



EFEECTO DEL BLOQUEO DE LOS RECEPTORES  $\beta$ -ADRENÉRGICOS  
EN LA CORTEZA INSULAR DURANTE LA FORMACIÓN  
DE LA MEMORIA INCIDENTAL DE CONTEXTO

Elizabeth Sabath Silva

Instituto de Neurobiología  
Universidad Nacional Autónoma de México

Tesis que presenta la Q.F.B. Elizabeth Sabath Silva, como requisito para obtener el grado de  
Maestra en Ciencias (Neurobiología)

Directora de Tesis: Dra. María Isabel Miranda Saucedo

Campus Juriquilla, Querétaro. Octubre 2008



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

Universidad Nacional Autónoma de México

Instituto de Neurobiología

Los miembros del Comité Tutorial certificamos que la tesis elaborada por Elizabeth Sabath Silva, cuyo título es: “Efecto del bloqueo de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos en la corteza insular durante la formación de la memoria incidental de contexto” se presenta como uno de los requisitos para obtener el grado de Maestría en Ciencias (Neurobiología) y cumple con los criterios de originalidad y calidad requeridos por la División de Estudios de Posgrado de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Presidente

Dr. Manuel Salas Alvarado \_\_\_\_\_

Secretario (Tutor)

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

Vocal

Dra. Sara Eugenia Cruz Morales \_\_\_\_\_

Suplente

Dr. Roberto Agustín Prado Alcalá \_\_\_\_\_

Suplente

Dra. Verónica Mireya Rodríguez Córdova \_\_\_\_\_

Aprobado por el Comité Académico

\_\_\_\_\_  
Dra. María Teresa Morales Guzmán  
Coordinadora del Programa

## RESUMEN

Gran parte de la información que recibimos del mundo la adquirimos y almacenamos prácticamente sin advertirlo o sin tener propósito en recordarla, a esto le llamamos “memoria incidental”, y aún cuando la información fue aparentemente ignorada, puede interferir en nuestros posteriores aprendizajes; un ejemplo de ello es la *inhibición latente*, fenómeno caracterizado por una disminución o retardo en el condicionamiento de un estímulo que fue previamente presentado sin consecuencias. Se ha investigado el papel de varias estructuras cerebrales en estos procesos; sin embargo, poca atención se ha prestado a la corteza insular, área que por sus conexiones resulta muy proclive a intervenir en el aprendizaje y la memoria. El objetivo del presente estudio fue determinar la participación del sistema noradrenérgico (cuya intervención en memorias no emotivas ha sido comprobada pero poco estudiada) a través de sus receptores beta en la corteza insular durante la formación de la memoria incidental de contexto, utilizando para ello el paradigma de la inhibición latente de la evitación inhibitoria. El antagonista beta-adrenérgico, propranolol, fue inyectado bilateralmente en la corteza insular de ratas macho Sprague-Dawley, quince minutos antes o inmediatamente después de la pre-exposición al contexto (compartimento oscuro de la caja de evitación). Los resultados muestran que los receptores beta-adrenérgicos en la corteza insular tienen una función diferencial durante la formación de la memoria del contexto, siendo necesarios para la inhibición latente de la evitación inhibitoria. Esto sugiere que la integridad de estos receptores es requerida durante la codificación incidental, siendo particularmente importante cuando el estímulo es posteriormente asociado con un evento aversivo.

## **SUMMARY**

People is continuously acquiring information about the world; a lot of this information is acquired and retained almost without being aware about it or without any purpose of remember it. This kind of learning is called “incidental”, and although the information was apparently ignored, it interferes with subsequent learning experiences; that is the case of a phenomenon called latent inhibition. Latent inhibition refers to a retarded or diminished conditioning to stimuli following their non-reinforced pre-exposure. The aim of this research was to contribute to the knowledge of the cerebral structures and neurotransmitter systems that participate in this process. The main goal was specifically to determine the role of the noradrenergic system in the insular cortex (structure which has several interesting connections, i.e. with the limbic system, the “reward” circuit and with all of the sensory modalities) in the latent inhibition of the inhibitory avoidance paradigm. The beta-adrenergic antagonist, propranolol, was injected bilaterally in the insular cortex of male Sprague-Dawley rats 15 minutes before or immediately after the pre-exposure to the context (dark compartment of the inhibitory avoidance cage). The results show that the noradrenergic activity through its beta receptors in the insular cortex plays a role during the incidental context memory formation and is necessary for the latent inhibition of the inhibitory avoidance. This suggests a function of these receptors during the encoding of the pre-exposure incidental phase, which is particularly important when the stimulus is subsequently associated with aversive consequences.

## AGRADECIMIENTOS

A Dios todopoderoso, infinitamente bueno y fiel.

- ☞ A la familia. A las amistades.
  
- ☞ Al comité de la entrevista de ingreso (Dr. Ataúlfo Martínez, Dra. Sofía Díaz, Dr. Rogelio Arellano, Dra. Maricela Luna y Dr. Víctor Ramírez), por dejarme entrar a este muy hermoso mundo del INB. A mi laboratorio de dos semanas.
  
- ☞ A la Dra. Isabel Miranda, con mucho aprecio: por ser una gran investigadora, hablar con tanto entusiasmo de la memoria, por aceptarme en su laboratorio, por enseñarme, por su paciencia, confianza, (y por..., y por...).
  
- ☞ A la Dra. Carmen Aceves, Dr. Roberto Prado, Dra. Sara Cruz, Dr. Manuel Salas y Dra. Verónica Rodríguez (miembros de mi comité tutorial y jurado), por ser siempre unas finísimas personas y por sus valiosas y amables correcciones, sugerencias y comentarios  
(y por los jitomatazos, rechiflas... –no, no es cierto).
  
- ☞ A Mireya Romero Hernández, Técnico Académico del laboratorio. Muchas gracias por consentirnos con todo lo que te pedimos y por todos los consejos, reparaciones y apoyo.
  
- ☞ A Alejandro Rangel, Auxiliar del laboratorio. Siempre muy servicial y eficiente.
  
- ☞ A todos los investigadores-profesores, por la alta calidad de sus clases. Muchas gracias a la Dra. Vero Rodríguez, con cariño, tanta lata con mis dudas.
  
- ☞ Al querido labo: Lili, Mireyín-Mireyín, Nadia, Gaby, Julián, Joko, Iris, Samairín, Ale, Caynas, Luis, Lupita, Erika, Lis, Belén, Frank, Dafne, Doña Cipri y ambas Blanquitas.
  
- ☞ A las Dras. Thalías, con mucho respeto y cariño, por su confianza y por tratar de hacernos mejores gentes.

- ☞ Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología: proyectos *C54524*, *46161M*, *41754Q*. Becaria No. 209094. Al gobierno y los contribuyentes, por permitirme dedicarme por completo a esto durante este tiempo.
  
- ☞ Al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Proyecto *IN201308*.
  
- ☞ A la M. en C. Leonor Casanova Rico, de la Unidad de Enseñanza. Muchas gracias por recibimos siempre (literalmente siempre) con amabilidad, disposición y eficiencia incomparables, también gracias por tu paciencia y dulces; por ser un ejemplo de virtudes.
  
- ☞ A *Yola*, Magda y Carmelita, muchas gracias por todas sus atenciones y por el enorme apoyo en tantos trámites y trámites. Disculpen todas las latas.
  
- ☞ A todo el personal administrativo. A todo el personal de intendencia.
  
- ☞ Al personal de la biblioteca: Pilar Galarza, Ignacio Caballero, Rafael Silva, Román Pacheco, Ángel Salazar, Crisa, Tere y Teresita.
  
- ☞ Al personal del bioterio: M.V.Z. Martín García Servín, Sr. Luis Huitrón y aliados.
  
- ☞ A la Unidad de Videoconferencia: Lic. Lourdes Lara Ayala.



- ☞ Y gracias también a mis ratillas hermosos (por padecer todo lo acontecido en esta investigación).

“Has it ever struck you... that life is all memory,  
except for the one present moment that goes by  
you so quickly you hardly catch it going?  
It's really all memory... except for each passing moment.”

Tennessee Williams, *The Milk Train Doesn't Stop Here Anymore* (1963),  
citado en E. Kandel, *In Search of Memory* (New York: W. W. Norton & Company, 2006. Pág.281).



# ÍNDICE

**RESUMEN.....**

**SUMMARY.....**

**AGRADECIMIENTOS.....**

**1. INTRODUCCIÓN.....**

**2. ANTECEDENTES.....**

2.1. LA MEMORIA.- DEFINICIÓN.....

2.2. HISTORIA Y CLASIFICACIÓN DE LA MEMORIA.....

2.3. LA MEMORIA INCIDENTAL.....

2.4. TEORÍAS DE LA INHIBICIÓN LATENTE.....

2.5. MODELOS DE ESTUDIO.....

2.6. ESTRUCTURAS CEREBRALES PARTICIPANTES EN LA TAREA DE  
EVITACIÓN INHIBITORIA Y EN LA INHIBICIÓN LATENTE.....

2.7. ANATOMÍA FUNCIONAL DE LA CORTEZA INSULAR.....

2.8. SISTEMAS DE NEUROTRANSMISORES IMPLICADOS EN LA TAREA DE  
EVITACIÓN INHIBITORIA Y EN LA INHIBICIÓN LATENTE.....

2.9. LA NORADRENALINA: METABOLISMO Y DISTRIBUCIÓN.....

2.10. RECEPTORES ADRENÉRGICOS.....

2.11. FUNCIONES DE LA NORADRENALINA CEREBRAL.....

**3. JUSTIFICACIÓN.....**

**4. HIPÓTESIS.....**

## 5. OBJETIVOS.....

- 5.1. GENERAL.....
- 5.2. ESPECÍFICOS.....

## 6. SUJETOS, MATERIAL Y MÉTODOS.....

- 6.1. SUJETOS EXPERIMENTALES.....
- 6.2. CIRUGÍA.....
- 6.3. DESCRIPCIÓN DEL CUARTO DE EXPERIMENTACIÓN.....
- 6.4. DESCRIPCIÓN DEL EQUIPO DE EVITACIÓN INHIBITORIA.....
- 6.5. PROCEDIMIENTO.....
  - 6.5.1. HABITUACIÓN AL CUARTO DE EVITACIÓN INHIBITORIA.....
  - 6.5.2. HABITUACIÓN AL LADO CLARO DE LA CÁMARA DE EVITACIÓN INHIBITORIA.....
  - 6.5.3. PRE-EXPOSICIÓN AL LADO OSCURO DE LA CÁMARA DE EVITACIÓN INHIBITORIA.....
  - 6.5.4. ENTRENAMIENTO DE LA EVITACIÓN INHIBITORIA.....
  - 6.5.5. PRUEBA DE RETENCIÓN DE LA EVITACIÓN INHIBITORIA.....
- 6.6. PERFUSIÓN.....
- 6.7. HISTOLOGÍA.....
- 6.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....

## 7. RESULTADOS.....

- 7.1. BLOQUEO DE LOS RECEPTORES BETA-ADRENÉRGICOS *ANTES* DE LA PRE-EXPOSICIÓN AL CONTEXTO.....

7.1.1.	LATENCIAS DE ENTRADA EN EL DÍA DE LA PRE-EXPOSICIÓN	
7.1.2.	LATENCIAS DE ENTRADA EN EL DÍA DEL ENTRENAMIENTO DE EVITACIÓN INHIBITORIA.....	
7.1.3.	INTENSIDAD DE LA REACCIÓN CONDUCTUAL.....	
7.1.4.	LATENCIAS DE ENTRADA EN EL DÍA DE LA PRUEBA DE RETENCIÓN.....	
7.2.	BLOQUEO DE LOS RECEPTORES BETA-ADRENÉRGICOS <i>INMEDIATAMENTE DESPUÉS</i> DE LA PRE-EXPOSICIÓN AL CONTEXTO....	
7.2.1.	LATENCIAS DE ENTRADA EN EL DÍA DE LA PRE-EXPOSICIÓN.....	
7.2.2.	LATENCIAS DE ENTRADA EN EL DÍA DEL ENTRENAMIENTO DE EVITACIÓN INHIBITORIA.....	
7.2.3.	INTENSIDAD DE LA REACCIÓN CONDUCTUAL.....	
7.2.4.	LATENCIAS DE ENTRADA EN EL DÍA DE LA PRUEBA DE RETENCIÓN.....	
<b>8.</b>	<b>DISCUSIÓN.....</b>	
<b>9.</b>	<b>CONCLUSIONES.....</b>	
<b>10.</b>	<b>REFERENCIAS.....</b>	
	<b>ÍNDICE DE FIGURAS.....</b>	
	<b>ÍNDICE DE TABLAS.....</b>	
	<b>APÉNDICE 1. TINCIÓN DE VIOLETA DE CRESILO.....</b>	

## 1. INTRODUCCIÓN

El estudio de la memoria ha sido abordado por varias disciplinas: la Filosofía, la Psicología, la Neurobiología. ¿Qué le hace tan atractiva? Bueno, pues es cuestión tan sólo de imaginar a un ser humano carente *de toda memoria*: que no recuerde quiénes son las personas con las que convive, ni cómo realizar su trabajo, ni las actividades cotidianas necesarias para el mantenimiento de su persona y que ni siquiera se reconozca a sí mismo como parte de un contexto.

Las personas vivimos continuamente recibiendo información del mundo y creando una especie de representaciones mentales sin que nos demos cuenta, o sin que pongamos propósito en recordarlo; simplemente un día sabemos que ya hemos visto antes la cara de alguien o que ya hemos estado en un lugar. Éstas son memorias “incidentales”, es decir, se adquirieron y almacenaron conocimientos sin advertirlo. Sin embargo, esta información que en un momento fue aparentemente ignorada, puede interferir con las posteriores experiencias de aprendizaje que tengamos con ella; tal es el caso de la *inhibición latente*, fenómeno que se refiere al retardo o disminución en la asociación de un estímulo que fue previamente presentado sin consecuencias. La inhibición latente, junto con la memoria incidental, conforma el eje de este trabajo. En la búsqueda de las estructuras cerebrales y de los sistemas de neurotransmisores que están participando en estos procesos, en la presente investigación se decidió utilizar el modelo de la evitación inhibitoria, haciendo uso de la rata como sujeto de experimentación. En la evitación inhibitoria, si se agrega una pre-exposición al contexto, se tiene la oportunidad de medir tanto la memoria incidental como la subsecuente inhibición latente en la prueba. La corteza insular fue elegida para este estudio por ser un área que, debido a sus conexiones con el sistema límbico, el circuito de “recompensa” y las diferentes modalidades sensoriales, es llamativamente proclive a intervenir en procesos de aprendizaje y memoria; además, ya se ha comprobado específicamente su participación en la tarea de evitación inhibitoria tradicional. Respecto a los neurotransmisores, fue de interés trabajar con el sistema noradrenérgico, que ha sobresalido en la literatura mayoritariamente por estar involucrado en memorias con algún contenido emotivo, pero cuya participación en memorias de tipo incidental se conoce poco.

La inhibición latente de la evitación inhibitoria consta básicamente de tres etapas: 1) una pre-exposición al contexto (lado oscuro) sin consecuencias, 2) una segunda exposición al contexto, en la que puede compararse la latencia de entrada al lado oscuro con la del día anterior, sirviendo como indicativo de la memoria incidental formada por las ratas que fueron pre-expuestas. En esta segunda etapa se lleva a cabo el condicionamiento del contexto con un choque eléctrico de intensidad moderada; y por último, 3) la prueba de retención, donde la latencia de entrada al compartimento oscuro se interpreta como un índice de la memoria de la asociación contexto-choque eléctrico formada en la etapa anterior. Es aquí donde también puede observarse la inhibición latente en los animales que fueron pre-expuestos.

La inyección en la corteza insular del antagonista beta-adrenérgico, propranolol, ya sea 15 minutos antes o inmediatamente después de la pre-exposición al contexto, permite determinar la participación del sistema noradrenérgico en la adquisición y en la consolidación, respectivamente, de la memoria incidental y sus efectos en la formación de la inhibición latente.

Los resultados obtenidos en el presente estudio contribuyen al conocimiento neurobiológico de los aprendizajes de tipo incidental, los cuales constituyen una gran parte de nuestras experiencias.

## **2. ANTECEDENTES**

Para el ser humano, las experiencias pasadas y los recuerdos que se tienen de ellas determinan en gran medida su presente. Su razonamiento, habilidades, la manera en que se conduce ante determinadas situaciones, las relaciones interpersonales y aún hasta sus gustos y temores se encuentran influenciados por las vivencias previas. ¿Qué sería de una persona si no recordara nada de su pasado?

Razones sobran pues, para dedicarse a estudiar cómo es que se almacenan todas estas experiencias y tratar de averiguar si existe un sustrato anatómico específico para ello.

### **2.1. LA MEMORIA.- DEFINICIÓN**

La memoria contiene las representaciones internas de nuestras experiencias, es por definición, el proceso por el cual la información derivada de una experiencia, persiste a través del tiempo. Este proceso comprende varias fases: 1) *Adquisición*.- el proceso por el cual la información nueva es traducida y representada (codificada) en el sistema nervioso, 2) *Consolidación*.- son los procesos por los cuales la información se almacena gradualmente de manera más estable. Sin embargo, la memoria de estas experiencias es aún lábil durante este tiempo, y 3) *Evocación*.- es la recuperación y el uso de la información almacenada (Kandel, Schwartz y Jessell, 2001; Squire y Kandel, 2000; Vidales, Leal y Vidales, 2004).

### **2.2. HISTORIA Y CLASIFICACIÓN DE LA MEMORIA**

El tema de la memoria ha sido abordado desde diferentes perspectivas por disciplinas como: la Filosofía, la Psicología y, más recientemente, la Biología. Filósofos como Aristóteles (s. IV a.C.) y René Descartes (s. XVII d.C.) dejaron reflexiones acerca de esta facultad mental; el primero consideraba que esta capacidad residía en el corazón del hombre y el segundo la relacionó con la actividad del cerebro y la glándula pineal (Dudai, 1991).

El análisis filosófico fue reemplazado gradualmente por los estudios empíricos de la mente realizados en el campo de la Psicología; y es hasta finales del siglo XIX que el psicólogo Hermann Ebbinghaus marca la transición al implementar un método objetivo, cuantitativo y estandarizado para el estudio de la memoria, sometiéndola finalmente a la comprobación rigurosa en el laboratorio.

Basándose en los estudios de Ebbinghaus, el filósofo William James formuló la primera clasificación de la memoria, definiendo dos categorías: la *memoria primaria* (posteriormente llamada de *corto plazo*), que es aquella que no es necesario evocar porque en realidad nunca ha abandonado el curso principal del pensamiento, siendo esencialmente una extensión del momento presente; y la *memoria secundaria* (o de *largo plazo*), la que puede recuperarse a voluntad trayéndola conscientemente del pasado cuando se necesite (Bermudez-Rattoni y Prado-Alcalá, 2001; Squire y Kandel, 2000).

