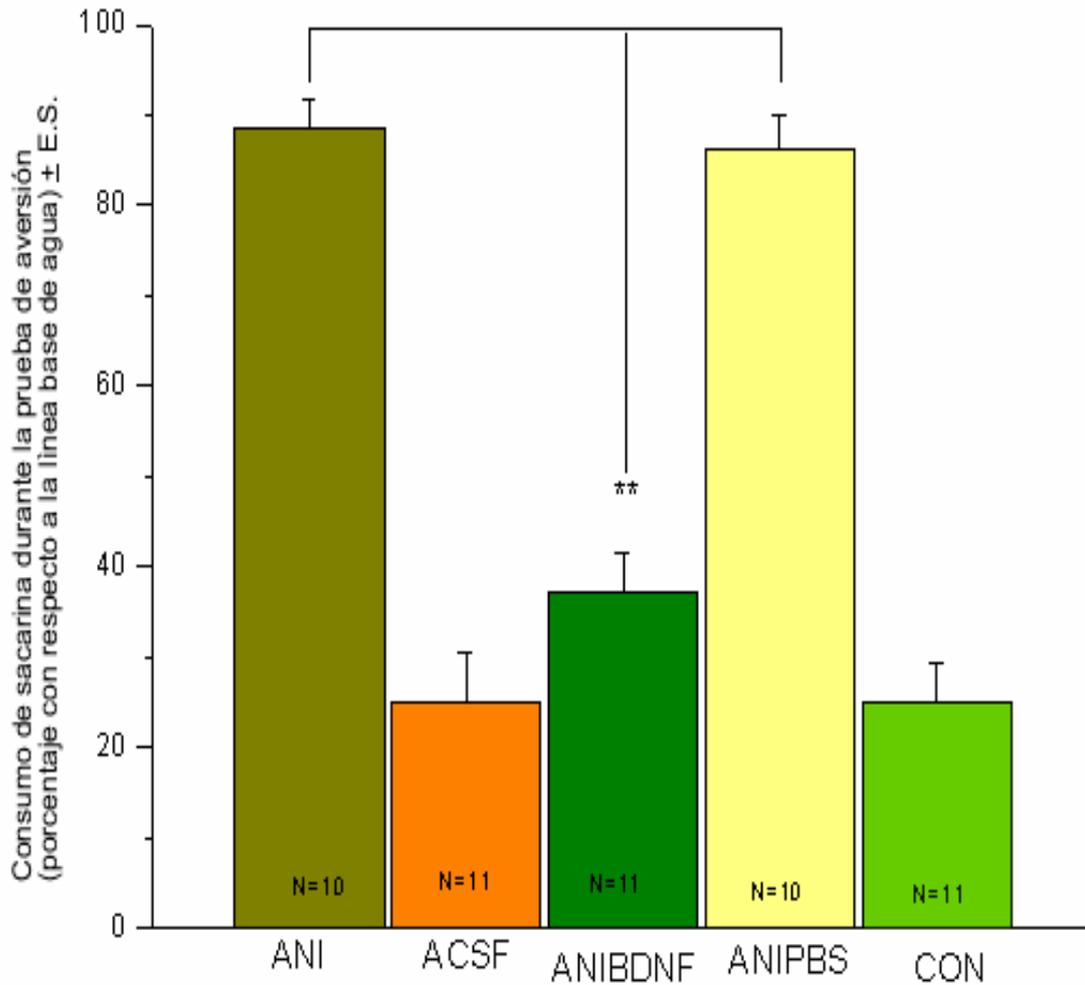


**Gráfica 2. Consumo de sacarina durante la sesión de adquisición.** No se observaron diferencias significativas entre los porcentajes de consumo de sacarina con respecto a la LB de los cinco grupos. Asimismo, no se observaron diferencias significativas en el consumo de sacarina entre los grupos en la sesión de adquisición. Los promedios en el consumo de sacarina fueron  $16.7 \pm 0.88$  (grupo ANI),  $15.62 \pm 0.56$  (grupo ACSF),  $16.45 \pm 0.47$  (grupo ANIBDNF),  $14.25 \pm .66$  (grupo ANIPBS), y  $18.42 \pm .83$  (grupo CON). ANI = grupo anisomicina, ACSF = grupo líquido cefalorraquídeo artificial, ANIBDNF = grupo anisomicina + BDNF, ANIPBS = grupo anisomicina + vehículo, CON = grupo control intacto.

Por el contrario, se observaron diferencias significativas entre los grupos durante la prueba de aversión (gráfica 3), las cuales fueron reveladas por el ANOVA factorial ( $F_{(4, 42)} = 53.36$ ,  $p < 0.001$ ). La prueba post-hoc de Fisher mostró que el consumo de la solución de sacarina del grupo ANIBDNF durante la prueba de aversión fue similar a la de los grupos ACSF y CON, en tanto que presentó diferencias altamente significativas respecto a los grupos ANI y ANIPBS ( $p < 0.001$ ). Estos resultados revelan que la presencia de BDNF revierte los efectos de la anisomicina sobre la consolidación de la aversión al sabor.