Posteriores al trabajo de James, existen escritos de personas como el filósofo Henri Bergson y el psicólogo William McDougall, en los que se postulan otras clasificaciones de la memoria (Squire y Kandel, 2000); sin embargo, el hecho más trascendente ocurre en 1957, cuando el neurocirujano William Scoville y la psicóloga Brenda Milner reportan el caso extraordinario de un paciente -conocido por sus iniciales como H.M.- al que se le había practicado una extirpación del lóbulo temporal cuatro años atrás. La cirugía fue aparentemente un éxito en cuanto al alivio de la epilepsia que padecía el individuo pero había afectado significativamente su memoria: aún cuando el paciente era capaz de recordar bien los eventos de su niñez, tenía incapacidad para recordar acontecimientos ocurridos en los años precedentes a la operación; así como también ahora era incapaz de formar nuevas memorias de los eventos, los lugares y la gente conocida después de la cirugía. Pero H.M. conservó su capacidad para formar memorias de corto plazo (Siegel, Albers, Brady y Price, 2006). También su memoria para ciertas habilidades perceptuales-motoras quedó intacta; por ejemplo, H.M. aprendió una tarea que consistía en repintar el contorno de una estrella vista a través de un espejo y con cada sesión de práctica, mejoraba su desempeño. Sin embargo, lo más llamativo era que antes de cada sesión había que explicarle en qué consistía la prueba, ya que él afirmaba que jamás la había realizado (Bermudez-Rattoni y Prado-Alcalá, 2001).

A partir de las observaciones realizadas en H.M. y en otros pacientes con amnesia, surgió una nueva clasificación de la memoria, la cual la divide en dos grandes clases: la de procedimiento y la declarativa.

*Memoria de procedimiento (no declarativa o implícita).*- Comprende la percepción, las habilidades motoras, las operaciones mentales y el denominado “priming” (término que se refiere al incremento en la habilidad para detectar o identificar un estímulo, debido al procesamiento reciente de dicho estímulo). No es dependiente de la integridad estructural del lóbulo temporal. Su evocación no requiere la participación consciente. Hasta la fecha, no se encuentra del todo claro las estructuras cerebrales que participan en la codificación de este tipo de memoria; sin embargo, estudios en animales sugieren que el estriado (término con el que colectivamente se denomina al núcleo caudado y al putamen) pudiera estar involucrado. 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; Siegel et al., 2006; Squire y Kandel, 2000).

*Memoria declarativa (también llamada explícita).*- Es aquella utilizada para el conocimiento de los lugares, los eventos, la gente. Es dependiente del lóbulo temporal. Su evocación requiere un esfuerzo consciente y deliberado, es flexible y se forma con la asociación de múltiples fragmentos y trozos de información. Puede subdividirse a su vez en dos clases: memoria episódica (que contiene información sobre el qué, dónde y cuándo de los eventos, refiriéndose particularmente a las experiencias personales) y memoria semántica -son los conocimientos que no son atribuibles a alguna ocasión particular en la vida; da lugar a los conceptos y al conocimiento enciclopédico- (Bermudez-Rattoni y Prado-Alcalá, 2001; Kandel et al., 2001; Siegel et al., 2006). Es probable que en la mayoría de las memorias declarativas ocurra la asociación del hecho aprendido con algún contexto (situación o lugar) relacionado con el mismo; ya que uno de los propósitos de la memoria declarativa es el representar objetos y eventos del mundo externo y encontrar las relaciones entre ellos (Squire y Kandel, 2000).



### **2.3. LA MEMORIA INCIDENTAL**

Para la adquisición de la información que forma parte de nuestra memoria puede en ocasiones requerirse de cierta atención y esfuerzo. Tal es el caso de recordar los nombres de un conjunto de personas que acabamos de conocer o retener los detalles importantes de algún artículo leído. Sin embargo, existe también gran cantidad de información que es adquirida de manera “automática”, esto es, con poco o ningún esfuerzo por retenerla, aparentemente sin prestarle atención y también aparentemente sin interferir en nuestro pensamiento acerca de otras cosas. Esto ocurre a menudo con características tales como el espacio, el tiempo y la frecuencia (Myers, 2001). Por ejemplo: durante un examen, en ocasiones podemos recordar justo el lugar del libro de texto donde aparece la información olvidada. Nos damos cuenta de que en una misma tarde hemos visto tres veces a la misma persona. Manejamos o caminamos por la misma ruta cada día sin proponernos recordar todos los comercios, parques, bancos y paradas de autobús que hay en el camino; pero cuando lo llegamos a necesitar, sabemos dónde encontrarlos.

El ser humano está continuamente adquiriendo información que parece no estar asociada con algún evento notable, esto es, se encuentra atendiendo *incidentalmente* a los estímulos sensoriales (el término “incidental” significa la ausencia de una situación instructiva identificable). Probablemente, el aprendizaje y la memoria de estos eventos ocurra solamente por tener alguna importancia potencial y generalmente sus consecuencias conductuales son latentes (Dudai, 1991).

Hasta donde se sabe, no existe alguna clasificación de la memoria en la que explícitamente se incluya a la memoria incidental en una u otra categoría; sin embargo, en el presente trabajo se sugiere que la memoria incidental, en su modalidad de contexto, podría incluirse en la declarativa episódica, puesto que se trata de información referente a lugares, eventos o gente; a un contexto en el que ocurre un evento no instructivo o relevante o a un contexto en el que no se tiene consecuencia alguna particular. Así mismo, se ha encontrado que estructuras del lóbulo temporal, como el hipocampo (Roesler et al., 2005) y la amígdala (Miranda,

Rodríguez-García, Reyes-López, Ferry y Ferreira, 2008), se encuentran involucradas en su formación.

Uno de los pioneros en investigar este tipo de conductas fue Edward C. Tolman (1886-1959), quien a través de sus trabajos experimentales en ratas, demostró el aprendizaje latente y propuso que los animales llevaban a cabo la formación de mapas cognoscitivos aún cuando fueran o no recompensados con alimento (Myers, 2001). Sostenía que el aprendizaje está almacenado de algún modo, y sólo en el momento necesario los sujetos lo demuestran, realizando tareas nunca antes practicadas para resolver problemas cuando las condiciones lo requieren (García, 2005).

La información guardada inadvertidamente puede interferir en posteriores aprendizajes; por ejemplo: la exposición a un estímulo que no es seguido de consecuencia alguna puede retardar o disminuir la respuesta en su posterior condicionamiento. A este fenómeno se le conoce como “inhibición latente” (Gal et al., 2005; Zalstein-Orda y Lubow, 1995) y su estudio ha sido de gran interés tanto desde el punto de vista teórico como del clínico. En el aspecto teórico, resulta importante porque implica una forma de aprendizaje que tiene lugar durante la presentación de un estímulo neutral y puede modificar el aprendizaje de experiencias subsecuentes. Por otra parte, desde el punto de vista clínico, ha sido utilizada en el área de la psiquiatría como modelo neuro-psicológico para evaluar una de las disfunciones más citadas en los pacientes con esquizofrenia: el déficit de atención selectiva, considerado también como falta de capacidad para ignorar estímulos irrelevantes (Gal et al., 2005). Las aproximaciones hacia el entendimiento de este fenómeno a nivel conductual se mencionan en la siguiente sección.

## 2.4. TEORÍAS DE LA INHIBICIÓN LATENTE

La inhibición latente, definida como el retardo o la disminución en el aprendizaje de un estímulo que ha sido previamente presentado sin consecuencias (Lubow y De la Casa, 2002), tiene cuatro explicaciones posibles, según Robbins, Muir, Killcross y Pretsell (1993); éstas son:

- ✧ **Habitación.** Considera a la inhibición latente como un tipo específico de habitación, esto es, una disminución de la respuesta hacia un estímulo repetido a medida que éste pierde su novedad y que no es el resultado de la fatiga o de la adaptación sensorial (Robbins et al., 1993). Para algunos autores, esto refleja un decaimiento adaptativo de la atención hacia el estímulo y sirve para desvalorizar los estímulos irrelevantes previos (Lubow y De la Casa, 2002).
- ✧ **Interferencia.** La inhibición latente podría resultar de la interferencia proactiva, en la cual la asociación previa con la ausencia de consecuencia interfiere con la formación de una nueva asociación del mismo estímulo con el reforzador (Robbins et al., 1993).
- ✧ **Estatus predictivo.** La inhibición latente expresaría el hecho de que un estímulo pre-expuesto difiere de uno novedoso en su capacidad para predecir un evento subsecuente (Robbins et al., 1993).
- ✧ **Generalización.** Ésta se refiere a las situaciones en las que un individuo que ha aprendido a responder a un estímulo en particular, despliega la misma respuesta ante otro estímulo similar (Dudai, 2002). En la pre-exposición a un estímulo, éste se representa como parte del contexto de condicionamiento; de este modo, cuando el estímulo pre-expuesto es subsecuentemente pareado con un reforzador, su relevancia individual es baja, de tal manera que no permite tener una representación lo suficientemente discreta o puntual del patrón de actividad producido ante ese estímulo y por lo tanto el condicionamiento se retarda (Robbins et al., 1993).

## 2.5. MODELOS DE ESTUDIO

Para analizar la memoria incidental (y en general, cualquier otro tipo de memoria) y la inhibición latente, podría estudiarse el cerebro como una “caja negra”, dándole tareas a realizar y observando los resultados, y de éste modo poder tener cierta información de sus propiedades y de la magnitud de su desempeño, pero no se podría explicar la organización de los sistemas neuronales ni su funcionamiento. Para eso, es preciso disecar el cerebro; razón por la cual el ser humano no sería un sujeto conveniente de experimentación (Dudai, 1991). Así pues, se requieren modelos animales.

El estudio de la memoria incidental puede llevarse a cabo en roedores a través de paradigmas de inhibición latente de diversos condicionamientos, tales como el de la aversión al sabor o el de la evitación inhibitoria.

En una de las versiones de la evitación inhibitoria, el roedor aprende a reprimir su tendencia natural a preferir los lugares oscuros más que los iluminados. La caja de evitación inhibitoria consiste en dos compartimentos, uno iluminado y otro oscuro separados por una compuerta (ver Figura 1). En un entrenamiento tradicional, el animal es colocado en el lado claro de la caja, se abre la compuerta y se mide el tiempo (denominado *latencia de entrada*) que tarda el roedor en pasar al lado oscuro; una vez ahí, se cierra la compuerta y se le aplica un choque eléctrico a través del piso del compartimento. Se retira el animal de la caja y cierto tiempo después (por ejemplo, un día o dos), se hace la prueba de retención, la cual consiste en colocar al roedor en el lado claro, abrir la compuerta y medir nuevamente la latencia de entrada al lado oscuro; esta latencia refleja la memoria que guarda el animal acerca del contexto y su asociación con el estímulo aversivo (Sweatt, 2003).



**Figura 1.** Esquema de la caja de evitación inhibitoria, y del sujeto experimental, en su modalidad “step through” (*paso a través de*).

Estudios recientes (Malin y McGaugh, 2006; Miranda y Bermudez-Rattoni, 2007; Roesler et al., 2005) indican que, si se expone previamente al animal al lado oscuro de la cámara sin darle ningún choque antes del entrenamiento, es posible disociar la tarea de evitación inhibitoria en dos componentes: la familiarización con el contexto (lado oscuro) y la asociación del contexto con el estímulo aversivo (choque eléctrico).

La familiarización con el contexto resulta de la memoria que el animal haya formado durante la pre-exposición, y decimos que esta memoria es incidental porque el contexto no es asociado en primera instancia con instrucción alguna en particular.

La pre-exposición provoca también el efecto de inhibición latente, esto es, afecta el posterior condicionamiento que se hace del contexto con el estímulo aversivo, haciendo que la respuesta condicionada disminuya. Esto es observable en el día de la prueba de retención: los animales pre-expuestos tienen latencias de entrada menores que los animales control (no pre-expuestos).

## **2.6. ESTRUCTURAS CEREBRALES PARTICIPANTES EN LA TAREA DE EVITACIÓN INHIBITORIA Y EN LA INHIBICIÓN LATENTE**

Numerosos estudios sugieren que no existe un centro único de memoria en el cerebro sino que ésta se encuentra codificada a lo largo de muchas vías por un grupo de circuitos específicos (Squire y Kandel, 2000). También se ha sugerido que, en condiciones incrementadas de aprendizaje, las estructuras cerebrales se conectan *en paralelo*, de modo tal que, aún cuando una de ellas se encuentre inactiva, basta con que algunas de las restantes funcionen normalmente para que se lleve a cabo el proceso de consolidación de la memoria (Bermudez-Rattoni y Prado-Alcalá, 2001).

Para la tarea de evitación inhibitoria, aún se desconoce el circuito del almacenamiento de la información, debido a que se trata de un conjunto complejo de asociaciones; sin embargo, se ha comprobado ya la participación de varias estructuras cerebrales, entre ellas: el hipocampo (Izquierdo et al., 1992), el estriado (Pérez-Ruiz y Prado-Alcalá, 1989), la sustancia negra compacta (Cobos-Zapiain et al., 1996), el núcleo basal magnocelular (López-García, Fernández-Ruiz, Escobar, Bermudez-Rattoni y Tapia, 1993), la amígdala (Bermudez-Rattoni y McGaugh, 1991) y la corteza insular (Bermudez-Rattoni, Introini-Collison y McGaugh JL, 1991; Miranda y McGaugh, 2004).

La corteza insular, particularmente a través de su sistema colinérgico, ha sido implicada también en la formación de la memoria incidental que da lugar a la inhibición latente de la evitación inhibitoria (Miranda y Bermudez-Rattoni, 2007). Otras estructuras relacionadas con efectos de inhibición latente en distintos paradigmas de aprendizaje son: el núcleo accumbens (Young, Joseph y Gray, 1993), el complejo amigdalóide (Molodtsova, 2003; Schiller y Weiner, 2004, 2005), la corteza orbitofrontal (Schiller y Weiner, 2004), la corteza entorrinal (Coutureau, Galani, Gosselin, Majchrzak y Di Scala, 1999) y el estriado (Molodtsova, 2003).

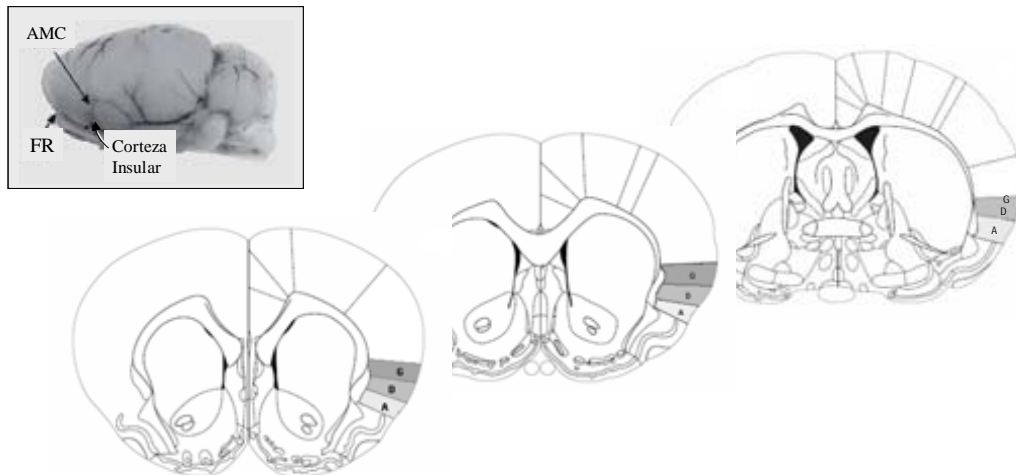
La intervención de la corteza insular en la tarea de evitación inhibitoria y su inhibición latente es un caso llamativo, ya que anteriormente se hacía referencia a ella casi sólo por su papel en el procesamiento de la información visceral y gustativa (Bures, Bermudez-Rattoni y

Yamamoto, 1998; Yamamoto, Azuma y Kawamura, 1984) y es recientemente cuando se han encontrado evidencias de su participación en otro tipo de memorias tales como el reconocimiento de objetos (Bermudez-Rattoni, Okuda, Roozendaal y McGaugh, 2005) y en el aprendizaje del laberinto acuático (Bermudez-Rattoni et al., 1991). En la siguiente sección se describirán algunos aspectos anatómicos y funcionales importantes de la corteza insular.

## **2.7. ANATOMÍA FUNCIONAL DE LA CORTEZA INSULAR**

La corteza insular de la rata se encuentra localizada en el surco rinal, y se define como el área que se extiende desde la corteza frontal lateral hasta la corteza perirrinal en dirección rostro-caudal y desde el borde de la corteza somatomotora hasta la corteza piriforme en dirección dorso-ventral (Paxinos, 1995). Ver Figura 2.

Al igual que en otras especies, la corteza insular de la rata es un área heterogénea constituida por varias regiones con distintas características citoarquitectónicas y de conexión. La región anterior de la corteza insular es principalmente agranular, y se subdivide en los componentes dorsal y ventral. La región posterior ya ha desarrollado partes disgranulares y granulares en su parte dorsal. Caudalmente, las áreas granulares desaparecen y la corteza insular agranular se mezcla imperceptiblemente con la corteza perirrinal (Paxinos, 1995; Shi y Cassell, 1998).



**Figura 2.** Diagramas coronales del cerebro de rata en coordenadas antero-posteriores +1.7 mm, +1.00 y -0.40 mm, respectivamente, con respecto a Bregma (modificado del atlas de Paxinos y Watson, 1998). El área sombreada corresponde a la corteza insular, con sus porciones (G) granular, (D) disgranular y (A) agranular en dirección dorso-ventral. Recuadro: Fotografía lateral de un cerebro de rata en el que se indica la localización de la corteza insular, tomando como referencias anatómicas la arteria media cerebral (AMC) y la fisura rinal (FR). (Modificada de: Sato et al., 2008).

El área insular agranular se caracteriza por tener tres estratos celulares agranulares, una capa de fibras mielinizadas y un alto nivel de acetilcolinesterasa (AChE) intracortical. En el área disgranular aparece la capa granular 4 y una gradual diferenciación de la capa 2, la mielina cortical es baja y se sitúa mayoritariamente en las capas profundas; el nivel de AChE es menor que en el área agranular. El área granular contiene las capas granulares 4 y 2, mayor cantidad de mielina cortical y una muy baja densidad de AChE (Mesulam y Mufson, 1982).

La corteza insular tiene conexiones recíprocas con el área somatosensorial secundaria, el núcleo del tracto solitario, el núcleo parabraquial, el tálamo y la amígdala. Recibe también aferentes que provienen del *locus coeruleus* y tiene eferentes que proyectan hacia el estriado, el núcleo accumbens, el claustró, el presubiculum y las cortezas prefrontal, perirrinal, entorrinal y piriforme (Bures et al., 1998; Friedman et al., 1986; Paxinos, 1995; Saper, 1982; Wright y Groenewegen, 1996). En la Tabla 1 se enlistan algunas de las principales aferentes y



eferentes de la corteza insular de la rata, determinadas mediante los métodos de trazado anterógrado y retrógrado (Saper, 1982).

**Tabla 1.** Principales proyecciones aferentes y eferentes de la corteza insular

<b>Aferentes</b>	<b>Eferentes</b>
Núcleo lateral y basolateral de la amígdala	Núcleo central de la amígdala
Núcleo basal magnocelular	Estriado
Núcleo centromedial del tálamo	Claustro
Núcleos tuberomamilares del hipotálamo, bilaterales	Parte lateral del núcleo del lecho de la estría terminal
Área ventral tegmental	Núcleo accumbens
Núcleos del rafé	Presubiculum
<i>Locus coeruleus</i> , bilateral	Corteza entorrinal
<b>Recíprocas</b>	
Corteza frontal lateral, piriforme y perirrinal ipsilaterales	
Corteza insular contralateral	
Corteza somatosensorial secundaria	
Núcleos mediodorsal y ventroposteromedial del tálamo	
Área posterior lateral del hipotálamo	
Núcleo parabraquial, bilateral	
Núcleo del tracto solitario	

Existen también interconexiones entre las diferentes áreas de la corteza insular: la parte granular proyecta hacia la parte disgranular subyacente. La corteza disgranular, a su vez, proyecta hacia las áreas agranular y granular.