Las medias de consumo de sacarina durante la prueba de aversión de cada uno de los grupos fueron las siguientes:  $15.8 \pm .81$  para el grupo ANI,  $4.7 \pm .81$  para el grupo ACSF,  $6.09 \pm .68$  para el grupo ANIBDNF,  $13.8 \pm .53$  para el grupo ANIPBS y  $4 \pm .55$  para el grupo CON.

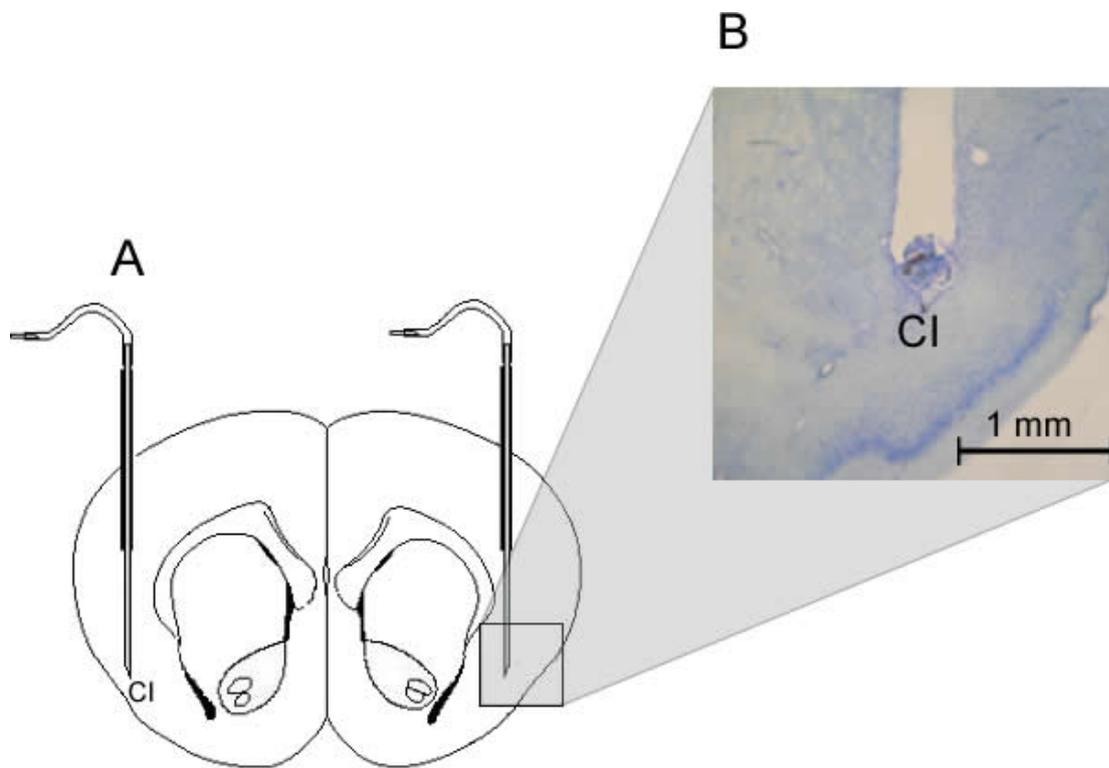
**El BDNF revierte los efectos de la anisomicina sobre la consolidación de la aversión al sabor.**



**Gráfica 3. Efectos de la infusión de BDNF tras la administración de anisomicina sobre la aversión a los sabores.** El grupo ANIBDNF presenta una aversión a la sacarina similar a la presentada por el grupo ACSF y CON, lo que indica la importancia de esta neurotrofina en la consolidación del CAS, revirtiendo los efectos de la anisomicina. ANI = grupo anisomicina, ACSF = grupo líquido ceforraquídeo artificial, ANIBDNF = grupo anisomicina + BDNF, ANIPBS = grupo anisomicina + vehículo, CON = grupo control intacto  
\*\*  $p < 0.001$ .

## 6.2 Resultados histológicos

La figura 8 es una muestra representativa de la adecuada posición de los microinyectores en la corteza insular, cabe mencionar, que los animales con cánulas que no presentan una posición adecuada fueron excluidos del análisis experimental, los registros histológicos fueron efectuados según el procedimiento mencionado en la metodología.



**Figura 8. Ubicación de las cánulas en la CI.** A. Representación esquemática de la ubicación de las cánulas en la corteza insular. B. Corte coronal representativo que muestra la ubicación de la cánula en la corteza insular, procesado con la técnica de tinción de Nissl.

## 7. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

El proceso por el cual almacenamos información acerca del medio que nos rodea, es la memoria; esta es una función cognitiva persistente que constituye la base biológica de nuestra individualidad y sobrevivencia. La memoria es un proceso que cuenta entre sus fases a la adquisición, la consolidación y la evocación. El presente trabajo se enfoca en el proceso de consolidación.

### *Consolidación y síntesis de proteínas*

La consolidación es la estabilización de la memoria a diferentes niveles cerebrales (Dudai, 2004), requiere de síntesis protéica como ha sido demostrado a lo largo del tiempo por diferentes grupos de investigación. En el presente trabajo, se demostró que la inhibición de la síntesis de proteínas durante la consolidación del condicionamiento aversivo a los sabores, por medio de la microinfusión de anisomicina en la CI, provoca un desempeño deficiente durante la prueba de aversión, en concordancia con lo reportado por Berman y Dudai en el 2001. La inhibición de síntesis protéica tiene efectos similares en el desempeño del condicionamiento al miedo, ya que la microinfusión de anisomicina en la amígdala provoca un desempeño deficiente de la tarea (Ou y Gean, 2007) lo que indica que la síntesis de proteínas es necesaria para que la memoria de una tarea se consolide.

La anisomicina es un inhibidor de síntesis protéica tiempo-dependiente, su infusión intracortical 20 minutos antes de la adquisición del CAS, en concentraciones similares a las empleadas en el presente estudio, es capaz de inhibir el 90% de la síntesis de proteínas requerida para la consolidación de este paradigma de aprendizaje, sin afectar la adquisición del condicionamiento (Rosenblum et al., 1993; Berman y Dudai, 2001; Bekinschtein et al., 2007).

### *BDNF, LTP y conducta*

Como ha sido mencionado, la experiencia es capaz de generar síntesis proteica para así fortalecer las conexiones sinápticas y generar cambios estructurales en las neuronas, este proceso que subyace a la memoria se encuentra regulado por la acción de diferentes proteínas que modulan estos cambios, una de las protagonistas es el factor neurotrófico derivado del cerebro, BDNF. En este sentido, Pang y colaboradores observaron que la administración de BDNF es capaz de restaurar la fase tardía de la LTP hipocampal previamente abatida por la administración de inhibidores de síntesis proteica (Pang et al., 2004 y Gómez-Palacio-Schjetnan y Escobar-Rodríguez, 2007). Nuestros resultados muestran que el BDNF es capaz de revertir los efectos de la anisomicina sobre la consolidación de la aversión al sabor. Lo anterior sugiere que el BDNF es un producto clave de la síntesis proteica que da lugar tanto al mantenimiento de la potenciación a largo plazo como a la consolidación de la memoria.

Evidencias recientes señalan que el BDNF participa en la regulación de la plasticidad sináptica dependiente de la actividad asociada a los procesos de aprendizaje y memoria (Lu et al., 2005; Pang et al., 2004). La inducción de potenciación a largo plazo origina incrementos en los niveles de BDNF, del ARNm que lo codifica así como de su receptor TrkB (Gómez-Palacio-Schjetnan y Escobar-Rodríguez, 2007). Asimismo, se ha demostrado que la adición de BDNF produce drásticos incrementos de larga duración en la transmisión sináptica (similares a la LTP) en preparaciones *in vivo* e *in vitro* en la CI (Escobar et al., 2003), el hipocampo (Messaudi et al., 1998 y Gómez-Palacio-Schjetnan y Escobar-Rodríguez, 2007) y en la corteza visual (Jiang et al., 2001).

Aunado a lo anterior, una serie de investigaciones muestran la participación del BDNF tanto en la adquisición como en el almacenamiento de información. La administración intrahipocampal de esta neurotrofina incrementa la retención de la memoria en tareas espaciales, asimismo el aprendizaje espacial produce incrementos en los niveles de ARNm de BDNF (Kesslak et al., 1998; Mizuno et al., 2000) así como de su receptor TrkB en el hipocampo (Gómez-Pinilla et al., 2001). Empleando hibridación *in situ* se han revelado incrementos rápidos y selectivos de la

expresión de BDNF en el área CA1 del hipocampo, durante el aprendizaje contextual (Hall et al., 2000, Johnston and Rose, 2001; Gómez-Palacio-Schjetnan y Escobar-Rodríguez, 2007). Alonso y colaboradores comunicaron que la actividad del BDNF en el hipocampo de roedores es esencial para que se lleven a cabo tareas relacionadas con la memoria a corto y a largo plazo (Alonso et al., 2002). En este sentido, Beckinschtein y colaboradores (2007) reportaron que tiempo después de la consolidación de la memoria, se continúa requiriendo de mecanismos de síntesis de proteínas y BDNF para la persistencia de la memoria en el hipocampo. Evidencias como esta, respaldan la existencia de un circuito de retroalimentación de activación protéica en ventanas de tiempo específicas permitiendo el fortalecimiento del trazo mnémico y por ende el almacenamiento de información por periodos prolongados, lo cual concuerda con la hipótesis del reforzamiento sináptico propuesta por Tsien (Tsien y Wittenberg, 2002; Bekinschtein et al., 2007).