La corteza agranular posterior tiene eferentes hacia el área agranular anterior y hacia las áreas granular y disgranular posteriores. Las áreas granular y disgranular posteriores proyectan hacia la disgranular anterior (Shi y Cassell, 1998).

Estudios anatómicos y electrofisiológicos indican que la corteza insular disgranular posterior está muy relacionada con la modalidad gustativa, mientras que la granular se ha involucrado más con la sensibilidad visceral (Shi y Cassell, 1998).

Por su parte, la corteza insular agranular (también denominada corteza visceral) ha mostrado un gran traslape de células que proyectan hacia el tallo cerebral, el tálamo y la corteza de asociación, razón por la cual se sugiere que esté involucrada en la integración eficiente de estímulos sensoriales viscerales específicos que estén correlacionados con consecuencias de carácter límbico o motivacional (Krushel y Van der Kooy, 1988).

Entre los neurotransmisores presentes en la corteza insular se encuentran: el glutamato (principal neurotransmisor eferente de la corteza cerebral), el GABA (ácido gamma amino butírico, neurotransmisor inhibitorio predominante en el cerebro de los mamíferos), la acetilcolina -proveniente mayoritariamente del núcleo basal magnocelular-, la serotonina -procedente de los núcleos del rafe- y la noradrenalina -de aferentes provenientes del *locus coeruleus*- (López-García, Bermudez-Rattoni y Tapia, 1990; Mello e Souza et al., 2001; Miranda y Bermudez-Rattoni, 1999; Paxinos, 1995). Además, se ha reportado la presencia de los siguientes péptidos: encefalina (Svingos, Cheng, Clarke y Pickel, 1995), dinorfina (Evans, Bey, Burkey y Commons, 2007) y el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (Yasui, Saper y Cechetto, 1989); la función de estas sustancias en la corteza insular aún no ha sido dilucidada por completo.

Algunos de los receptores encontrados en la corteza insular son los siguientes: NMDA, no NMDA y mGluR para glutamato (Berman, Hazvi, Neduva y Dudai, 2000; Otawa, Takagi y Ogawa, 1995), el tipo A para GABA (Cameron, Huang, Nichols y Koeppe, 2007; Ogawa, Hasegawa, Otawa e Ikeda, 1998), nicotínico y muscarínicos M1, M2 y M3 para acetilcolina (Gatley et al., 1998; Ramírez-Lugo, Miranda, Escobar, Espinosa y Bermudez-Rattoni, 2003),

1A y 2A para serotonina (Palchadhuri y Flügge, 2005; Wai et al., 2008), alfa-2 y beta para noradrenalina/adrenalina (Tohyama y Takatsuji, 1998; Unnerstall, Kopajtic y Kuhar, 1984), D1, D2 y D4 para dopamina (Hurd, Suzuki y Sedvall, 2001; Kaasinen, Aalto, Nagren y Rinne, 2004; Rivera et al., 2008), H3 para histamina (Cumming y Vincent, 1993) y A1 para adenosina (Svenningsson, Hall, Sedvall y Fredholm, 1997).

A la corteza insular se le atribuye una gran diversidad de funciones, entre ellas olfacción, gusto, control visceral, procesamiento somatosensorial y nociceptivo, memoria, afecto e iniciativa (Afifi y Bergman, 2005; Sowards y Sowards, 2002). Se cree que interviene en la representación de mapas afectivos influidos por entradas sensoriales específicas, especialmente aquellas reforzadas o mediadas por situaciones aversivas (Bermudez-Rattoni y Prado-Alcalá, 2001). En este sentido, se ha encontrado que al lesionar la corteza insular se impide la formación de ciertos aprendizajes que tienen algún componente emotivo, como la evitación inhibitoria y el laberinto acuático (Bermudez-Rattoni et al., 1991). Participa también en la formación del condicionamiento de aversión al sabor (Miranda y McGaugh, 2004), en el procesamiento de estímulos visuales aversivos (Perlis et al., 2008) y de estímulos sensoriales dolorosos (Bornhövd et al., 2002; Sowards y Sowards, 2002). La corteza insular, sin embargo, también participa en la formación de memorias no emotivas, como el reconocimiento de objeto (Bermudez-Rattoni et al., 2005), la memoria incidental del sabor (Miranda et al., 2008) y la memoria incidental de contexto (Miranda y Bermudez-Rattoni, 2007).

De acuerdo a lo citado en el párrafo anterior, la corteza insular se plantea como un área interesante para el estudio de la inhibición latente; en la cual *un mismo estímulo* es primero presentado de manera incidental y posteriormente se le añade un componente aversivo para su condicionamiento, resultando en una disminución de la respuesta condicionada debida a la pre-exposición incidental.

## **2.8. SISTEMAS DE NEUROTRANSMISORES IMPLICADOS EN LA TAREA DE EVITACIÓN INHIBITORIA Y LA INHIBICIÓN LATENTE**

Muchos estudios se han hecho con el fin de conocer qué neurotransmisores están actuando en las diferentes estructuras que participan en la tarea de evitación inhibitoria. La gran mayoría de ellos ha utilizado técnicas farmacológicas, inyectando local o sistémicamente agonistas o antagonistas de los distintos neurotransmisores y observando su efecto en la conducta. Gracias a estos experimentos, se han dilucidado los siguientes hechos:

- La actividad colinérgica participa en la consolidación de la memoria de la tarea de evitación inhibitoria, pero sólo cuando la experiencia de aprendizaje se da dentro de un cierto rango de intensidades del estímulo eléctrico (Prado-Alcalá y Quirarte, 1998). Lo anterior se ha probado a través de la administración de inyecciones sistémicas de escopolamina, un antagonista de los receptores muscarínicos.
- La actividad colinérgica en el estriado desempeña un papel importante en la adquisición y en las etapas tempranas, pero esto no aplica cuando la tarea ha sido sobreentrenada (Prado-Alcalá, 1994).
- El glutamato (a través de sus receptores NMDA y AMPA) en las cortezas prefrontal y entorrinal, en el complejo amigdalino y en el hipocampo dorsal, participa en la consolidación de la memoria. Los receptores AMPA de la corteza prefrontal y de la amígdala también intervienen en la evocación de la tarea (Jerusalinsky et al., 1992; Liang, Hu y Chang, 1996).
- La actividad GABAérgica, analizada a nivel sistémico, modula la consolidación de la memoria, interactuando con el sistema beta-adrenérgico (Introini-Collison, Castellano y McGaugh, 1994). Esta participación en la consolidación se ha confirmado también al inyectar diferentes antagonistas de GABA en estructuras como la sustancia negra y el estriado (Chavez, Salado-Castillo, Sánchez-Alavez, Quirarte y Prado-Alcalá, 1995; Cobos-Zapiain et al., 1996).

- La serotonina, a través de sus receptores tipo 1A en la corteza insular agranular, modula probablemente la consolidación de la tarea (Mello e Souza et al., 2001). La actividad serotoninérgica en la formación de la memoria también ha sido demostrada en la sustancia negra y el estriado (Díaz del Guante, Rivas, Prado-Alcalá y Quirarte, 2004; Prado-Alcalá et al., 2003).
- La activación dopaminérgica a través de los receptores D1 y D2 en la amígdala basolateral modula la consolidación de la memoria; y se encuentra, a su vez, bajo la influencia de los sistemas noradrenérgico y colinérgico de la misma estructura (Lalumiere, Nguyen y McGaugh, 2004).
- La activación del sistema noradrenérgico, a través de sus receptores  $\alpha$  y  $\beta$ , en la amígdala basolateral, tiene un papel importante –quizás crítico- en la modulación de la consolidación de la memoria (McGaugh, 2004). A su vez, se cree que la activación de este sistema está también regulada por la actividad colinérgica de la amígdala (Introini-Collison, Dalmaz y McGaugh, 1996).
- El proceso de evocación se encuentra modulado simultáneamente por los sistemas dopaminérgico (D1), beta-adrenérgico, muscarínico colinérgico y serotoninérgico (5HT1A) presentes en las cortezas entorrinal, posterior parietal y anterior del cíngulo y en el área CA1 del hipocampo (Barros et al., 2001).

Cuando se modifica la tarea de evitación inhibitoria llevándola a cabo en dos días consecutivos para separar la memoria de contexto (no aversivo) de la memoria de la asociación contexto-choque eléctrico (aversivo) se han encontrado los siguientes resultados:

- Los receptores de glutamato tipo NMDA del hipocampo dorsal median la formación de la memoria al contexto de entrenamiento (Roesler et al., 2005).

- Agonistas colinérgicos administrados en el hipocampo o en la amígdala basolateral inmediatamente después del entrenamiento al contexto solo, mejoran la retención de la evitación inhibitoria (Malin y McGaugh, 2006).
- La actividad colinérgica en la corteza insular es necesaria para la adquisición, mas no para la consolidación, de la memoria de pre-exposición al contexto que da lugar a la inhibición latente de la evitación inhibitoria (Miranda y Bermudez-Rattoni, 2007).
- Altos niveles en la desaminación de la serotonina debidos a un incremento en la actividad de la monoamino oxidasa (MAO) fueron observados en el complejo amigdaloides y en el estriado justo en el momento de la prueba de retención en otro experimento de inhibición latente de la evitación inhibitoria (Molodtsova, 2003).

En diferentes paradigmas de inhibición latente también se han encontrado interesantes resultados en la búsqueda de los neurotransmisores participantes; por ejemplo:

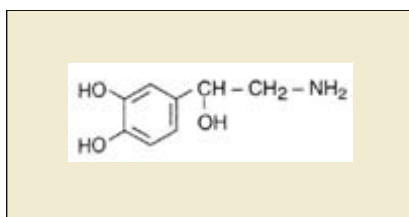
- En un estudio de condicionamiento clásico de un tono que precedía a un choque eléctrico, se cuantificó la cantidad de dopamina liberada en el núcleo accumbens durante el choque. Posteriormente, cuando el tono era presentado solo, seguía existiendo esa liberación de dopamina. Sin embargo, una pre-exposición al tono antes de ser condicionado hacía que la cantidad de dopamina liberada durante el condicionamiento disminuyera. La prueba, al presentar el tono solo, no desencadenaba ahora liberación alguna de dopamina (Young et al., 1993).
- La participación del sistema dopaminérgico del núcleo accumbens y del estriado también se ha demostrado en la inhibición latente del condicionamiento de aversión al olor (Jeanblanc, Peterschmitt, Hoeltzel y Louilot, 2004; Peterschmitt, Hoeltzel y Louilot, 2005).
- Se ha sugerido que la serotonina, a través de sus receptores 5HT1A y 5HT2A, está implicada en la inhibición latente predominantemente en la etapa de la pre-exposición, esto es, en el procesamiento de la asociación estímulo-no consecuencia (Weiner, 2003).

- El glutamato, por medio de sus receptores NMDA, también ha sido propuesto como modulador de la inhibición latente, observándose efectos de persistencia al administrar antagonistas como el MK-801 (Weiner, 2003).
- En la inhibición latente del condicionamiento de aversión a los sabores, la infusión del antagonista beta-adrenérgico propranolol en la amígdala basolateral, inmediatamente después de la pre-exposición al sabor novedoso, atenuó significativamente la inhibición latente (Miranda, LaLumiere, Buen, Bermudez-Rattoni y McGaugh, 2003); estudios posteriores (Miranda et al., 2008) demuestran que estos receptores, tanto en la amígdala basolateral como en la corteza insular son necesarios para la formación de la memoria incidental del sabor.

Resulta particularmente llamativo este hallazgo de la participación del sistema noradrenérgico en procesos incidentales, ya que mayoritariamente se le había encontrado modulando la formación de memorias con algún componente emotivo. En la presente investigación, se tuvo interés en averiguar si este sistema participa también en la formación de otro tipo de memorias incidentales, como la de contexto. Resulta conveniente, por esta razón, tener un marco teórico del metabolismo y la función de la noradrenalina en el Sistema Nervioso Central (SNC); éste se presenta en la siguiente sección.

## **2.9. LA NORADRENALINA: METABOLISMO Y DISTRIBUCIÓN**

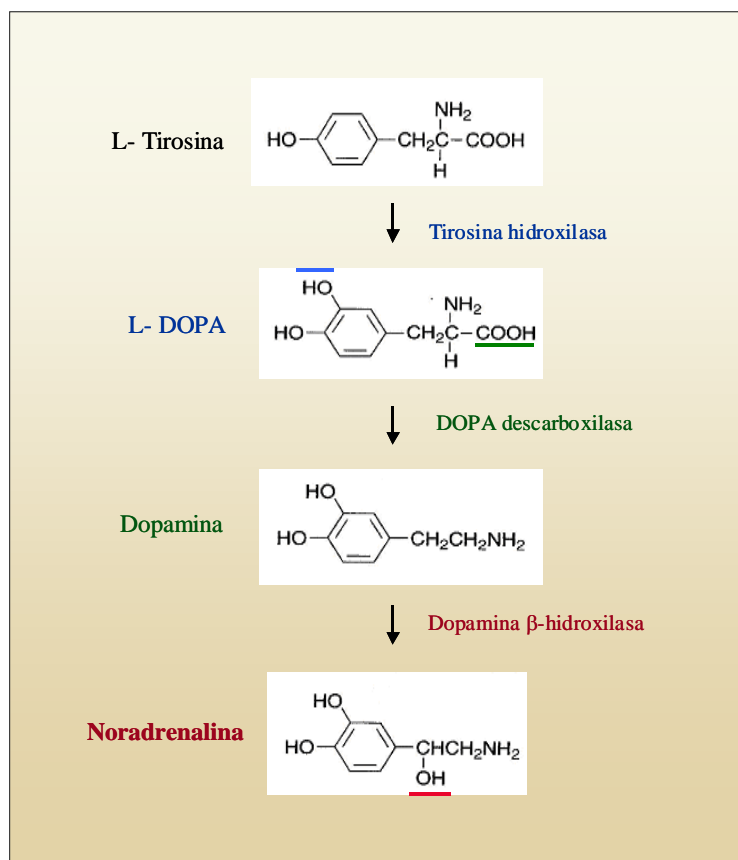
La noradrenalina pertenece al grupo de las catecolaminas, las cuales se caracterizan por tener en su estructura un grupo amino y un grupo catecol (que es un anillo bencénico 3,4 dihidroxilado). Ver Figura 3.



**Figura 3.** Estructura de la noradrenalina (3,4-dihidroxi fenil etanolamina)

Su síntesis es llevada a cabo a partir del aminoácido tirosina en una vía biosintética que consta esencialmente de tres enzimas: 1) la tirosina hidroxilasa (TH; es el factor limitante de la síntesis), 2) la DOPA descarboxilasa o descarboxilasa de aminoácidos aromáticos y 3) la dopamina  $\beta$ -hidroxilasa (DBH, ver Figura 4). Para que ocurran adecuadamente las reacciones de síntesis, es necesaria también la presencia de los siguientes compuestos: biopterina, fosfato de piridoxal y ascorbato. Es interesante notar que la noradrenalina es el único neurotransmisor cuya síntesis es terminada en las vesículas de almacén; esto se debe a que la DBH se encuentra mayoritariamente unida a la membrana vesicular interna. Una pequeña cantidad de DBH también se encuentra libre dentro de la vesícula, de modo tal que es liberada junto con la noradrenalina en la exocitosis (Siegel et al., 2006).





**Figura 4.** Ruta de síntesis de la noradrenalina. L-DOPA= L-dihidroxifenilalanina.

Los cuerpos celulares de las neuronas noradrenérgicas centrales se encuentran agrupados en núcleos bilaterales (numerados A1 a A7) situados en dos columnas, una dorsal y otra ventral, en el tallo cerebral. Ver Figura 5.

A nivel del bulbo raquídeo, la columna ventral contiene neuronas asociadas con el núcleo ambiguo (grupo A1); las de la columna dorsal forman parte del núcleo del tracto solitario y el núcleo motor dorsal del vago (grupo A2). Ambos grupos se proyectan al hipotálamo y controlan funciones cardiovasculares y endócrinas (Kandel et al., 2001).

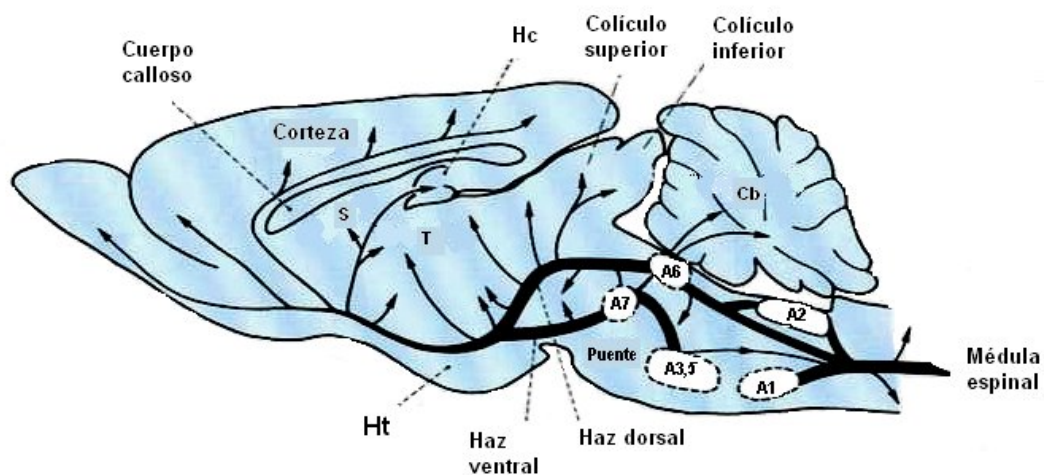
El grupo A3 se encuentra disperso en la formación reticular del bulbo y se extiende hasta los grupos A5 y A7 (Tohyama y Takatsuji, 1998) localizados en la formación reticular ventrolateral de la protuberancia. Estos grupos proporcionan, sobre todo, proyecciones a la

médula espinal que regulan reflejos autónomos y la sensibilidad dolorosa (Kandel et al., 2001).

El grupo A6, conocido como *locus coeruleus*, se encuentra en la parte posterior y externa de la sustancia gris que rodea al acueducto y al cuarto ventrículo. Este grupo comprende aproximadamente el 45 % de todas las neuronas noradrenérgicas en el cerebro (alrededor de 1500 células en cada hemisferio de la rata) y envía amplias prolongaciones a la corteza cerebral y al cerebelo, así como otras descendentes al tronco encefálico y la médula espinal. Se le considera la principal fuente de noradrenalina del sistema nervioso central.

El *locus coeruleus* mantiene el estado de vigilia y la capacidad de respuesta a estímulos inesperados (Kandel et al., 2001; Stanford, 2001).

El grupo A4 forma la continuación dorsolateral del grupo A6 y rodea al cuarto ventrículo dorsolateralmente (Tohyama y Takatsuji, 1998).

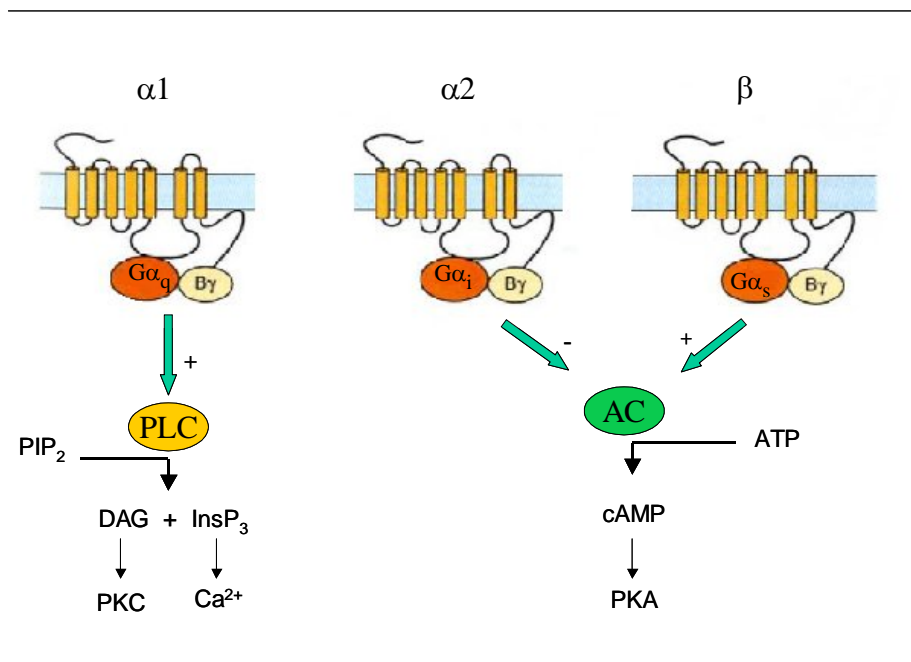


**Figura 5.** Principales vías noradrenérgicas en el cerebro de la rata. Hc, hipocampo; Cb, cerebelo; Ht, hipotálamo; T, tálamo; S, septum (modificado de Tohyama y Takatsuji, 1998).

Al igual que otras monoaminas, la noradrenalina liberada es rápidamente recapturada de la hendidura sináptica. Este proceso es llevado a cabo por transportadores glicoproteicos de doce pasos transmembranales. Una vez que la noradrenalina se encuentra en el citosol, alguna puede volverse a vesicular y almacenarse para una liberación subsecuente. Sin embargo, se cree que la mayor parte de la noradrenalina es degradada por la enzima monoamino oxidasa (MAO), que se encuentra unida a la membrana externa de la mitocondria. Otra enzima de degradación, la catecol orto metil transferasa (COMT), se ha encontrado mayoritariamente en tejidos no neuronales, tales como el músculo liso, las células endoteliales o la glía (Siegel et al., 2006).

## 2.10. RECEPTORES ADRENÉRGICOS

Existen nueve distintos receptores a noradrenalina, agrupados en tres familias:  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  y  $\beta$ , cada una conteniendo tres subtipos codificados por distintos genes. Todos ellos se encuentran acoplados a proteínas G: los  $\alpha_1$  tienen acción en el sistema de la fosfolipasa C, los  $\alpha_2$  inhiben la adenilato ciclasa y los  $\beta$  activan la adenilato ciclasa (Squire et al., 2003). Ver Figura 6.



**Figura 6.** Vías de señalización principales de los receptores adrenérgicos.  $PIP_2$ , fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato; PLC, fosfolipasa C; DAG, diacilglicerol;  $InsP_3$ , inositol trifosfato; PKC, protein cinasa C; AC, adenilato ciclasa; cAMP, AMP cíclico; PKA, protein cinasa A. (Modificado de Siegel et al., 2006).

Se han realizado diferentes estudios para conocer la distribución de los subtipos en el sistema nervioso; algunos de ellos han utilizado la técnica de hibridación *in situ* para detectar el RNA (ácido ribonucleico) mensajero (mRNA) en el cerebro de la rata. Los resultados obtenidos muestran lo siguiente:

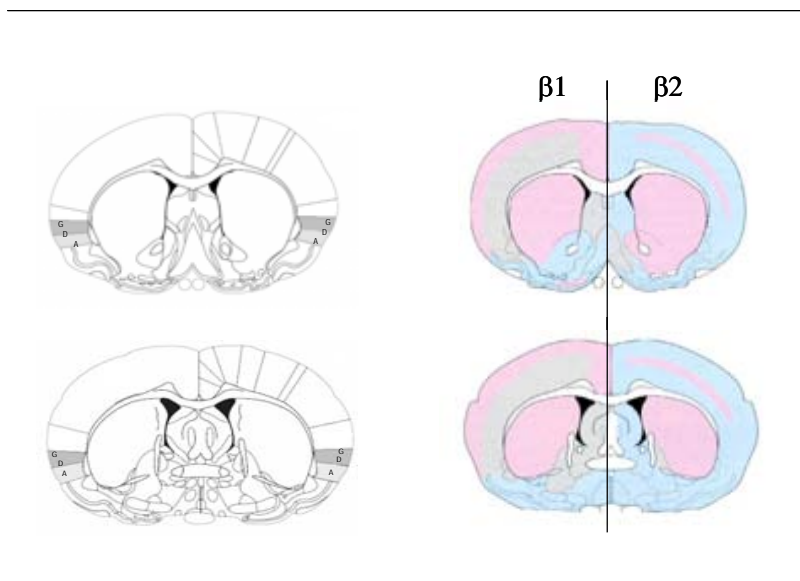
- ❖ Los receptores alfa1-A se encuentran principalmente en regiones del sistema olfativo, algunos núcleos hipotalámicos y en ciertas regiones del tallo cerebral y de la médula espinal, particularmente en áreas relacionadas con la función motora. Niveles moderados se hallan en el *septum*, la corteza cerebral, la amígdala, el cerebelo y la glándula pineal. Los receptores alfa1-B están en altos niveles en la glándula pineal, la mayoría de los núcleos del tálamo, la amígdala lateral y los núcleos del rafé medial. Los alfa1-D se encuentran mayoritariamente expresados en el bulbo olfatorio, la corteza cerebral, el hipocampo, el núcleo reticular talámico, algunas regiones de la amígdala, los núcleos motores del tallo cerebral, el complejo de la oliva inferior y la médula espinal (Day, Campeau, Watson y Akil, 1997).
  
- ❖ Los receptores alfa2-A se encuentran principalmente en la capa VI de la corteza cerebral, el núcleo paraventricular hipotalámico, el núcleo reticular talámico, los núcleos pontinos, el *locus coeruleus*, los núcleos vestibulares, los núcleos profundos del cerebelo y el núcleo del tracto solitario. Los alfa2-B se expresan en el tálamo y los alfa2-C se observan básicamente en el bulbo olfatorio, la corteza cerebral, los islotes de Calleja, el estriado, la formación hipocampal, la corteza cerebelar y los ganglios de la raíz dorsal (Nicholas, Pieribone y Hôkfelt, 1993a).  
Cabe señalar que, dentro de las funciones que tienen estos receptores alfa2, una de las más características es que se encuentran como auto-receptores, regulando la liberación de noradrenalina en la propia terminal presináptica (Squire et al., 2003).
  
- ❖ Los receptores beta-1 se hallan en el núcleo olfatorio anterior, la corteza cerebral, el núcleo reticular talámico, el complejo oculomotor, los núcleos vestibulares, los núcleos profundos del cerebelo, la formación reticular y la glándula pineal. De los beta-2, se encontró una mayor expresión en el bulbo olfatorio, la corteza piriforme, la formación hipocampal, la

corteza cerebelar y los núcleos intralaminares del tálamo (Nicholas, Pieribone y Hôkfelt, 1993b). El subtipo beta-3 no se localiza en el cerebro; se le ha encontrado en el tejido adiposo y está involucrado en la lipólisis (Stanford, 2001).

Los receptores tipo beta habían sido objeto principal en las investigaciones realizadas para evaluar la participación del sistema noradrenérgico en la formación de memorias aversivas, como el condicionamiento de aversión al sabor y la evitación inhibitoria; sin embargo, se demostró posteriormente que los receptores tipo alfa, particularmente alfa-1, también intervienen en estos procesos, y que una de sus acciones es modular la actividad de los receptores beta (Ferry, Roozendaal y McGaugh, 1999). Las investigaciones realizadas en memoria de tipo incidental (reportadas hasta la fecha) también se basan en las acciones del receptor beta (Miranda et al., 2003; 2008).

En el presente estudio, indudablemente sería interesante trabajar con ambos tipos de receptores; no obstante, por cuestiones de tiempo, se enfocó la atención en la participación de los beta.

En párrafos anteriores se mencionó que existen receptores beta-1 y beta-2 en la corteza cerebral, pero resulta importante conocer si, particularmente en la corteza insular -región de nuestro interés-, se encuentran estos tipos de receptores. La Figura 7 corresponde a un estudio realizado con radio-ligandos para determinar la densidad de estos receptores en varias regiones cerebrales (Tohyama y Takatsuji, 1998), éste revela que existe una alta a moderada cantidad de receptores del tipo beta-1 en la corteza insular y una menor cantidad de los receptores beta-2.



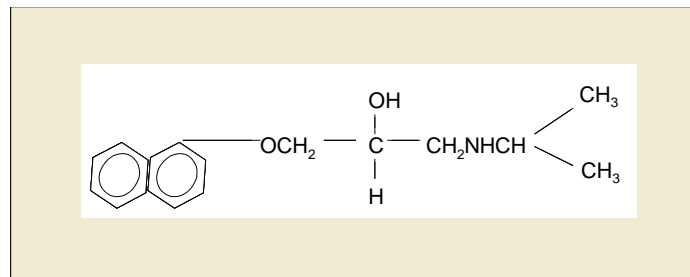
**Figura 7.** Izquierda: Se muestran, para comparación, esquemas de cortes coronales de cerebro de rata en los que se ha sombreado la región correspondiente a la corteza insular (modificado del atlas de Paxinos y Watson, 1998). Derecha: Estudio de “binding” con radio-ligandos para los receptores adrenérgicos beta-1 y beta-2. La densidad de los receptores está clasificada en tres categorías: alta, representada en color rosa; moderada, en color gris; y baja, en color azul (Tohyama y Takatsuji, 1998).

Tanto la noradrenalina como la adrenalina pueden actuar en los receptores adrenérgicos. La noradrenalina tiene mayor potencia de estimulación que la adrenalina para los receptores beta-1; lo contrario sucede para los receptores beta-2. Sin embargo, la concentración de adrenalina en la corteza cerebral es baja, encontrándose sobre todo innervaciones en el hipotálamo, la sustancia gris periacueductal, la región periventricular del cuarto ventrículo, el núcleo motor dorsal del vago, el *locus coeruleus* y las columnas intermediolaterales de la médula espinal (Cooper, Bloom y Roth, 2003).

La exposición prolongada de los receptores beta a agonistas endógenos o exógenos provoca normalmente una disminución en la sensibilidad de estos receptores (desensibilización). La desensibilización puede ser causada por un desacoplamiento del receptor con la adenilato ciclasa o por una disminución en el número de receptores (regulación

a la baja). Por el contrario, si se priva a los receptores beta de catecolaminas (por denervación química o quirúrgica), esto provoca un incremento en su sensibilidad (Cooper et al., 2003).

Entre los agonistas y antagonistas noradrenérgicos, son pocos los que se unen de manera específica a uno u otro subtipo de receptor. Uno de ellos, el propranolol (ver Figura 8), es un antagonista competitivo de los receptores beta muy potente; es no selectivo porque bloquea tanto los receptores  $\beta$ -1 como los  $\beta$ -2, teniendo igual afinidad por ambos subtipos. Estudios en seres humanos, indican que después de su administración oral, el tiempo de vida media en el plasma es alrededor de tres a cinco horas (Goodman A, Goodman L, Rall y Murad, 1989).



**Figura 8.** Estructura del antagonista beta-adrenérgico, propranolol.

## 2.11. FUNCIONES DE LA NORADRENALINA CEREBRAL

Se ha sugerido que el efecto global de las interacciones entre la noradrenalina y sus receptores sea el aumento en la excitabilidad de las células blanco. Lo cual puede ser una contribución importante para el estado de alerta y la atención selectiva (Stanford, 2001).

Varios estudios electrofisiológicos han mostrado que la actividad de las neuronas del *locus coeruleus* se incrementa por estímulos sensoriales que van desde aquellos que causan una incomodidad física (un choque eléctrico) o claves interoceptivas (hipoglicemia) hasta ciertos estímulos ambientales que causaban alerta (por ejemplo, el acercamiento del experimentador). En base a esta evidencia, se ha sugerido que las neuronas noradrenérgicas centrales pueden

formar parte de un “sistema de alarma”. Las características precisas de los estímulos que provocan un aumento en la transmisión noradrenérgica no están del todo claras, pero experimentos recientes sugieren que no es la “novedad” ni la “aversión” por sí solas las responsables; sino que podría ser la “saliencia” del estímulo (parece ser que no existe este término en español, pero se refiere a qué tan significativo es, a la trascendencia o relevancia para el individuo), o un *cambio* en la saliencia.

Otro concepto se refiere a que la transmisión noradrenérgica podría influenciar el impacto emocional de un estímulo determinado (Stanford, 2001).



### **3. JUSTIFICACIÓN**

De acuerdo a los antecedentes previos, se sabe que la corteza insular es un área que puede ser clave en diversos procesos de aprendizaje y memoria en cuanto a que en ella converge información de todas las vías somatosensoriales y conexiones con el sistema límbico y con otras partes de la corteza cerebral. Se ha descubierto que la corteza insular participa de manera importante en la formación de ciertas memorias aversivas o emocionales; sin embargo, el papel que tiene en memorias de carácter incidental / no aversivo ha sido poco estudiado.

De igual modo, mucho se ha descrito acerca de la importancia que tiene el sistema noradrenérgico en modular la formación de memorias con algún contenido emotivo, pero su estudio en relación a la memoria de hechos no relevantes es escaso.

Es por esto que en el presente trabajo se investigó si la actividad del sistema noradrenérgico, a través de sus receptores beta en la corteza insular, es necesaria para la formación de una memoria no aversiva / incidental de contexto en la rata.

#### **4. HIPÓTESIS**

La administración de propranolol, un antagonista de los receptores beta-adrenérgicos, en la corteza insular impedirá la formación de la memoria incidental de contexto, interfiriendo así con la inhibición latente de la evitación inhibitoria.

#### **5. OBJETIVOS**

##### **5.1. GENERAL**

Investigar la participación del sistema noradrenérgico en la corteza insular durante la formación de la memoria incidental de contexto y la inhibición latente de la evitación inhibitoria.

##### **5.2. ESPECÍFICOS**

Determinar el efecto de la administración bilateral del antagonista beta-adrenérgico, propranolol, en la corteza insular sobre:

- a) La adquisición / consolidación de la memoria incidental de contexto.
- b) La inhibición latente de la evitación inhibitoria.

## 6. SUJETOS, MATERIAL Y MÉTODOS

### 6.1. SUJETOS EXPERIMENTALES

Se utilizaron ratas macho<sup>1</sup> de la cepa Sprague-Dawley, de 250 – 280 g de peso (3 meses de edad, aprox.) al llegar al bioterio del laboratorio; fueron proporcionadas por el bioterio del Instituto de Neurobiología de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

Las ratas se mantuvieron durante los siete días de cuarentena, así como a lo largo de los experimentos, en cajas de plástico individuales<sup>2</sup> (45 x 25 x 20 cm) con agua y alimento *ad libitum* bajo un ciclo de luz-oscuridad invertido: doce horas de luz (8:30 p.m a 8:30 a.m) y doce de oscuridad (8:30 a.m a 8:30 p.m); en un cuarto con temperatura regulada a  $23 \pm 2$  °C y humedad relativa del  $60 \pm 5$  %. La manipulación de los animales y los experimentos se realizaron durante la fase de actividad de los animales en un horario de 11:00 a.m. a 3:00 p.m.

Todos los procedimientos siguieron las normas establecidas por el Comité de Ética 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 (National Institutes of Health, [www.nih.gov](http://www.nih.gov)).

---

<sup>1</sup> Se eligió trabajar con ratas macho por facilidad metodológica, debido a que, de haber utilizado hembras, hubiera sido necesario verificar que todas estuvieran en la misma etapa del ciclo estral y que tuvieran la misma cantidad de hormonas gonadales circulantes, puesto que éstas podrían tener influencias en el aprendizaje y la memoria y en la percepción de los estímulos nociceptivos (Kandel et al., 2001; Knuth, Sikand y Casanueva, 1983; Zurkovsky, Brown, Boyd, Fell y Korol, 2007). Indudablemente, sería interesante posteriormente realizar el mismo protocolo en hembras para verificar las diferencias.

<sup>2</sup> Es sabido que la condición de aislamiento social en roedores, aún después del destete, puede modificar en cierto grado el estado motivacional (Van den Berg et al., 1999) y la liberación de neurotransmisores, particularmente dopamina, en respuesta al estrés de los animales (Cabib, Ventura y Puglisi-Allegra, 2002). Sin embargo, gran parte de los estudios que preceden y que dan pauta a la presente investigación, han utilizado viviendas individuales (Miranda y Bermudez-Rattoni, 2007; Miranda et al., 2003; Miranda et al., 2008). Es por esto que, para no introducir una fuente más de variabilidad, se decidió utilizar esta misma condición. Sin embargo, sería también de mucho interés en un futuro, replicar el experimento utilizando condiciones de ambiente social enriquecido.

## **6.2. CIRUGÍA**

- ⇒ Se dejó que las ratas tuvieran una semana de adaptación al bioterio del laboratorio (“cuarentena”) antes de ser sometidas a cirugía.
- ⇒ La anestesia consistió en una mezcla de 6 mg/kg de xilacina (Cheminova, México) y 70 mg/kg de ketamina base (Cheminova, México), inyectada por vía intraperitoneal (i.p.).
- ⇒ Mediante la técnica de cirugía estereotáxica se hizo el implante bilateral de cánulas de acero inoxidable de 12 mm dirigidas a la corteza insular, teniendo como referencia las siguientes coordenadas a partir de Bregma: anteroposterior +1.2 mm, mediolateral +/- 5.5 mm y dorsoventral -3.0 mm, en base al atlas de Paxinos y Watson (1998). Cabe señalar que la cánula no queda situada en la corteza insular, sino 3 mm arriba; esta distancia es suficiente para guiar el recorrido de los inyectores al hacer las infusiones, y permite mantener el área de interés intacta hasta ese momento.
- ⇒ Después de la cirugía, se dejó que las ratas se recuperaran durante una semana antes de iniciar los experimentos. En esta semana, los animales fueron diariamente manipulados por el experimentador para minimizar el efecto del estrés en los días de entrenamiento. Las sesiones de manipulación fueron de aproximadamente cinco minutos por rata, se llevaron a cabo en el cuarto de experimentación y consistieron en sostener en el regazo a los animales con una toalla, dejar que olfatearan al experimentador, detenerles la cabeza y simular los movimientos que se realizan en la infusión.

## **6.3. DESCRIPCIÓN DEL CUARTO DE EXPERIMENTACIÓN**

Es un cuarto de aproximadamente 1.5 x 2.0 m que se mantiene en oscuridad durante el experimento salvo por la luz blanca proveniente de una lámpara de 20 W/12 V que ilumina el lado claro de la cámara de evitación inhibitoria (ver siguiente sección). La temperatura es regulada a  $23 \pm 2$  °C.