Investigaciones realizadas en nuestro laboratorio muestran que la microinfusión intracortical de BDNF (en concentraciones capaces de producir incrementos de la eficiencia sináptica) aumenta la retención del condicionamiento aversivo a los sabores (Castillo et al., 2006), de manera similar, se ha observado la influencia del BDNF durante la extinción del condicionamiento al miedo, ya que la infusión de lentivirus, que generan el truncamiento del receptor TrkB del BDNF, en la amígdala genera la prevalencia de esta tarea por más tiempo, causando el decremento de la extinción del condicionamiento (Chhatwal et al., 2006). En este orden de ideas se ha visto que la consolidación del condicionamiento al miedo, es capaz de regular la transcripción del BDNF en la amígdala (Ou y Gean, 2007). Más aún, se ha reportado que la función hipocampal y la memoria episódica en humanos se ven afectadas como producto de alteraciones en la secreción y en la movilidad del BDNF producidas por un polimorfismo en el gen humano que lo codifica (Egan et al., 2003; Gómez-Palacio-Schjetnan y Escobar-Rodríguez, 2007).

De acuerdo a lo reportado en el presente estudio, esta neurotrofina es capaz de restablecer un paradigma de aprendizaje que junto con la evidencia anterior (Castillo et al., 2006; Chhatwal et al., 2006; Ou y Gean, 2007), nos señala la existencia de una regulación entre el BDNF y la conducta.

## *El BDNF y sus mecanismos de acción*

La participación fundamental del BDNF en diversas expresiones de plasticidad sináptica ha derivado en investigaciones que buscan identificar los mecanismos moleculares a través de los cuales lleva a cabo sus acciones. La síntesis de BDNF se incrementa por medio de cascadas moleculares activadas tanto por los receptores NMDA y los canales de  $\text{Ca}^{+2}$  dependientes de voltaje, como por la interacción BDNF-TrkB. Cuando esta neurotrofina se une a su receptor, permite la autofosforilación y el acoplamiento de la proteína SH2 a un residuo de tirosina intracelular. Esto induce la formación del complejo Grb/SOS, el cual a su vez, activa a la proteína G-ras, que inicia la fosforilación de MAPK<sup>1</sup>, como ERK<sup>2</sup>, a través de la activación de la proteincinasa raf. Este mecanismo conduce a la activación de cinasas como la ribosomal S6 o la cinasa activada por mitógenos y estrés MSK1. La activación de esta vía de señalización culmina en la síntesis de nuevas proteínas a través de la fosforilación de factores de transcripción como CREB y factores de iniciación, ambos relacionados con la formación de nuevos contactos sinápticos. Otra vía desencadenada por la interacción BDNF/TrkB es la activación de la fosfolipasa  $\text{C}\gamma$  (PLC $\gamma$ ) que involucra la hidrólisis de fosfatidilinosítidos generando diacilglicerol (DAG) e inositol trifosfato 1,4,5 trifosfato (IP3). El IP3 induce la liberación de calcio de los depósitos intracelulares, elevando sus niveles y propiciando en consecuencia la activación de proteincinasas dependientes de calcio que llevan a cabo la fosforilación de CREB. El complejo BDNF/TrkB también es capaz de activar las vías señalizadoras de la fosfatidil inositol 3 cinasa (PI3K) y de las Rho GTPasas (Gómez-Palacio-Schjetnan y Escobar-Rodríguez, 2007). Estas últimas promueven la polimerización de actina, que también es regulada por la expresión de Arc<sup>3</sup>, quien a su vez es regulado por la señalización que desencadena el BDNF (Bramham, 2007; Bramham y Well, 2007). La polimerización de actina se ha visto involucrada en el remodelamiento de espinas dendríticas y en el mantenimiento de la LTP a través de la intervención de la cinasa llamada PKM $\zeta$ <sup>4</sup>, (Kelly et al., 2007) que al ser inhibida es capaz de alterar el desempeño de tareas que involucran tanto al hipocampo (Pestalcova et al., 2006)

---

<sup>1</sup> Cinasas activadas por mitógenos

<sup>2</sup> ERK: Cinasa de Respuesta extracelular

<sup>3</sup> Gen de transcripción temprana producto de la síntesis protéica.

<sup>4</sup> Isoforma atípica de la Proteina Cinansa C PKC, que carece de unidad reguladora.

como a la neocorteza, específicamente el condicionamiento aversivo a los sabores (Shema et al., 2007).

Los resultados derivados de la presente investigación revelan que el BDNF juega un papel fundamental para la consolidación de la memoria y es capaz de revertir los efectos de la anisomicina en el condicionamiento aversivo a los sabores, su administración exógena en la CI permite el restablecimiento de la conducta de aversión al sabor.

En resumen, la síntesis de proteínas originada por la experiencia constituye el punto de partida para la producción de modificaciones en la comunicación y la morfología de las sinapsis que a su vez permiten la consolidación de la información. El presente trabajo constituye una evidencia de que el BDNF es un producto esencial de esta síntesis protéica, la presencia de esta neurotrofina y la activación de su receptor generan modificaciones fundamentales para la prevalencia de la información.