#### 6.4. DESCRIPCIÓN DEL EQUIPO DE EVITACIÓN INHIBITORIA

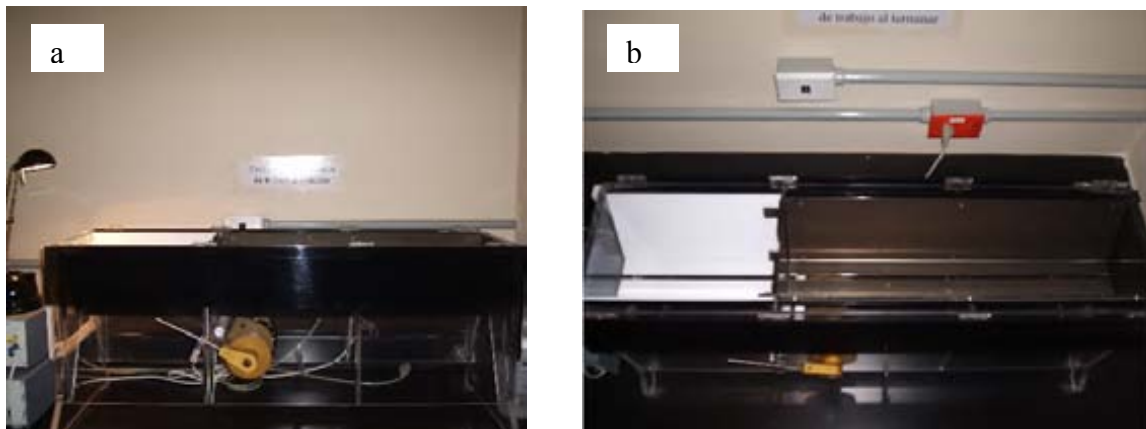
Es una cámara de 90 cm de largo, 12 cm de profundidad, 18 cm de ancho en la parte superior y 7 cm de ancho en la parte inferior. A todo lo largo de la parte central del piso hay una hendidura de 0.8 cm de ancho. Tiene dos compartimentos separados por una compuerta corrediza y están cubiertos por una tapa de acrílico traslúcido de color negro (ver Figura 9).

El compartimento denominado “lado claro” tiene 30 cm de longitud, paredes y piso de plástico color blanco y se encuentra iluminado por una lámpara exterior de 20W/12V.

El otro compartimento, denominado “lado oscuro” tiene 60 cm de longitud, paredes y piso de acero inoxidable, no recibe iluminación y es a éste al que se le puede transmitir corriente eléctrica cuando se desea dar un choque eléctrico al animal.

El equipo que proporciona la corriente eléctrica (“Constant current shocker”) es marca Lafayette Instrument Co., modelo 58006.

El equipo que mide y establece la duración del choque eléctrico (“Repeat cycle timer”) es también marca Lafayette Instrument Co., modelo 51013.

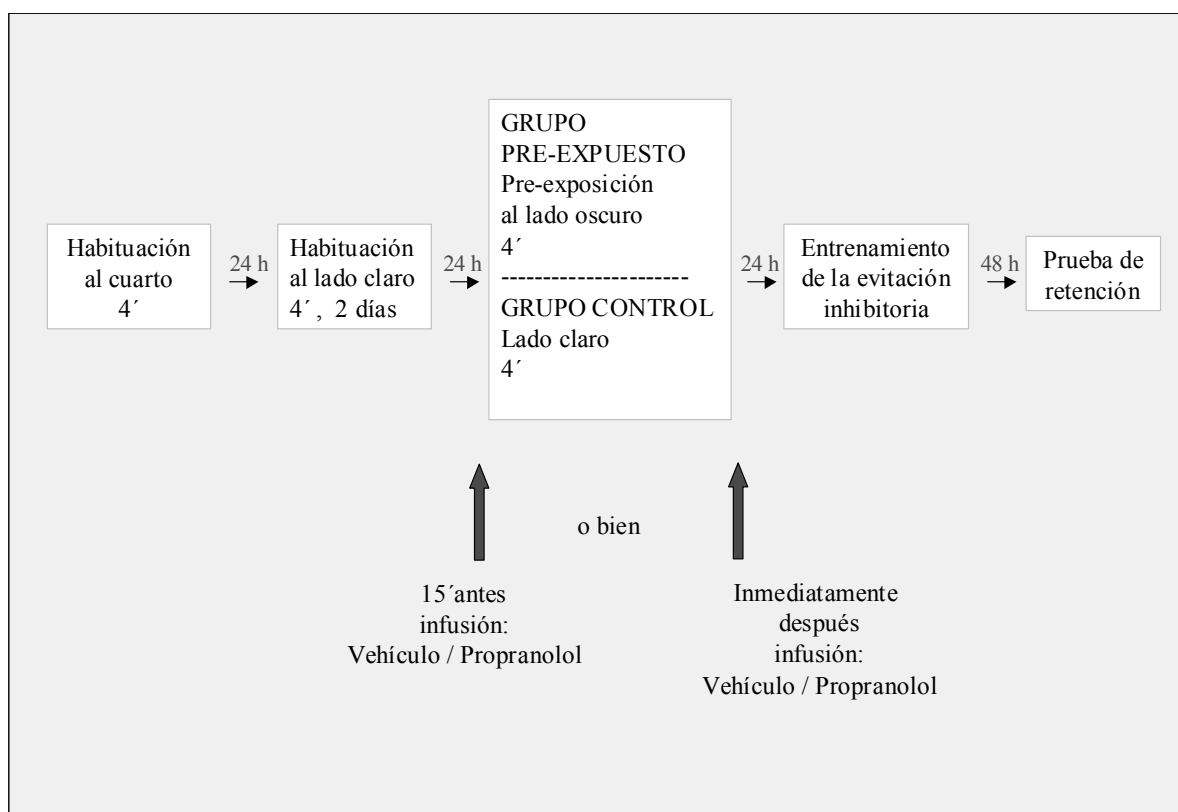


**Figura 9.** Equipo de evitación inhibitoria: a) vista lateral, b) vista superior.

## 6.5. PROCEDIMIENTO

Una vez transcurrida la semana de recuperación de la cirugía, cada animal se sometió al siguiente protocolo, el cual se muestra primero en un esquema general (Figura 10) seguido por los detalles de cada paso.

Todo el procedimiento se realizó en el horario de 11:00 a.m. a 3:00 p.m.



**Figura 10.** Protocolo de la inhibición latente de la evitación inhibitoria utilizado.

En todos los pasos que tienen lugar en la cámara de evitación inhibitoria se realiza un proceso de limpieza *antes* de introducir *a cada uno* de los animales al cuarto de experimentación. Este proceso consiste en remover las excretas que se encuentran dentro o debajo de la cámara, limpiar con papel higiénico humedecido en alcohol étlico al 70 % y secar cuidadosamente con otro trozo de papel higiénico.

### **6.5.1. HABITUACIÓN AL CUARTO DE EVITACIÓN INHIBITORIA**

Se realizó en todas las ratas.

Los animales fueron manipulados en el cuarto de experimentación durante cuatro minutos cada uno. Esta manipulación consistió en sacarlos de su caja y, mantenidos en las manos del experimentador, se les permitió que reconocieran el cuarto en general y la mesa de trabajo en la que está la cámara de evitación inhibitoria.

Un día después se realizó el siguiente paso.

### **6.5.2. HABITUACIÓN AL LADO CLARO DE LA CÁMARA DE EVITACIÓN INHIBITORIA**

Se realizó en todas las ratas.

Se colocó la rata en el lado claro de la cámara de evitación inhibitoria con la compuerta cerrada y se mantuvo ahí durante cuatro minutos. Al finalizar este tiempo, se le regresó a su caja.

Veinticuatro horas después se repitió este mismo paso.

### **6.5.3. PRE-EXPOSICIÓN AL LADO OSCURO DE LA CÁMARA DE EVITACIÓN INHIBITORIA**

Se realizó un día después de la segunda habituación al lado claro y es aquí donde se dividieron los animales en grupos:

#### Grupo no pre-expuesto

Estos animales fueron mantenidos en el lado claro de la cámara durante cuatro minutos, del mismo modo en que se hizo en el paso anterior (así, este grupo tuvo en total tres sesiones en el lado claro).

### Grupo pre-expuesto

Estos animales tuvieron, en este paso, acceso por primera vez al lado oscuro.

- Se colocó la rata en el lado claro de la cámara con la cara en dirección hacia la compuerta, que se mantenía cerrada.
- Una vez que el animal se dio la vuelta, se abrió la compuerta y se accionó un cronómetro, con el cual se midió el tiempo que tardó el animal en pasar del lado claro al lado oscuro con sus cuatro patas. Se registró este tiempo en la bitácora y se le denominó *Latencia de entrada de la pre-exposición*.
- Una vez que pasó la rata al lado oscuro, se cerró la compuerta y se dejó que el animal permaneciera ahí durante cuatro minutos.
- Después de este tiempo, se sacó a la rata de la cámara y se regresó a su caja.

Para evaluar la participación de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos de la corteza insular en la formación de la memoria incidental de contexto (lado oscuro), se realizaron inyecciones de propranolol en dos momentos diferentes: quince minutos antes de colocar a la rata en la caja (para observar el efecto en la adquisición / consolidación) o bien, inmediatamente después de la pre-exposición (para determinar el efecto sólo en la consolidación). Cada grupo inyectado con propranolol tuvo su respectivo grupo control inyectado con solución salina; y a su vez, cada uno de ellos, se dividió en subgrupos de animales pre-expuestos y no pre-expuestos. De este modo, el total de grupos participantes en el experimento se muestra en la Tabla 2.



**Tabla 2.** Descripción de los grupos utilizados en el protocolo experimental

Etapa de la memoria que se desea analizar	Infusión	Pre-exposición al lado oscuro GRUPOS
<i>Adquisición/Consolidación</i> (Infusiones 15' antes de la pre-exposición)	Propranolol	Pre-expuesto
		No pre-expuesto
	Solución salina	Pre-expuesto
		No pre-expuesto
<i>Consolidación</i> (Infusiones inmediatamente después de la pre-exposición)	Propranolol	Pre-expuesto
		No pre-expuesto
	Solución salina	Pre-expuesto
		No pre-expuesto

Infusiones:

- Se utilizaron inyectores (agujas dentales) del número 30 y se conectaron por uno de sus lados con una jeringa Hamilton de 10 µl por medio de un tubo delgado de polietileno. Se cargó la jeringa con la solución a infundir:

- \* Solución salina isotónica estéril (NaCl 0.9 %, PiSA México), o bien

- \* Propranolol, 1 µg por lado (concentración final 6.76 mM).

1 µg de (+/-)-clorhidrato de propranolol (Sigma, México) disuelto en 0.5 µl de solución salina isotónica estéril. La dosis fue elegida con base a la revisión de estudios previos (Miranda y McGaugh, 2004; Miranda et al., 2003).

- Las jeringas Hamilton de ambos inyectores se colocaron en una bomba de inyección automática (Stoelting Co., Illinois USA), la cual fue programada para expeler 0.5  $\mu$ l en cada lado a una razón de 0.5 $\mu$ l / minuto.
- Se colocaron los inyectores en las cánulas de modo tal que sobresalieran 3 mm más allá de la punta de la cánula para alcanzar la corteza insular. Se dio inicio a la infusión en la bomba, la cual tardó un minuto. Al terminar, se dejaron los inyectores en el sitio durante un minuto más con el fin de no provocar reflujo del líquido infundido al quitarlos.
- Una vez transcurrido el minuto, se retiraron los inyectores y se regresó al animal a su caja.

#### **6.5.4. ENTRENAMIENTO DE LA EVITACIÓN INHIBITORIA**

Se llevó a cabo veinticuatro horas después del paso anterior y se realizó en todos los grupos.

- Se colocó la rata en el lado claro de la cámara con la cara en dirección hacia la compuerta, que se mantenía cerrada.
- Una vez que el animal se dio la vuelta, se abrió la compuerta y se accionó el cronómetro, con el cual se midió el tiempo que tardó el animal en pasar del lado claro al lado oscuro con sus cuatro patas. A este tiempo se le denominó *Latencia de entrada del entrenamiento* y también se registró en la bitácora.
- Se cerró la compuerta y se dejó que el animal explorara hasta el otro extremo del lado oscuro; una vez de regreso, cuando se encontraba aproximadamente a la mitad del compartimento oscuro, se le dio un choque eléctrico de 0.29 mA (corriente alterna) de un segundo de duración (ver sección 6.4 para descripción del equipo). Se realizó el registro de la reacción conductual presentada por el animal, clasificada cualitativamente del siguiente modo:
  - Reacción 0: la rata prosigue su actividad sin mostrar alteración alguna.
  - Reacción 1: la rata brinca.
  - Reacción 2: la rata brinca y corre.
  - Reacción 3: la rata brinca, corre y emite vocalizaciones audibles.
- Quince segundos después del choque se sacó a la rata de la cámara y se le colocó en su caja.

### **6.5.5. PRUEBA DE RETENCIÓN DE LA EVITACIÓN INHIBITORIA**

Se realizó de igual manera en todos los grupos, cuarenta y ocho horas después del paso anterior.

- Se colocó la rata en el lado claro de la cámara con la cara en dirección hacia la compuerta, que se mantenía cerrada.
- Una vez que la rata se dio la vuelta, se abrió la compuerta y se hicieron dos acciones simultáneamente: se accionó un reloj contador programado con diez minutos (600 segundos) y también se accionó un cronómetro, con el que se midió ahora la *Latencia de entrada de la prueba*, que es el tiempo que tardó la rata en pasar con sus cuatro patas del lado claro al lado oscuro.
- Esta vez se dejó la compuerta abierta y se midió también el tiempo de *Estancia total en el lado claro*, para lo cual, se activó de manera continua el cronómetro cada vez que la rata se encontraba en el lado claro durante los diez minutos programados en el inicio. Se contabilizó también el número de veces que atravesaba el animal del lado claro al oscuro.
- La prueba se daba por terminada a los diez minutos. Después de ello, se sacó a la rata de la cámara y se colocó en su caja.

Para el análisis estadístico de la conducta, se utilizó el parámetro que mostró de manera más clara las diferencias entre grupos; este fue la latencia de entrada de la prueba.

### **6.6. PERFUSIÓN**

Una vez finalizado el experimento, los animales fueron inyectados intraperitonealmente con una sobredosis de 115 mg/kg aprox. de pentobarbital sódico (Cheminova, México) y fueron perfundidos intracardialmente con solución salina isotónica. Se extrajeron los cerebros y se conservaron en una solución de formaldehído (Sigma, México) al 10 % durante tres a cuatro días. Posteriormente se cambiaron a una solución de sacarosa (JT Baker, México) al 30%, en la que se mantuvieron durante un mínimo de cuatro días hasta el momento del corte.

## **6.7. HISTOLOGÍA**

Se realizaron cortes coronales de 50  $\mu\text{m}$  de grosor en un microtomo a  $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Los cortes fueron colocados en portaobjetos gelatinizados para su posterior tinción con violeta de cresilo (Apéndice 1). Una vez teñidos se examinaron en un microscopio óptico para determinar el lugar en que los inyectores fueron colocados. Sólo los sujetos cuyos lugares de inyección estuvieron localizados correctamente (bilateralmente en la corteza insular) y que no presentaron necrosis tisular fueron tomados en cuenta para el análisis estadístico.

## **6.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

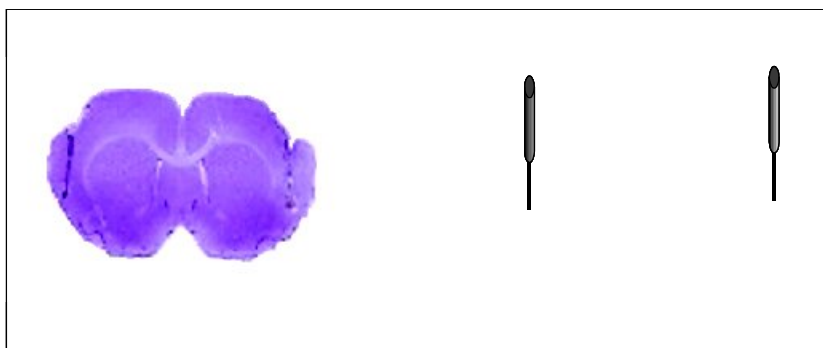
Dado que los resultados de la prueba de retención fueron obtenidos bajo un tiempo de corte de 600 segundos, las latencias de entrada de las ratas que no cruzaron hacia el lado oscuro en este tiempo fueron computadas como 600. Sin embargo, este tiempo no es real (el real sólo lo hubiéramos podido obtener teniendo un tiempo indefinidamente abierto –sin punto de corte-). Por esta razón, resulta más conveniente realizar pruebas estadísticas no paramétricas como la de Kruskal-Wallis para el análisis de varianza y la U de Mann-Whitney, para comparación entre pares de grupos, en las que no se hace uso de los valores reales sino que se les reemplaza con rangos o jerarquías (Howell, 2004). Se utilizó esta misma estadística para el análisis de las latencias de entrada de la pre-exposición y del entrenamiento de la evitación inhibitoria.

Las diferencias estadísticas fueron consideradas significativas cuando los valores de probabilidad fueron iguales o menores al 0.05.

Los resultados se encuentran representados mediante gráficos de barras de la media  $\pm$  error estándar; éstos fueron utilizados inclusive para los obtenidos el día de la prueba de retención (a pesar de lo mencionado en los párrafos anteriores), debido a que permiten tener una concepción sencilla y clara de la dispersión de los datos.

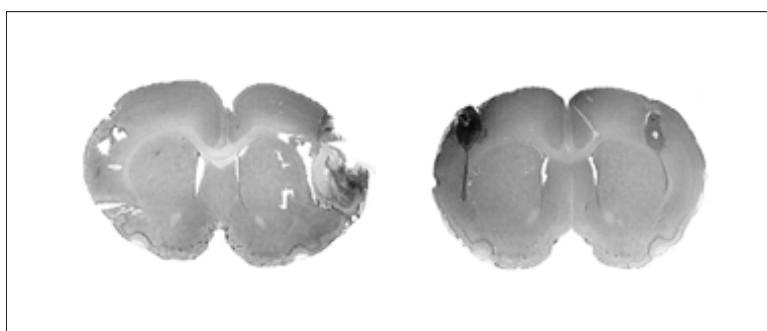
## 7. RESULTADOS

La Figura 11 muestra la localización típica de los inyectores en la corteza insular de los animales tomados en cuenta para el análisis estadístico.



**Figura 11.** Izquierda, corte coronal que muestra la localización típica de los inyectores en la corteza insular. Derecha, diagrama modificado del atlas de Paxinos y Watson (1998) en el que aparece sombreada el área de la corteza insular.

Algunas fotografías de cortes histológicos que ameritaron la exclusión de los datos se muestran en la Figura 12.

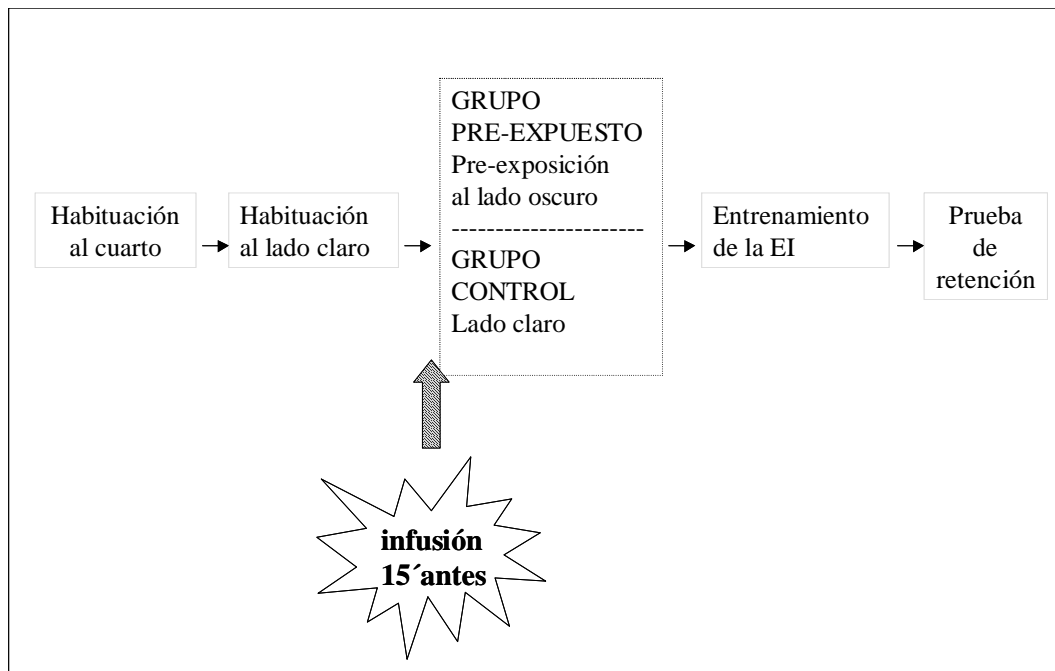


**Figura 12.** Ejemplos de cortes histológicos que fueron rechazados debido a que presentan: Izquierda, necrosis unilateral en región insular; Derecha, inyectores situados en el cuerpo caloso.

Además de la necrosis y de la ubicación de los inyectores fuera de la corteza insular, los criterios de exclusión incluyeron a los animales cuya reacción conductual ante el choque eléctrico fue cero (existe la posibilidad de que no lo hayan recibido, si es que no estaban apoyando las patas a ambos lados de la ranura, para cerrar el circuito eléctrico) y aquellos cuyas latencias de entrada en el día de la pre-exposición o del entrenamiento fue mayor de 200 segundos.

### 7.1. BLOQUEO DE LOS RECEPTORES BETA-ADRENÉRGICOS ANTES DE LA PRE-EXPOSICIÓN AL CONTEXTO

Efecto sobre la adquisición/consolidación de la memoria incidental de contexto y la inhibición latente de la evitación inhibitoria (Figura 13).



**Figura 13.** Esquema que muestra la etapa en la que se realizaron las infusiones para observar los efectos en la adquisición / consolidación.

El número total de ratas a las que se realizó cirugía y experimento de conducta para esta parte del protocolo fue de 93, de las cuales 41 (44%) fueron excluidas mayoritariamente por

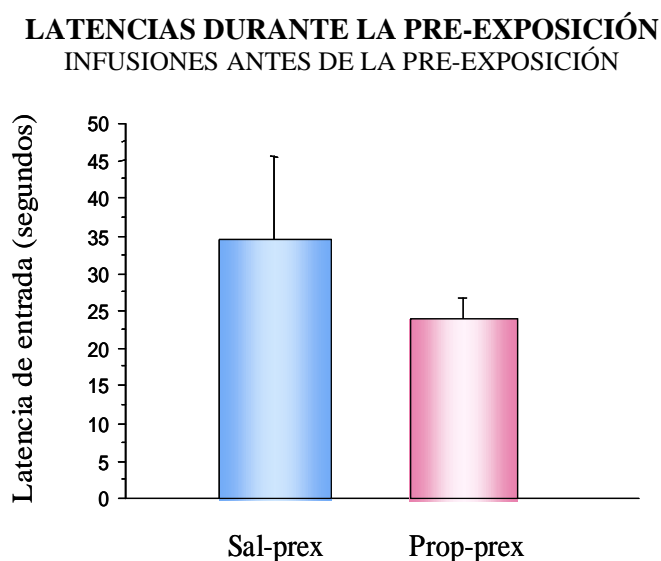
no encontrarse la cánula en el sitio, presentar necrosis, mostrar reacción conductual cero o tener una infusión incompleta.

Las 52 ratas cuya verificación histológica fue adecuada y que fueron tomadas en cuenta para el análisis estadístico se encuentran distribuidas de la siguiente manera:

<b>GRUPO</b>	<b>n</b>
Salina no pre-expuesto	11
Salina pre-expuesto	14
Propranolol no pre-expuesto	12
Propranolol pre-expuesto	15

### 7.1.1. Latencias de entrada en el día de la pre-exposición.

En la Figura 14 se muestran las latencias de entrada en el día de la pre-exposición de los grupos infundidos con solución salina y los de propranolol. El análisis de los datos con la prueba U de Mann-Whitney muestra que no existe diferencia significativa entre los grupos ( $p>0.05$ ).

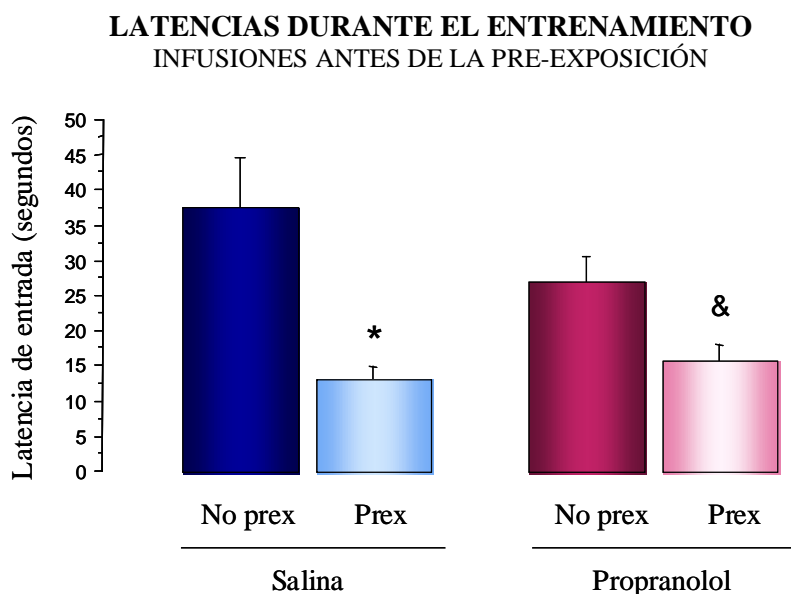


**Figura 14.** Gráfico de barras (media +/- error estándar) de las latencias de entrada en el día de la pre-exposición, de los animales que recibieron solución salina o propranolol *antes* de ser pre-expuestos.

### 7.1.2. Latencias de entrada en el día del entrenamiento de evitación inhibitoria.

En la Figura 15 se muestran las latencias de entrada en el día del entrenamiento de la evitación inhibitoria. Una prueba de Kruskal-Wallis para el análisis de varianza indica que existe diferencia significativa entre los grupos ( $H[3]=19.239$ ,  $p<0.001$ ). Una prueba *post hoc* U de Mann-Whitney revela que:

- Existe diferencia significativa entre los grupos No pre-expuesto y Pre-expuesto infundidos con solución salina ( $U=11$ ,  $*p<0.001$ ).
- Existe diferencia significativa entre los grupos No pre-expuesto y Pre-expuesto infundidos con propranolol ( $U=43$ ,  $&p<0.05$ ).
- No existe diferencia significativa entre los grupos No pre-expuestos de ambos tratamientos.
- No existe diferencia significativa entre los grupos Pre-expuestos de ambos tratamientos.

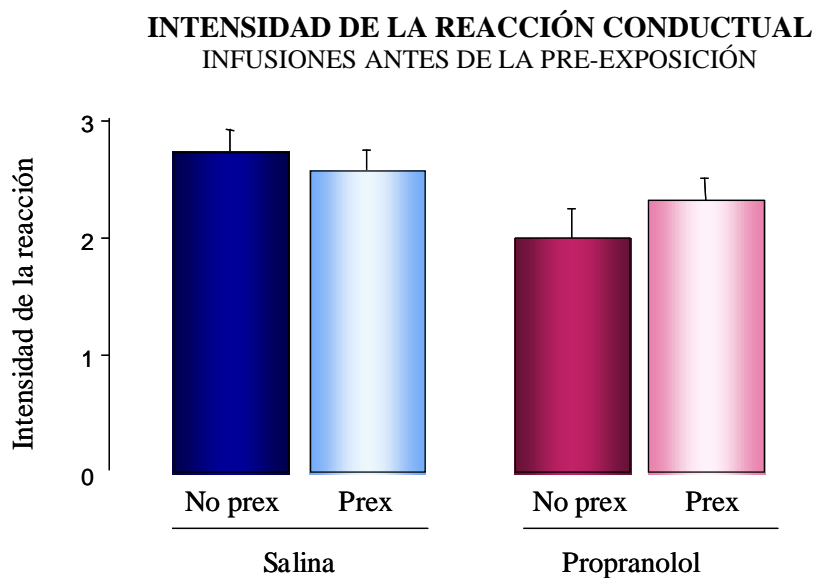


**Figura 15.** Gráfico de barras (media +/- error estándar) de las latencias de entrada en el día del entrenamiento de evitación inhibitoria. Se muestran los grupos tratados con solución salina y propranolol *antes* de la pre-exposición.  $*p<0.001$  entre los grupos No pre-expuesto y Pre-expuesto infundidos con solución salina,  $&p<0.05$  entre los grupos No pre-expuesto y Pre-expuesto infundidos con propranolol.



### 7.1.3. Intensidad de la reacción conductual.

En la Figura 16 se muestran las intensidades de reacción conductual en el día del entrenamiento de la evitación inhibitoria. Una prueba de Kruskal-Wallis para el análisis de varianza indica que no existe diferencia significativa entre los grupos ( $H[3] = 5.245$ ;  $p > 0.05$ ).



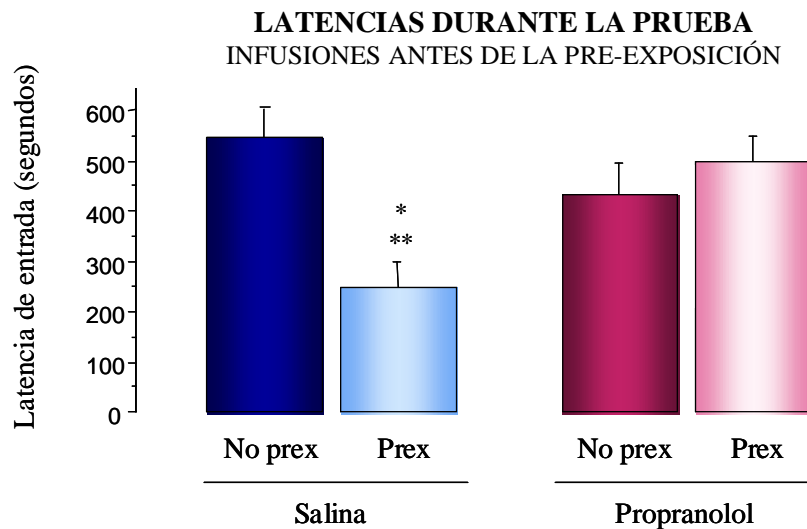
**Figura 16.** Gráfico de barras (media +/- error estándar) de las intensidades de reacción conductual en el día del entrenamiento de la evitación inhibitoria. Se muestran los grupos que recibieron solución salina y propranolol *antes* de la pre-exposición.

### 7.1.4. Latencias de entrada en el día de la prueba de retención.

En la Figura 17 se muestran las latencias de entrada en el día de la prueba de retención. Una prueba de Kruskal-Wallis para el análisis de varianza muestra que existe diferencia significativa entre los grupos ( $H[3]=15.203$ ,  $p < 0.01$ ). Una prueba *post hoc* U de Mann-Whitney revela que:

- Existe diferencia significativa entre los grupos No pre-expuesto y Pre-expuesto infundidos con solución salina ( $U=17$ ,  $*p=0.001$ ).

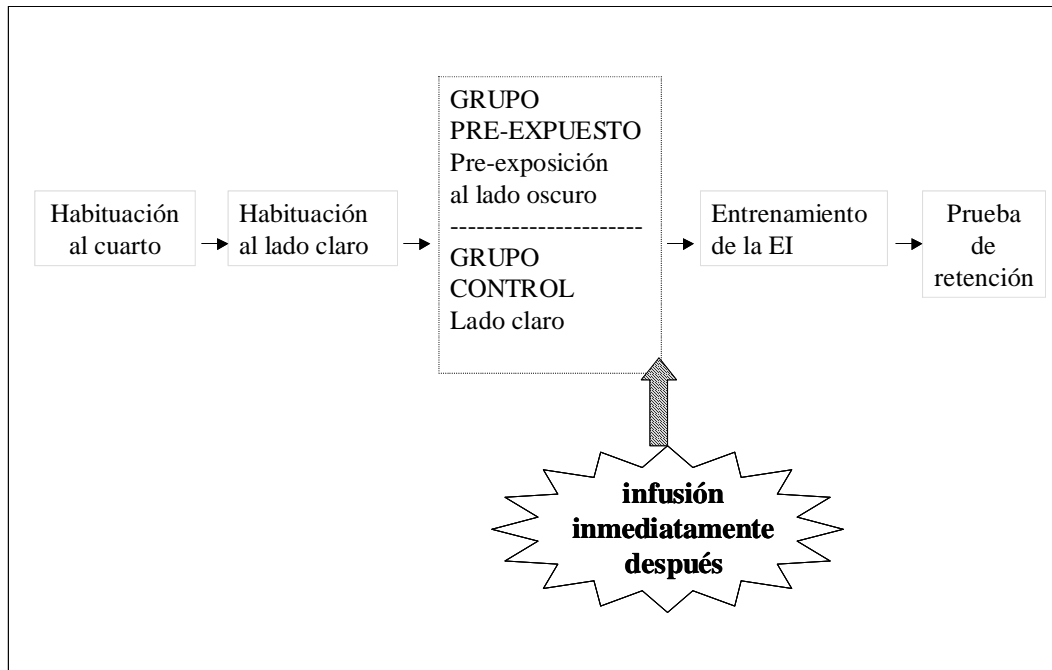
- No existe diferencia significativa entre los grupos No pre-expuesto y Pre-expuesto infundidos con propranolol.
- No existen diferencias significativas entre los grupos No pre-expuestos.
- Existe diferencia significativa entre los grupos Salina pre-expuesto y Propranolol pre-expuesto ( $U=34.5$ ,  $**p<0.01$ ).



**Figura 17.** Gráfico de barras (media +/- error estándar) de las latencias de entrada en el día de la prueba de retención. Se muestran los grupos tratados con solución salina y propranolol *antes* de la pre-exposición. \* $p=0.001$  entre los grupos No pre-expuesto y Pre-expuesto infundidos con solución salina, \*\* $p<0.01$  entre ambos grupos pre-expuestos.

## 7.2. BLOQUEO DE LOS RECEPTORES BETA-ADRENÉRGICOS INMEDIATAMENTE DESPUÉS DE LA PRE-EXPOSICIÓN AL CONTEXTO

Efecto sobre la consolidación de la memoria incidental de contexto y la inhibición latente de la evitación inhibitoria (Figura 18).



**Figura 18.** Esquema que muestra la etapa en que se realizaron las infusiones para observar los efectos sólo en la consolidación.

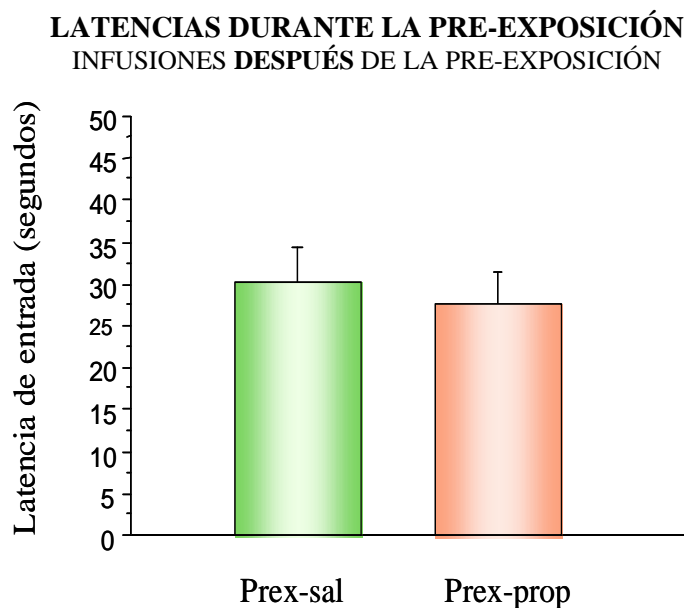
El número total de ratas a las que se realizó cirugía y experimento de conducta para esta parte del protocolo fue de 139, de las cuales 61 (44 %) fueron excluidas mayoritariamente por no encontrarse la cánula en el sitio, necrosis o tener una infusión incompleta.

Las 78 ratas cuya histología fue adecuada y que fueron tomadas en cuenta para el análisis estadístico se encuentran distribuidas de la siguiente manera:

<b>GRUPO</b>	<b>n</b>
No pre-expuesto - salina	21
Pre-expuesto - salina	21
No pre-expuesto – propranolol	17
Pre-expuesto - propranolol	19

### 7.2.1. Latencias de entrada en el día de la pre-exposición.

En la Figura 19 se muestran las latencias de entrada en el día de la pre-exposición. El análisis de los datos con la prueba U de Mann-Whitney muestra que no existe diferencia significativa entre los grupos ( $U= 188.5, p>0.05$ ).

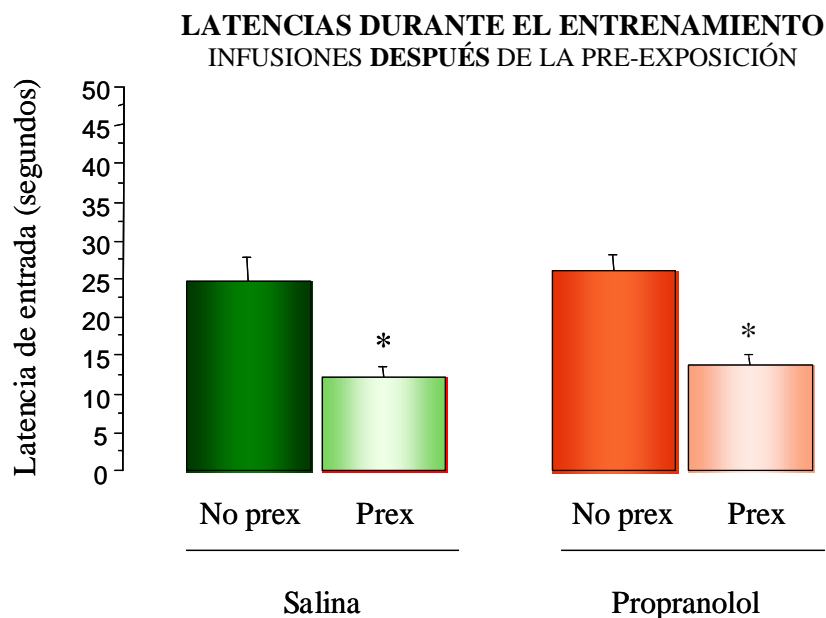


**Figura 19.** Gráfico de barras (media +/- error estándar) de las latencias de entrada en el día de la pre-exposición, de los animales que recibieron solución salina o propranolol *inmediatamente después* de haber sido pre-expuestos.