## 8. REFERENCIAS

- Alonso.M., Vianna.R.M., Depino.M., Mello e Souza.T., Pereira.P., Szapiro.G., Viola.H., Pitossi.F., Izquierdo.I. y Medina.J. (2002). BDNF- triggered events in the rat hippocampus are required for both short and long term memory formation. *Hippocampus*, 12:551-560.
- Aoki. C., Wu. K., Elste.A., Len.G., Lin.S., McAuliffe.G. y Black.B.I. (2000). Localization of brain-derived neurotrophic factor and TrkB receptors to postsynaptic densities of adult rat cerebral cortex. *Journal of Neuroscience Research*, 59: 454-463.
- Barco. A., Bailey.C.H. y Kandel.E.R. (2006). Common molecular mechanisms in explicit and implicit memory. *J. Neurochemistry*, 97: 1520-1533.
- Bear, M. F., Connors, B. y Paradiso, M. (2001). *Neuroscience Exploring the Brain* (2 ed.). EUA: Lippincott Williams and Wilkins.
- Bekinschtein. P., Cammarota.M., Muller Igaz.L., Bevilacqua. L.R.M. e Izquierdo.I. (2007). Persistence of Long –Term Memory Storage Requires a Late Protein Síntesis –and BDNF- Dependent Phase in the Hippocampus. *Neuron*, 53: 261 – 277.
- Bekinschtein. P., Katche. C., Slipczuc.N., Igaz.L., Cammarota.M., Izquierdo.I. y Medina. J. (2007). mTOR signaling in the hippocampus is necessary for memory formation. *Neurobiology of Learning and memory*. 87:303-307.
- Berman. D. y Dudai. Y.(2001). Memory Extinction, Learning Anew, and Learning the New: Dissociations in the Molecular Machinery of Learning in Cortex. *Science*. 291: 2417 – 2419.
- Bermudez Rattoni, F., Ormsby, C., Escobar, M. L. y Hernandez-Echeagaray, E. (1995). The role of insular cortex in the acquisition and long lasting memory for aversively motivated behaviours. In J. L. McGaugh, F. Bermudez Rattoni & R. Prado-Alcala (Eds.), *Plasticity in the Central Nervous System: Learning and memory* (pp. 67-82). Hillside NJ: Lawrence Erlbaum Associates.
- Bermúdez-Rattoni, F. y McGaugh, J.L. (1991). Insular cortex and amygdala lesions differentially affect acquisition of inhibitory avoidance and conditioned aversion. *Brain Research*, 549, 165-170.
- Bermúdez-Rattoni. F. (2004). Molecular mechanisms of taste recognition memory. *Nat. Rev., Neurosci.*, 5: 209-217.
- Bermudez Rattoni. F. y Yamamoto, T. (1998). Neuroanatomy of CTA: lesions studies. In J. Bures, F. Bermudez Rattoni & T. Yamamoto (Eds.), *Conditioned Taste Aversion* (pp. 27-40). USA: Oxford Science Publication.
- Bernstein.I.L. y Koh. M.T. (2007). Molecular signaling during taste aversion. *Chemical senses*, 32 (1): 99-103.

- Bliss TV y Lømo TVP, (1973) Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *Journal of Physiology*, 232: 331-356.
- Boulton A.A., Baker, G.B. y Hefti, F (1993) *Neuromethods*. (Vol.25):Neurotrophic Factors. Human Press. Estados Unidos.
- Bozzi. Y., Pizzarusso. T., Cremisi. F., Rossi. F.M. y Barsacchi. G., (1995). Monocular deprivation decreases the expression of messenger RNA for brain-derived neurotrophic factor in the rat visual cortex. *Neuroscience*, 69: 1133-1144.
- Bradley. R.M. y Mistretta.C.M. (1971). Intravascular taste in rats as demonstrated by conditioned aversion to sodium saccharin. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 75 (2): 186-189.
- Bramham. C. R., Southard. T., Sarvey., J.M., Hedrkenham. M. y Brady. L.S. (1996). Unilateral Ltp triggers bilateral increases in hippocampal neurotrophin and Trk receptor mRNA expression in behaving rats: evidence for interhemispheric communication *J. Comp. Neurol*, 368: 371 – 382.
- Bramham.C.R. (2007). Control of synaptic consolidation in the dentate gyrus: mechanisms, functions, and therapeutic implications. *Progress in Brain Research* 163: 453-470.
- Bramham.C.R. y Well.D.G. (2007). Dendritic mRNA: transport, translation and function. *Nature Reviews*, 8: 776-789.
- Braun. J.J., Lasiter.P.S. y Kiefer.S.W. (1982). The gustatory neocortex of the rat. *Physiol. Psychol.*, 10: 13-45.
- Bures, J., Bermudez Rattoni, F. y Yamamoto, T. (1998). *Conditioned Taste Aversion: Memory of a special kind*. Gran Bretaña: Oxford Science Publications.
- Bures, J. y Buresova, O. (1989). Conditioned taste aversion elicited by intracerebral administration of drugs. *Acta Physiol Hung*, 74(1), 77-93.
- Carmignoto, G., Pizzarusso, T., Tia. S. y Vicini, S. (1997). Brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor potentiate excitatory synaptic transmission in the visual cortex. *Journal of Physiology*, 498: 153 – 164,
- Castillo. D.V., Figueroa-Guzman.Y. y Escobar. M.L. (2006). Brain derived neurotrophic factor enhances conditional taste aversion. *Brain Research*, 1067: 250 – 255.
- Chhatwal.J.P, Stanekk-Rattiner.L., Davis.M. y Ressler.J.K. (2006). Amygdala BDNF signaling is requires for consolidation but not encoding for extinction. *Nature Neuroscience*, 9 (7): 870-872.