### 7.2.2. Latencias de entrada en el día del entrenamiento de evitación inhibitoria.

En la Figura 20 se muestran las latencias de entrada en el día del entrenamiento de la evitación inhibitoria. Una prueba de Kruskal-Wallis para el análisis de varianza indica que existe diferencia significativa entre los grupos ( $H[3] = 36.111$ ;  $p < 0.0001$ ). Una prueba *post hoc* U de Mann-Whitney revela que:

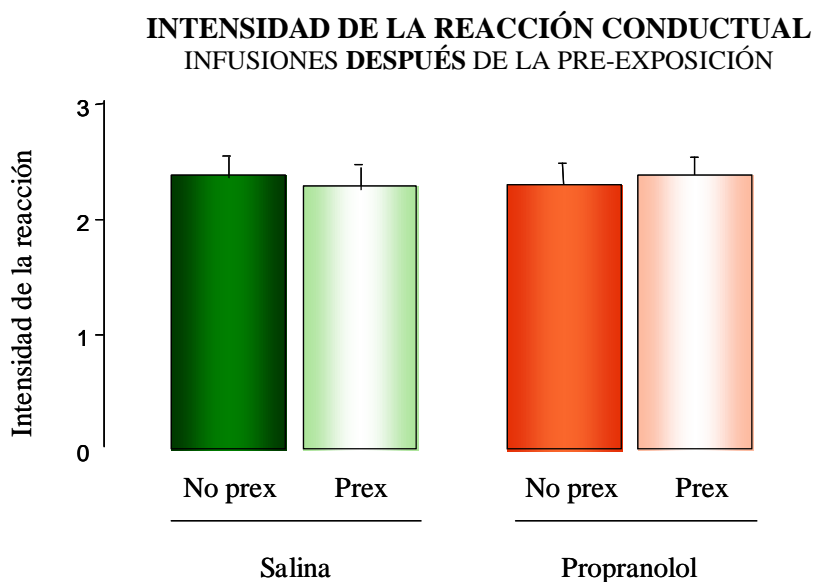
- Existe diferencia significativa entre los grupos No pre-expuesto y Pre-expuesto infundidos con solución salina ( $U=54$ ,  $*p < 0.0001$ ).
- Existe diferencia significativa entre los grupos No pre-expuesto y Pre-expuesto infundidos con propranolol ( $U= 28.5$ ,  $*p < 0.0001$ ).
- No existe diferencia significativa entre los grupos No pre-expuestos de ambos tratamientos.
- No existe diferencia significativa entre los grupos Pre-expuestos de ambos tratamientos.



**Figura 20.** Gráfico de barras (media +/- error estándar) de las latencias de entrada en el día del entrenamiento de la evitación inhibitoria. Se muestran los grupos que recibieron solución salina y propranolol *inmediatamente después* de la pre-exposición.  $*p < 0.0001$  entre los grupos No pre-expuesto y Pre-expuesto infundidos con solución salina y entre los grupos No pre-expuesto y Pre-expuesto infundidos con propranolol.

### 7.2.3. Intensidad de la reacción conductual.

En la Figura 21 se muestran las intensidades de reacción conductual que presentaron los animales en el día del entrenamiento de la evitación inhibitoria. Una prueba de Kruskal-Wallis para el análisis de varianza indica que no existe diferencia significativa entre los grupos ( $H[3] = 0.126$ ;  $p > 0.05$ ).



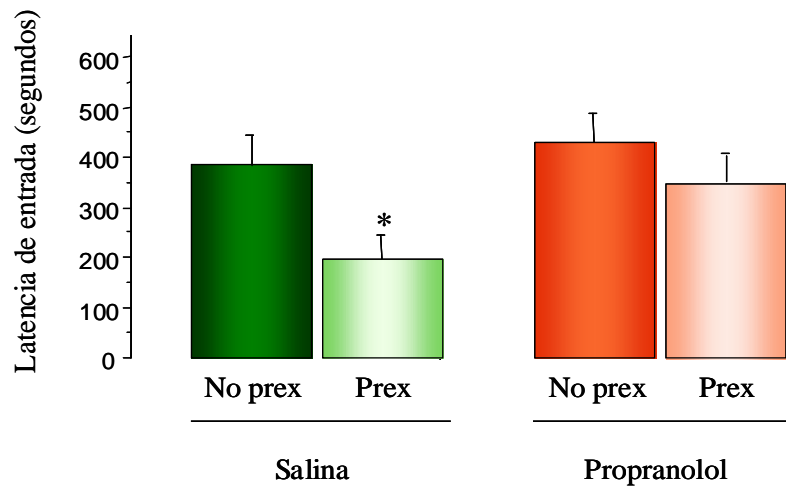
**Figura 21.** Gráfico de barras (media +/- error estándar) de las intensidades de reacción conductual en el día del entrenamiento de la evitación inhibitoria. Se muestran los grupos que recibieron solución salina y propranolol *inmediatamente después* de la pre-exposición.

### 7.2.4. Latencias de entrada en el día de la prueba de retención.

En la Figura 22 se muestran las latencias de entrada en el día de la prueba de retención. Una prueba de Kruskal-Wallis para el análisis de varianza indica que existe diferencia significativa entre los grupos ( $H[3]=8.986$ ,  $p < 0.05$ ). Una prueba *post hoc* U de Mann-Whitney muestra que:

- Existe diferencia significativa entre los grupos No pre-expuesto y Pre-expuesto infundidos con solución salina ( $U=135.5$ ,  $*p<0.05$ ).
- No existe diferencia significativa entre los grupos No pre-expuesto y Pre-expuesto infundidos con propranolol.
- No existen diferencias significativas entre los grupos No pre-expuestos.
- Existe diferencia significativa entre los grupos Salina pre-expuesto y Propranolol pre-expuesto ( $U=125.5$ ,  $*p<0.05$ ).

**LATENCIAS DURANTE LA PRUEBA**  
**INFUSIONES DESPUÉS DE LA PRE-EXPOSICIÓN**



**Figura 22.** Gráfico de barras (media +/- error estándar) de las latencias de entrada en el día de la prueba de retención. Se muestran los grupos que recibieron solución salina y propranolol *inmediatamente después* de la pre-exposición.  $*p<0.05$  entre los grupos No pre-expuesto y Pre-expuesto infundidos con solución salina y entre los grupos Pre-expuesto-salina y Pre-expuesto-propranolol.

## 8. DISCUSIÓN

Para determinar la participación de la noradrenalina a través de sus receptores beta en la corteza insular durante la formación de la memoria incidental de contexto, se llevó a cabo el trabajo experimental en dos partes: una de ellas, realizando las infusiones del antagonista beta-adrenérgico, propranolol, **antes** de la pre-exposición al contexto (compartimento oscuro) para observar el efecto del fármaco tanto en la etapa de adquisición como en la consolidación, tomando en cuenta que el propranolol tiene una vida media de alrededor de cuatro horas (Goodman et al., 1989). La segunda parte experimental, en la cual se realizaron las infusiones de propranolol **inmediatamente después** de la pre-exposición al contexto permitiría diseccionar el efecto de éste *únicamente* en la consolidación de la memoria incidental. De este modo, al hacer la comparación diferencial entre los resultados, podrían realizarse conjeturas acerca de qué efectos son específicos de la adquisición y cuáles lo son de la consolidación; sin embargo, los resultados obtenidos en ambos experimentos son muy similares. ¿Qué significa eso? ¿Qué le toca entonces a la adquisición y qué a la consolidación?

Las infusiones posteriores a la pre-exposición muestran un efecto claro y puro sobre la consolidación (se impide la inhibición latente).

Pero los resultados observados en el primer experimento (infusiones previas a la pre-exposición) pueden indicar una de dos cosas:

- a) existe un efecto en la adquisición y éste es idéntico al obtenido en la consolidación (siendo el resultado final el mismo) o bien,
- b) no existe efecto alguno en la adquisición y lo que se observa es producto de los efectos del fármaco en la consolidación.

Se sugieren estudios posteriores en los que se haga uso de pruebas de memoria a corto plazo, que permitan dilucidar los efectos en la adquisición.

A continuación se discutirán punto por punto los resultados obtenidos.



## **El día de la pre-exposición al compartimento oscuro**

Los grupos que recibieron propranolol antes de la pre-exposición no difieren en sus latencias de entrada al compartimento oscuro con respecto al grupo control; este resultado indica que el propranolol en la corteza insular no tuvo efecto por sí solo sobre la tendencia natural de las ratas a preferir los lugares oscuros ni en la locomoción. No podemos pasar por alto el hecho de no haber observado estos efectos, ya que existen estudios en los que se ha microinyectado directamente noradrenalina en estructuras como el hipocampo de ratas y se ha visto un incremento en la conducta exploratoria en pruebas como el campo abierto (Plaznik, Danysz y Kostowski, 1983), o una cantidad exagerada de actividad en ratas con depleción total de la noradrenalina cerebral (lesionadas con la toxina 6-hidroxidopamina; Murrough, Boss-Williams, Emery, Bonsall y Weiss, 2000). En este sentido, este resultado podría sugerir que la participación de los receptores beta-adrenérgicos en la corteza insular en esta tarea no se relaciona en lo absoluto con aspectos motores o de exploración.

Por otra parte, las ratas participantes en el segundo experimento (con infusiones después de la adquisición), tampoco difieren en sus latencias de entrada de la pre-exposición, tal como era de esperarse, porque hasta ese momento no habían recibido tratamiento alguno. Esto confirma básicamente que se parte de ratas con las mismas características, ratas que no difieren entre sí.

## **Dependencia de estado**

Cuando se le administra a un individuo alguna sustancia antes de la experiencia de aprendizaje es conveniente realizar controles de “dependencia de estado”. La dependencia de estado es el fenómeno en el cual la evocación de la información es mejor o resulta posible sólo si el individuo se encuentra en el mismo estado fisiológico y/o contexto sensorial que durante la fase de adquisición (Shulz, Sosnik, Ego, Haidarliu y Ahissar, 2000). En nuestro caso, cuando realizamos las infusiones antes de la pre-exposición, las ratas adquirieron la información bajo el efecto del propranolol; de modo tal que un control de dependencia de estado debería hacerse inyectando el fármaco también en el día del entrenamiento de la

evitación inhibitoria y en el día de la prueba de retención, para que todas las etapas ocurran bajo la misma condición. Se requiere de estudios posteriores para poder probar este efecto.

### **El día del entrenamiento de la evitación inhibitoria**

Los animales que por primera vez tienen contacto con un contexto tienden a experimentar neofobia, esto es, una renuencia a experimentar lo novedoso; esto es bien sabido no sólo para contextos, sino también por ejemplo para sabores novedosos. Conforme el estímulo se va haciendo más familiar, si éste no va seguido de consecuencias desfavorables, la repulsión va desapareciendo (Mason, Roberts y Fibiger, 1978). En el modelo que estamos utilizando, las ratas que por vez primera tienen la oportunidad de conocer el compartimento oscuro, tienen mayor renuencia a entrar que las ratas que ya han estado en él; es por esto que las latencias de entrada en el día de entrenamiento pueden ser utilizadas como un indicativo de la memoria de contexto formada por las ratas que fueron pre-expuestas el día anterior.

En los grupos control pre-expuestos, las latencias de entrada durante el entrenamiento son significativamente menores que las de los no pre-expuestos, indicando que han formado una memoria del contexto.

Las latencias de entrada de los animales tratados con propranolol (inyectado antes o después de la pre-exposición) no difieren con respecto a las de los controles; sugiriendo así que la actividad noradrenérgica a través de sus receptores beta en la corteza insular no es necesaria para la adquisición ni para la consolidación de la memoria incidental del contexto (ver discusión de la prueba de retención). Estos hallazgos parecieran contradecir la hipótesis planteada en este trabajo, según la cual, se esperaba la participación de este sistema en la corteza insular durante la formación de la memoria incidental. La hipótesis fue fundamentada en trabajos como el de Bermudez-Rattoni y colaboradores (2005), en el que demuestran la participación de la corteza insular de la rata en la formación de memorias no emotivas, como el reconocimiento de objetos; el de Miranda y colaboradores (2008), en el que demuestran mediante infusiones bilaterales de propranolol en la corteza insular, que la actividad

noradrenérgica a través de sus receptores beta en esta zona es necesaria para la adecuada formación de la memoria incidental del sabor; y el de Miranda y Bermudez-Rattoni (2007), en el que reportan la participación del sistema colinérgico de la corteza insular en la adquisición de la memoria incidental de contexto (utilizando, al igual que en el presente trabajo, el paradigma de la inhibición latente de la evitación inhibitoria).

### **Intensidad de la reacción conductual**

Es importante notar que tanto al hacer las infusiones antes como después de la pre-exposición, las reacciones presentadas en respuesta al choque eléctrico no difieren entre tratamientos ni entre animales pre-expuestos y no pre-expuestos, aún incluyendo los de los animales excluidos por presentar reacción conductual cero (no se muestran estos datos). Esto tiene relevancia para nuestro estudio por varias razones: 1) demuestra que la experiencia del aprendizaje aversivo es equivalente en todos los grupos y no representa motivo de sesgo; 2) cabía la posibilidad de que el sólo hecho de pre-exponer a los animales modificara su percepción del estímulo nocivo, pudiendo presentarse reacciones conductuales de intensidad mayor en los animales no pre-expuestos debido a un efecto potenciador de la neofobia -la cual representa un miedo innato a los estímulos novedosos- (Mason et al., 1978).

La corteza insular ha sido asociada con los aspectos sensoriales discriminativos nocivo / inocuo de la percepción de ciertos tipos de estimulación, como la térmica. Así también, se sabe que, particularmente el área agranular, podría estar implicada en la integración de los componentes sensoriales y cognitivos –atención, alerta, relevancia y memoria- de la percepción del dolor (Albanese, Duerden, Rainville y Duncan, 2007).

En el presente caso, sólo podemos decir que la infusión del antagonista beta-adrenérgico en la corteza insular realizada el día anterior, no afecta la percepción del estímulo nociceptivo.

## **El día de la prueba de retención**

Un experimento de inhibición latente consta básicamente de las siguientes fases: en la primera, hay una pre-exposición del estímulo que se va a condicionar (en este caso, el compartimento oscuro), en la segunda se lleva a cabo el condicionamiento (asociación del compartimento oscuro con un evento aversivo –choque eléctrico-) y posteriormente se realiza la prueba de retención, en la que se examinan los efectos de la pre-exposición sobre el condicionamiento. El efecto típico de inhibición latente es que el grupo pre-expuesto muestre un retardo o disminución en el condicionamiento, comparado con el grupo que no ha recibido pre-exposición (Robbins et al., 1993). En el presente trabajo, durante la prueba de retención, las latencias de entrada de los grupos control pre-expuestos son significativamente menores que las de los controles no pre-expuestos, confirmando el efecto de inhibición latente; esto nos hace suponer, de acuerdo a las teorías revisadas en los antecedentes, que quizás la pre-exposición interfirió en la adecuada asociación posterior del lado oscuro con el choque eléctrico (porque disminuyó la atención prestada al estímulo, por una interferencia proactiva o porque el compartimento oscuro no es lo suficientemente relevante entre todo el contexto - cuarto, cámara de evitación inhibitoria- como para ser asociado específicamente con el choque eléctrico) o bien, el compartimento oscuro no tiene un buen estatus predictivo respecto al choque debido a la pre-exposición (es decir, el mismo contexto ha tenido dos consecuencias opuestas: aversivo versus no relevante).

Sin embargo, entre los grupos pre-expuestos y no pre-expuestos que recibieron propranolol no existe diferencia significativa en las latencias de entrada; esto es, *no hay inhibición latente*. Esto tiene similitud con un estudio realizado por Miranda y colaboradores (2003), en el que inyectaron propranolol bilateralmente en la amígdala basolateral con el fin de observar el efecto en un modelo de inhibición latente del condicionamiento de aversión al sabor; sus resultados muestran una *atenuación* de la inhibición latente en las ratas que recibieron el fármaco. Otro reporte interesante es el que hacen Lorden, Rickert y Berry (1983), quienes someten a diversos experimentos de inhibición latente a animales en los que habían reducido la cantidad de monoaminas centrales por medio de lesión con toxinas; ellos sugieren que, mientras la serotonina se encarga de realizar los procesos de tipo habituación, la noradrenalina

podría tener influencias en mecanismos más complejos que comprenden la comparación de información nueva con la que ha sido previamente adquirida.

El efecto observado en este trabajo pudiera parecer contradictorio debido a los resultados obtenidos en el día del entrenamiento de la evitación inhibitoria; es decir, si para que se dé la inhibición latente es necesaria la formación de una memoria incidental del contexto (previa a su condicionamiento con el choque eléctrico) y el propranolol no afectó la formación de esta memoria, entonces *debería haber inhibición latente*. ¿Existe explicación para esto? La respuesta es sí, habría una propuesta alternativa que se puede explicar del modo siguiente:

Existe vasta literatura en la que se sugiere que la memoria de un evento que ha sido previamente experimentado se compone de dos procesos: el *recuerdo* (“recollection”) y la *familiaridad* (“familiarity”). El recuerdo incluye detalles específicos acerca del estímulo o evento, y la familiaridad se basa simplemente en saber si éste se ha presentado con anterioridad o no (Wais, Wisted, Hopkins y Squire, 2006). Hay evidencia conductual de que estos procesos tienen características diferentes tanto en la etapa de adquisición como en la evocación y se ha comprobado que dependen de distintas áreas cerebrales. Estudios de neuroimagen y neurofisiología en seres humanos, monos y ratas, indican que en el lóbulo temporal medial hay regiones que hacen contribuciones a uno u otro proceso; por ejemplo, se sugiere que la corteza parahipocampal contribuye al recuerdo, mientras que la corteza perirrinial contribuye y es necesaria para la familiaridad; respecto al hipocampo, existen discrepancias acerca de si contribuye a ambos procesos o solamente al recuerdo (Eichenbaum, Yonelinas y Ranganath, 2007; Wais et al., 2006). En otras áreas cerebrales, por ejemplo en la corteza prefrontal, también se ha encontrado esta parcelación de funciones, encontrándose que su región anterior medial se relaciona con el recuerdo, mientras que las regiones laterales, incluyendo la anterior y la dorsolateral, se asocian con la familiaridad (Yonelinas, Otten, Shaw y Rugg, 2005).

Los hallazgos citados en el párrafo anterior nos dan pauta a sugerir que en la corteza insular podría existir también una división de los procesos de recuerdo y familiaridad modulados, al menos en parte, por diferentes sistemas de neurotransmisión; proponiéndose

que el sistema colinérgico en esta región está enfocado a la codificación de la parte gruesa, la familiaridad; en tanto que el sistema noradrenérgico podría estar involucrado en la parte a detalle, el recuerdo. Esta propuesta podría estar fundamentada por los resultados obtenidos en los trabajos de Miranda y Bermudez-Rattoni (2007), Miranda et al. (2003, 2008) y los de la presente investigación.

Miranda y Bermudez-Rattoni (2007) estudiaron los efectos de un antagonista colinérgico muscarínico, la escopolamina, en la corteza insular durante la formación de la memoria incidental de contexto utilizando también el modelo de la inhibición latente de la evitación inhibitoria. Cuando el fármaco fue inyectado antes de la pre-exposición al compartimento oscuro, se impidió la formación de la memoria incidental del contexto y de la subsecuente inhibición latente; al administrarse inmediatamente después de la pre-exposición no tuvo efecto. De acuerdo a nuestro planteamiento, la acetilcolina estaría siendo necesaria para la adquisición (aunque no para la consolidación) de los rasgos gruesos del contexto, es decir, de la familiaridad; razón por la cual, en los animales tratados con escopolamina, no se forma esta parte del engrama del contexto y, al volverse a encontrar con él, en el día en que se realiza el condicionamiento con el choque eléctrico, se comportan del mismo modo que las ratas que no fueron pre-expuestas, como si les fuera novedoso. Esto les permite asociar el choque eléctrico y evocar en el día de la prueba, prácticamente del mismo modo que lo hubieran hecho si no hubieran tenido la pre-exposición; y así sucede, no hay inhibición latente.