Collin.C., Vicario-Abejon.C., Rubio.M.E., Wenthold.R.J., McKay.R.D.G. y Segal.M. (2001) Neurotrophins act at presynaptic terminals to activate synapses among cultured hippocampal neurons. *European Journal of Neuroscience*, 13:1273-1282.

Davis.H.P. y Squire.L.R. (1984). Protein Synthesis and Memory: A Review. *Psychological Bulletin*, 96: 518-559.

Dechant. G., Rodríguez-Tebar.A. y Barde.Y.A. (1994). Neurotrophins receptors. *Prog. Neurobiol.*, 42:347-352.

Domjan, M. (1985). Cue-consequence specificity and long delay learning revisited. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 443: 57-66.

Dudai.Y. (1996). Consolidation: Fragility on the Road to the Engram. *Neuron*, 17:367-370.

Dudai.Y. (2002). Molecular bases of long term memories: a question of persistence. *Current Opinion in Neurobiology*, 12:211-216.

Dudai Y. y Eisenberg. M (2004). Rites of Passage of the Engram: Resconsolidation and the Lingering Consolidation Hypothesis. *Neuron*, 44: 93 – 100.

Dudai Y. (2004). Memory from A to Z. Keywords, concepts and beyond. Oxford University Press. 331pp.

Egan MF, Kojima M, Callicott JH, Goldberg TE, Kolachana BS, Bertolino A, Zaitsev E, Gold B, Goldman D, Dean M, Lu B. y Weinberger D.R. (2003). The BDNF val66met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function. *Cell* 112 (2): 257-269.

Eisenberg. M. y Dudai.Y. (2004). Reconsolidation of fresh, remote, and extinguished fear memory in medada: old fears don't die. *European Journal of Neuroscience*, 20: 3397 – 3403.

Escobar, M. (1994) El factor de crecimiento neuronal en el sistema nervioso central. *Ciencia*, 45: 21 – 34.

Escobar ML, Chao V y Bermúdez-Rattoni F, (1998a) In vivo long-term potentiation in the insular cortex: NMDA receptor dependence. *Brain Research*, 779: 314-319.

Escobar ML, Alcocer I y Chao V, (1998b) The NMDA receptor antagonist CPP impairs conditioned taste aversion and insular cortex long-term potentiation in vivo. *Brain Research*, 812: 246-251.

Escobar, M. L. y Bermúdez-Rattoni, F. (2000). Long-term potentiation in the insular cortex enhances conditioned taste aversion retention. *Brain Research*, 852: 208-212.

Escobar ML, Alcocer I. y Bermúdez-Rattoni F, (2002) In vivo effects of intracortical administration of NMDA and metabotropic glutamate receptors antagonists on

neocortical long-term potentiation and conditioned taste aversion. *Behavioral Brain Research*, 129: 101-106.

Escobar. M.L., Figueroa-Guzman Y. y Gomez- Palacio Schjetnan A. (2003). In vivo insular cortex LTP induced by Brain Derived Neurotrophic Factor. *Brain Research*, 991: 274 – 279.

Finkbeiner, S., Tavazoie, S.F., Maloratzky, A., Jacobs, M.J., Harris, K.M. y Greenberg, M.E. (1997). CREB: a major mediator of neuronal neurotrophin responses. *Neuron*, 19: 1031 – 1047.

García, J., Kimeldorf, D. y Koelling, R. (1955). Conditioned aversion to saccharine resulting from exposure to gamma radiation. *Science*, 122: 157-158.

García, J. y Koelling, Y., (1966), Relation of cue to consequence in avoiding learning. *Psychonomic Science*, 4: 123-124.

García, J., Lasiter, P.S., Bermudez, R. y Deems, D.A., (1985), A general theory of aversion learning. *Ann N Y Acad Sci*, 443: 8-21.

Gómez-Pinilla. F., So.V. y Kesslak.J.P. (2001). Spatial learning induces neurotrophin receptor and synapsin I in the hippocampus. *Brain Research*, 904:13-19.

Gómez-Palacio Schjetnan. A. y Escobar-Rodríguez M.L. (2007). Codificación y retención de la memoria: el factor Neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) en la plasticidad sináptica. *Revista de Neurología*, 45(7): 409-417.

Hall.J., Thomas.K.L. y Everitt.B.J. (2000). Rapid and selective induction of BDNF expression in the hippocampus during contextual learning. *Nature Neuroscience*, 3(6): 533-535.

Ip.N.Y., Ibáñez.C.F., Nye.S.H., McClain.J., Jones.P.F., Gies.D.R., Belluscio.L., Le Beau, Espinosa.R., Squinto.S.P., Person.H. y Yancopoulos. G.D. (1992). Mammalian Neurotrophin-4: Structure, Chromosomal Localization, Tissue, Distribution, Receptor Specificity. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 89: 3060-3064.

Ip, N.Y. y Yancopoulos, G.D. (1996). The Neurotrophins and CNTF: two families of collaborative neurotrophic factors. *Annual review of Neuroscience*, 19: 491 - 515

Jiang.B., Akaneya.Y., Oshima.M., Ichisaka.S., Hata.Y. y Tsumoto.T. (2001). Brain derived neurotrophic factor induces long lasting potentiation of synaptic transmission in visual cortex in vivo in young rats, but not in the adult. *European Journal of Neuroscience*, 14:1219-1228.

Johnston. A.N.B. y Rose. S.P.R. (2001). Memory consolidation in day-old-chicks requires BDNF but not NGF or NT-3: an antisense study. *Molecular Brain Research*, 88: 26-36.

Kang. H. y Schuman. E.M. (1995). Long lasting neurotrophin – induce enhancement of synaptic transmission in the adult hippocampus. *Science*, 267: 1658 – 1662.

- Kelly.M.T., Yao.Y., Sondhi.R. y Sacktor. T.C. (2007). Actin polymerization regulates the synthesis of PKM $\zeta$  in LTP. *Neuropharmacology*, 52: 41-45.
- Kesslak. J.P., So.V., Choi.J., Cotman.C.W. y Gómez-Pinilla.F. (1998). Learning upregulates brain-derived neurotrophic factor messenger ribonucleic acid. A mechanism to facilitate encoding and circuit maintenance? *Behavior Neuroscience*, 112:1012-1019.
- Kiefer. S.W. (1985). Neural mediation of conditioned food aversions. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 443: 100-109.
- Kohara.K., Kitamura.A., Morishima.M. y Tsumoto.T. (2001). Activity-dependent transfer of brain-derived neurotrophic factor to postsynaptic neurons. *Science*, 291:2419-2423.
- Korte. M., Carroll. P., Wolf. E., Brem. G., Thoenen. H. y Bonhoeffer. T. (1995). Hippocampal long term potentiation is impaired in mice lacking brain derived neurotrophic factor. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 92: 8856 – 8860.
- Lamprecht, R. Hazvi, S y Dudai, Y. (1997). cAMP response element binding protein in the amygdala is required for long but not short-term conditioned taste aversion memory. *J. Neuroscience*, 17 8443-8450.
- Lasiter, P.S., Glanzman, D.L. y Mensah, PA. (1982). Direct connectivity between pontine taste areas and gustatory neocortex in rat. *Brain Research*, 234: 111-121.
- Lasiter P.S, Deems D.A, Oetting R.L. y Garcia J. (1985) Taste discriminations in rats lacking anterior insular gustatory neocortex. *Physiology & Behavior*, 35:277-285.
- LeDoux. JE. (1993). Emotional memory system in the brain. *Behavioral Brain Research*, 58: 69-79.
- Lessmann. V, Gottmann. K. y Malsangio. M. (2003). Neurotrophin secretion: current facts and future prospects. *Progress in Neurobiology*, 69: 341 – 374.
- Levine. E. S., Dreyfus, C. F., Black. I.B. y Plummer. M. R. (1995). Brain – derived neurotrophic factor rapidly enhances synaptic transmission in hippocampal neurons via postsynaptic tyrosine kinase receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 92: 8074 – 8077.
- Lindsey.R.M., Wegand. S.J., Altar.C.A. y DiStefano. P.S. (1994). Neurotrophic factors: from molecule to man. *TINS*, 17:182-190.
- Liu.I.Y.C., Lyons.W.E., Mamounas.L.A. y Thomson.R.F. (2004). Brain-derived neurotrophic factor plays a critical role in contextual fear conditioning. *J. Neuroscience*, 24: 7958-7963.
- Lu.B, Pang. P.T. y Woo.N.H. (2005). The ying and yang of neurotrophin action. *Nat. Rev. Neruoscience*, 6: 603-614.

Mc Allister. A., Katz. L. y Lo.D. (1999). Neurotrophins and synaptic plasticity. *Ann. Rev. Neuroscience*, 295 – 318.

McGaugh. J.L. (2000). Memory – a century of consolidation. *Science*, 287: 248 – 251.

McGowan B, Hankins WG y García J. (1972) Limbic lesions and control of the internal and external environment. *Behavior and Biology*, 7: 841-852.

McGaugh, J.L., Introini-Collison, I.B., Nagahara, A.H., Cahill, L., Brioni, J.D. y Castellano. C. (1990). Involvement of the amygdaloid complex in neuromodulatory influences on memory storage. *Neuroscience Behavioral Review*, 14 (4): 425-431.

Messaoudi.E., Bardsen.K., Srebo.B. y Bramham.C. (1998). Acute intrahippocampal infusion of BDNF induces lasting potentiation of synaptic transmission in the rat dentate gyrus. *Journal of Neurophysiology*, 79:496-499.

Milner, B., Squire, L.R. y Kandel, E.R. (1998). Cognitive Neuroscience and the Study of Memory. *Neuron*, 20, 445-468

Minichiello. L., Calella.A.M., Medina. D.L., Bonhoeffer.T., Klein.R. y Korte.M. (2002). Mechanism of Trk-mediated hippocampal long-term potentiation. *Neuron*, 36:121-137.

Mizuno.M., Yamada.K., Olariu.A., Nawa.H. y Nabeshima.T. (2000). Involvement of BDNF in spatial memory formation and maintenance in radial arm maze test in rats. *Journal of Neuroscience*, 20: 7116-7121.

Morimoto. K., Salto. K., Sato. S., Yamada. N. y Hayabara., T. (1998). Time dependent changes in neurotrophic factor m RNA expression alter kindlinand long term potentiation in rats. *Brain Research Bulletin*, 45: 599 – 605.

Mu.J-S., Li.W-P., Yao. Z-B y Zhou.X.F. (1999). Deprivation of endogenous brain derived neurotrophic factor results in impairment of spatial learning and memory in adult rats. *Brain Research*, 835: 259-265.

Ou. L.C. y Gean. P.W. (2007). Transcriptional regulation of brain-derived neurotrophic factor in the amygdala during consolidation of fear memory. *Mol. Pharmacol.* 72: 350-358.

Petapoutian, A. y Reichardt. L.F. (2001). Trk receptors: mediators of neurotrophin action. *Curr. Op. Neurobiology*, 11: 272 – 280.

Pang. P.T.; Teng. H., Zaitsev. E., Woo.N., Sakata.K., Zhen. S., Teng. K., Yung. W., Hempstead. B. y Lu.B. (2004). Cleavage of pro BDNF by tPA/ Plasmin Is Essential for Long Term Hippocampal Plasticity. *Science*, 306: 487 – 491.

Pestalcova. E., Serrano.P., Pinkhasova.D., Wallace.E., Fenton. A.A. y Sacktor. T.C. (2006). Storage of spatial information by the maintenance mechanism of LTP. *Science*, 313:1141-4.

Patterson.S.L., Abel.T., Deuel.T.A., Martin.K.C., Rose.J.C. y Kandel.E.R. (1996). Recombinant BDNF rescues deficits in basal synaptic transmission and hippocampal LTP in BDNF knockout mice. *Neuron*, 16:1137-1145.

Patterson. S.L., Pittenger. C., Martin.K.C., Scalin, H., Drake. C. y Kandel. E. R. (2001). Some forms of cAMP – mediated long-lasting potentiation are associated with release of BDNF and nuclear translocation of phosphor-MAP Kinase. *Neuron* 32: 123 – 140.

Paxinos. G., & Watson, C. (1995). *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Orlando: Academic Press.

Ramírez –Lugo. L, Nuñez-Jaramillo. L. y Bermudez-Rattoni.F. (2007). Taste memory formation: role of nucleus accumbens. *Chemical senses*, 32: 93-97.

Rattiner. L.M., Davis M., French. C.T. y Ressler K.J. (2004) Brain-derived neurotrophic factor and tyrosine kinase receptor B involvement in amygdala-dependent fear conditioning. *Journal of Neuroscience* 24: 4796-4806

Riegler. A, (2005) Constructive memory. *Kybernetes*, 34: 89-104

Rodríguez-Ortiz.C, De la Cruz.V, Gutierrez. R y Bermúdez – Rattoni.F. (2005). Protein Synthesis underlies post-retrieval memory consolidation to a restricted degree only when updated information is obtained. *Learning and Memory*, 12: 533 – 537.

Rosenblum. K., Meiri. N. y Dudai.Y. (1993). Taste Memory: The Role of Protein Synthesis in Gustatory Cortex. *Behavioral and Neural Biology*, 59: 49-56.

Segal.R.A. y Greenberg. M.E. (1996). Intracellular signaling pathways activated by neurotrophic factors. *Annu. Rev. Neurosc.*, 19: 463-489.

Shema. R., Sacktor .T.C., y Dudai. Y. (2007) Rapid erasure of long-term memory associations in the cortex by an inhibitor of PKM $\zeta$ . *Science*, 317:951-3.

Travers, S. P. (1993). Orosensory processing in neural systems of the nucleus of the solitary tract. In *Mechanisms of Taste Transduction* (pp. 339-394). USA: CRC Press.

Tsien.J.Z y Wittenberg.G.M. (2002). An emerging molecular and cellular framework for memory processing by hippocampus. *TINS*, 25 (10): 501-505.

Varon, S. (1985). Factors promoting the growth of the nervous system. *Discussions in neuroscience*, 2(3), 1-62.

Yamamoto, T., Shimura, T., Sako, N., Azuma, S., Bai, WZ. y Wakisaka, S. (1992). C-fos expression in the rat brain after intraperitoneal injection of lithium chloride. *Neuroreport*, 3: 1049-1052.

Yasoshima, Y. y Yamamoto, T. (1997). Rat gustatory memory requires protein kinase C activity in the amygdala and cortical gustatory area. *NeuroReport*, 8: 1363-1367.l

Ying, S., Futter, M., Roseblum, K., Webber, M.J., Hunt, S.P., Bliss, T.V.P. y Bramham, C.R. (2002). Brain - derived neurotrophic factor induces long term potentiation in intact adult hippocampus: requirement for ERK activation coupled to CREB and upregulation of Arc synthesis. *Journal of Neuroscience*, 22: 1532 – 1540.