En el presente trabajo podemos especular a través de los datos obtenidos lo siguiente: Los sujetos bajo el tratamiento con propranolol mostraron que la mayor parte del engrama de la memoria del contexto se encuentra intacta, ya que reconocen el contexto incidental aprendido, lo que sugiere que la actividad noradrenérgica no es esencial y que otros sistemas que permanecieron intactos durante la codificación, como el colinérgico, permiten la expresión de dicha memoria. Sin embargo, en la representación mental o engrama de ese contexto, al parecer existen componentes más sutiles que no pudieron ser adecuadamente consolidados<sup>3</sup> debido al bloqueo del propranolol sobre el sistema noradrenérgico en la etapa de la pre-exposición.

---

<sup>3</sup> Quizá tampoco adquiridos; remitirse al inicio de la discusión general, página 55.

En otras palabras, cuando el sujeto se encuentra por segunda vez con el contexto, tiene un sentido de la familiaridad de éste y se comporta del mismo modo que lo hace un animal pre-expuesto control; pareciendo que la memoria incidental no fue afectada por el bloqueo de los receptores adrenérgicos. No obstante, el engrama del contexto no está íntegro.

Para que se dé la inhibición latente se requiere, por definición, que el estímulo que se pre-expone y el que se condiciona sea el mismo. Si los animales tratados con propranolol tienen un engrama *diferente* (incompleto) del contexto pre-expuesto, éste no coincide del todo con el posterior engrama de ese contexto que ahora se ha condicionado. Por lo tanto, no se logra la inhibición latente a ese contexto y los animales se comportan del mismo modo que aquellos que no tuvieron pre-exposición.

Hasta la fecha, sólo existe un reporte (Miranda y Bermudez-Rattoni, 2007) acerca de la neuroquímica de la corteza insular que se encuentra implicada en la inhibición latente de la evitación inhibitoria; el cual muestra que los receptores muscarínicos colinérgicos participan en la adquisición de la memoria incidental de contexto y en la formación de la inhibición latente. Sin embargo, falta por conocer de qué manera contribuyen los demás neurotransmisores que se encuentran en esta estructura, a la formación de esta memoria incidental.

Estamos pues, ante un campo sumamente interesante y poco explorado dentro de las Neurociencias del aprendizaje y la memoria, sólo nos queda ser diligentes en pensar y trabajar.

## 9. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el presente trabajo permiten sugerir que: la noradrenalina, a través de sus receptores beta en la corteza insular,

- A) tiene una función diferencial durante la formación de la memoria incidental de contexto.
- B) es necesaria para la adecuada formación de la inhibición latente del condicionamiento de evitación inhibitoria.

### **Perspectivas:**

- ❖ Sería provechoso conocer qué papel juega la noradrenalina en la corteza insular en el entrenamiento convencional de la evitación inhibitoria.
- ❖ Por otra parte, si es que un antagonista  $\beta$ -adrenérgico está impidiendo la adecuada formación de la inhibición latente de la evitación inhibitoria, sería muy valioso el conocer el efecto de un agonista de los receptores beta.
- ❖ Más aún, la interpretación aquí propuesta de la función diferencial de los sistemas colinérgico y noradrenérgico en la corteza insular podría potencialmente hacerse extensiva para otros modelos de aprendizaje y memoria; para lo cual se propone la realización de farmacología en tareas como el reconocimiento de objeto, la memoria olfativa, etc.
- ❖ Por supuesto, sería preciso realizar también el experimento control de dependencia de estado.



### **Sugerencias:**

La dosis utilizada del antagonista beta-adrenérgico, propranolol, fue elegida en base a la revisión bibliográfica; sin embargo, hubiera sido importante realizar una curva dosis-respuesta.

## 10. REFERENCIAS

Afifi AK, Bergman RA. 2005. Neuroanatomía funcional. Texto y atlas. 2ª ed. México, D.F.: McGraw Hill.

Albanese MC, Duerden EG, Rainville P y Duncan GH. 2007. Memory traces of pain in human cortex. *J. Neurosci.* 27, 4612-4620.

Barros DM, Mello e Souza T, De David T, Choi H, Aguzzoli A, Madche C, Ardenghi P, Medina JH e Izquierdo I. 2001. Simultaneous modulation of retrieval by dopaminergic D(1), beta-noradrenergic, serotonergic-1A and cholinergic muscarinic receptors in cortical structures of the rat. *Behav. Brain Res.* 124, 1-7.

Berman DE, Hazvi S, Neduva V y 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. *J. Neurosci.* 20,7017-7023.

Bermudez-Rattoni F y McGaugh JL. 1991. Insular cortex and amygdala lesions differentially affect acquisition on inhibitory avoidance and conditioned taste aversion. *Brain Res.* 549, 165-170.

Bermudez-Rattoni F y Prado-Alcalá RA. 2001. Memoria. Dónde reside y cómo se forma. México, D.F.: Editorial Trillas.

Bermudez-Rattoni F, Introini-Collison IB y McGaugh JL. 1991. Reversible inactivation of the insular cortex by tetrodotoxin produces retrograde and anterograde amnesia for inhibitory avoidance and spatial learning. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 88, 5379-5382.

Bermudez-Rattoni F, Okuda S, Roozendaal B y McGaugh JL. 2005. Insular cortex is involved in consolidation of object recognition memory. *Learn. Mem.* 12, 447-449.

Bornhövd K, Quante M, Glauche V, Bromm B, Weiller C y Büchel C. 2002. Painful stimuli evoke different stimulus-response functions in the amygdala, prefrontal, insula and somatosensory cortex: a single-trial fMRI study. *Brain* 125, 1326-1336.

Bures J, Bermudez-Rattoni F y Yamamoto T. 1998. Conditioned taste aversion. Memory of a special kind. New York: Oxford University Press.

Cabib S, Ventura R y Puglisi-Allegra S. 2002. Opposite imbalances between mesocortical and mesoaccumbens dopamine responses to stress by the same genotype depending on living conditions. *Behav. Brain Res.* 129, 179-185.

Cameron OG, Huang GC, Nichols T y Koeppe RA. 2007. Reduced  $\gamma$ -aminobutyric acid<sub>A</sub>-benzodiazepine binding sites in insular cortex of individuals with panic disorder. *Arch. Gen. Psychiatry* 64, 793-800.

Chavez ME, Salado-Castillo R, Sánchez-Alavez M, Quirarte GL y Prado-Alcalá RA. 1995. Post-training injection of GABAergic antagonists into the striatum produces retrograde amnesia. *Neurobiol. Learn. Mem.* 63, 296-300.

Cobos-Zapiain GG, Salado-Castillo R, Sánchez-Alavez M, Quirarte GL, Roldan-Roldan G, Díaz del Guante MA y Prado-Alcalá RA. 1996. High level of footshock during inhibitory avoidance training prevents amnesia induced by intranigral injection of GABA antagonists. *Neurobiol. Learn. Mem.* 65, 202-206.

Cooper JR, Bloom FE y Roth RH. 2003. *The biochemical basis of neuropharmacology*. 8<sup>a</sup> ed. New York: Oxford University Press.

Coutureau E, Galani R, Gosselin O, Majchrzak M y Di Scala G. 1999. Entorhinal but not hippocampal or subicular lesions disrupt latent inhibition in rats. *Neurobiol. Learn. Mem.* 72, 143-157.

Cumming P y Vincent SR. 1993. Altered histamine H3 binding in rat forebrain after reserpine treatment. *Brain Res.* 602, 53-56.

Day HE, Campeau S, Watson SJ y Akil H. 1997. Distribution of alpha 1a-, alpha 1b- and alpha 1d- adrenergic receptor mRNA in the rat brain and spinal cord. *J. Chem. Neuroanat.* 13, 115-139.

Díaz del Guante MA, Rivas M, Prado-Alcalá RA y Quirarte GL. 2004. Amnesia produced by pre-training infusion of serotonin into the substantia nigra. *Neuroreport* 15, 2527-2529.

Dudai, Y. 1991. *The neurobiology of memory. Concepts, Findings, Trends.* New York: Oxford University Press.

Dudai, Y. 2002. *Memory from A to Z. Keywords, Concepts, and Beyond.* New York: Oxford University Press.

Eichenbaum H, Yonelinas AR y Ranganath C. 2007. The medial temporal lobe and recognition memory. *Annu. Rev. Neurosci.* 30,123-152.

Evans JM, Bey V, Burkey AR y Commons KG. 2007. Organization of endogenous opioids in the rostral agranular insular cortex of the rat. *J. Comp. Neurol.* 500, 530-541.

Ferry B, Roozendaal B y McGaugh L. 1999. Basolateral amygdala noradrenergic influences on memory storage are mediated by an interaction between  $\beta$ - and  $\alpha$ 1-adrenoceptors. *J. Neurosci.* 19, 5119-5123.

Friedman DP, Murray EA, O'Neill JB y Mishkin M. 1986. Cortical connections of the somatosensory fields of the lateral sulcus of macaques: evidence for a corticolimbic pathway for touch. *J. Comp. Neurol.* 252, 323-347.

Gal G, Mendlovic S, Bloch Y, Beitler G, Levkovitz Y, Young A, Feldon J y Ratzoni G. 2005. Learned irrelevance is disrupted in first-episode but not chronic schizophrenia patients. *Behav. Brain Res.* 159, 267-275.

García EL. 2005. *Psicología general*. 2ª ed. México, D.F.: Grupo Patria Cultural.

Gatley SJ, Ding YS, Brady D, Gifford AN, Dewey SL, Carroll FI, Fowler JS y Volkow ND. 1998. In vitro and ex vivo autoradiographic studies of nicotinic acetylcholine receptors using [18F]fluronochloroepibatidine in rodent and human brain. *Nucl. Med. Biol.* 25, 449-454.

Goodman A, Goodman L, Rall T y Murad F. 1989. *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. 7ª ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana.

Howell DC. 2004. *Fundamental statistics for the behavioural sciences*. 5ª ed. Belmont, CA: Thomson. Brooks/Cole.

Hurd YL, Suzuki M y Sedvall GC. 2001. D1 and D2 dopamine receptor mRNA expression in whole hemisphere sections of the human brain. *J. Chem. Neuroanat.* 22, 127-137.

Introini-Collison IB, Castellano C y McGaugh JL. 1994. Interaction of GABAergic and beta-noradrenergic drugs in the regulation of memory storage. *Behav. Neural Biol.* 61, 150-155.

Introini-Collison IB, Dalmaz C y McGaugh JL. 1996. Amygdala beta-noradrenergic influences on memory storage involve cholinergic activation. *Neurobiol. Learn. Mem.* 65, 57-64.

Izquierdo I, Da Cunha C, Rosat R, Jerusalinsky D, Ferreira M y Medina J. 1992. Neurotransmitter receptors involved in post-training memory processing by the amygdala, medial septum, and hippocampus of the rat. *Behav. Neural Biol.* 58, 16-26.

Jeanblanc J, Peterschmitt Y, Hoeltzel A y Louilot A. 2004. Influence of the entorhinal cortex on accumbal and striatal dopaminergic responses in a latent inhibition paradigm. *Neuroscience* 128, 187-200.

Jerusalinsky D, Ferreira MB, Walz R, Da Silva RC, Bianchin M, Ruschel AC, Zanatta MS, Medina JH e Izquierdo I. 1992. Amnesia by post-training infusion of glutamate receptor antagonists into the amygdala, hippocampus, and entorhinal cortex. *Behav. Neural Biol.* 58, 76-80.

Kaasinen V, Aalto S, Nagren K y Rinne JO. 2004. Insular dopamine D2 receptors and novelty seeking personality in Parkinson´s disease. *Mov. Disord.* 19, 1348-1351.

Kandel E, Schwartz J y Jessell T. 2001. *Principios de Neurociencia*. 4ª ed. Madrid: McGraw Hill-Interamericana.

Knuth UA, Sikand GS y Casanueva FF. 1983. Changes in  $\beta$ -endorphin content in discrete areas of the hypothalamus throughout proestrus and diestrus of the rat. *Life Sci.* 33, 1443-1450.

Krushel LA y Van der Kooy D. 1988. Visceral cortex: integration of the mucosal senses with limbic information in the rat agranular insular cortex. *J. Comp. Neurol.* 270, 39-54.

Lalumiere RT, Nguyen LT y McGaugh JL. 2004. Post-training intrabasolateral amygdala infusions of dopamine modulate consolidation of inhibitory avoidance memory: involvement of noradrenergic and cholinergic systems. *Eur. J. Neurosci.* 20, 2804-2810.

Liang KC, Hu SJ y Chang SC. 1996. Formation and retrieval of inhibitory avoidance memory: differential roles of glutamate receptors in the amygdala and medial prefrontal cortex. *Chin. J. Physiol.* 39, 155-166.

López-García JC, Bermudez-Rattoni F y Tapia R. 1990. Release of acetylcholine, gamma-aminobutyrate, dopamine and glutamate, and activity of some related enzymes, in rat gustatory neocortex. *Brain Res.* 523, 100-104.

López-García JC, Fernández-Ruiz J, Escobar ML, Bermudez-Rattoni F y Tapia R. 1993. Effects of excitotoxic lesions of the nucleus basalis magnocellularis on conditioned taste aversion and inhibitory avoidance in the rat. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 45, 147-152.

Lorden JF, Rickert EJ y Berry DW. 1983. Forebrain monoamines and associative learning: I. Latent inhibition and conditioned inhibition. *Behav. Brain Res.* 9, 181-199.

Lubow RE y De la Casa G. 2002. Latent inhibition as a function of schizophrenia. *Biol. Psychol.* 59, 69-86.

Malin EL y McGaugh JL. 2006. Differential involvement of the hippocampus, anterior cingulate cortex, and basolateral amygdala in memory for context and footshock. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 103, 1959-1963.

Mason ST, Roberts DC y Fibiger HC. 1978. Noradrenaline and neophobia. *Physiol. Behav.* 21, 353-361.

McGaugh JL. 2004. The amygdala modulates the consolidation of memories of emotionally arousing experiences. *Annu. Rev. Neurosci.* 27, 1-28.

Mello e Souza T, Rodrigues C, Souza MM, Vinade E, Coitinho A, Choi H e Izquierdo I. 2001. Involvement of the serotonergic type 1A (5-HT1A) receptor in the agranular insular cortex in the consolidation of memory for inhibitory avoidance in rats. *Behav. Pharmacol.* 12, 349-353.

Mesulam MM y Mufson EJ. 1982. Insula of the old world monkey. I. Architectonics in the insulo-orbito-temporal component of the paralimbic brain. *J. Comp. Neurol.* 212, 1-22.

Miranda MI y Bermudez-Rattoni F. 1999. Reversible inactivation of the nucleus basalis magnocellularis induces disruption of cortical acetylcholine release and acquisition, but not retrieval, of aversive memories . Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 96, 6478-6482.

Miranda MI y Bermudez-Rattoni F. 2007. Cholinergic activity in the insular cortex is necessary for acquisition and consolidation of contextual memory. Neurobiol. Learn. Mem. 87, 343-351.

Miranda MI y McGaugh JL. 2004. Enhancement of inhibitory avoidance and conditioned taste aversion memory with insular cortex infusions of 8-Br-cAMP: involvement of the basolateral amygdala. Learn. Mem. 11, 312-317.

Miranda MI, LaLumiere RT, Buen TV, Bermudez-Rattoni F y McGaugh JL. 2003. Blockade of noradrenergic receptors in the basolateral amygdala impairs taste memory. Eur. J. Neurosci. 18, 2605-2610.

Miranda MI, Rodríguez-García G, Reyes-López JV, Ferry B y Ferreira G. 2008. Differential effects of  $\beta$ -adrenergic receptor blockade in basolateral amygdala or insular cortex on incidental and associative taste learning. Neurobiol. Learn. Mem. 90, 54-61.

Molodtsova GF. 2003. Differences in serotonin and dopamine metabolism in the rat brain in latent inhibition. Neurosci. Behav. Physiol. 33, 217-222.

Murrough JW, Boss-Williams KA, Emery MS, Bonsall RW y Weiss JM. 2000. Depletion of brain norepinephrine does not reduce spontaneous ambulatory activity of rats in the home cage. Brain Res. 331, 125-130.

Myers DG. 2001. Psychology. 6<sup>a</sup> ed. New York: Worth Publishers.



Nicholas AP, Pieribone V y Hôkfelt T. 1993a. Distributions of mRNAs for alpha-2 adrenergic receptor subtypes in rat brain: an in situ hybridization study. *J. Comp. Neurol.* 328, 575-594.

Nicholas AP, Pieribone V y Hôkfelt T. 1993b. Cellular localization of messenger RNA for beta-1 and beta-2 adrenergic receptors in rat brain: an in situ hybridization study. *Neuroscience* 56, 1023-1039.

Ogawa H, Hasegawa K, Otawa S e Ikeda I. 1998. GABAergic inhibition and modifications of taste responses in the cortical taste area in rats. *Neurosci. Res.* 1998, 85-95.

Otawa S, Takagi K y Ogawa H. 1995. NMDA and non-NMDA receptors mediate taste afferent inputs to cortical taste neurons in rats. *Exp. Brain Res.* 106, 391-402.

Palchadhuri M y Flügge G. 2005. 5-HT1A receptor expression in pyramidal neurons of cortical and limbic brain regions. *Cell Tissue Res.* 321, 159-172.

Paxinos G. 1995. *The Rat Nervous System*. 2<sup>a</sup> ed. San Diego: Academic Press.

Paxinos G y Watson C. 1998. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. 4<sup>a</sup> ed. New York: Academic Press.

Pérez-Ruiz C y Prado-Alcalá RA. 1989. Retrograde amnesia induced by lidocaine injection into the striatum: protective effect of the negative reinforcer. *Brain Res. Bull.* 22, 599-603.

Perlis RH, Holt DJ, Smoller JW, Blood AJ, Lee S, Kim BW, Lee MJ, Sun M, Makris N, Kennedy DK, Rooney K, Dougherty DD, Hoge R, Rosenbaum JF, Fava M, Gusella J, Gasic GP y Breiter HC. 2008. Association of a polymorphism near CREB1 with differential aversion processing in the insula of healthy participants. *Arch. Gen. Psychiatry* 65, 882-892.

Peterschmitt Y, Hoeltzel A y Louilot A. 2005. Striatal dopaminergic responses observed in latent inhibition are dependent on the hippocampal ventral subicular region. *Eur. J. Neurosci.* 22, 2059-2068.

Plaznik A, Danysz W y Kostowski W. 1983. Some behavioral effects of microinjections of noradrenaline and serotonin into the hippocampus of the rat. *Physiol. Behav.* 31, 625-631.

Prado-Alcalá RA. 1994. El estriado como almacén temporal de la memoria. En F. Ostrosky-Solís y A. Ardila (Eds.), *Cerebro y lenguaje. Perspectivas en la organización cerebral del lenguaje y de los procesos cognoscitivos*. Pp. 211-216. México, D.F.: Editorial Trillas.

Prado-Alcalá RA y Quirarte GL. 1998. Estudios farmacológicos acerca de la amnesia experimental. En M. Martínez-Gómez y J. Velázquez-Moctezuma (Coords.), *Bases neurobiológicas y ecológicas de la conducta*. Pp. 425-431. México: Universidad Autónoma de Tlaxcala y Universidad Autónoma Metropolitana.

Prado-Alcalá RA, Ruiloba MI, Rubio L, Solana-Figueroa R, Medina C, Salado-Castillo R y Quirarte GL. 2003. Regional infusions of serotonin into the striatum and memory consolidation. *Synapse* 47, 169-175.

Ramírez-Lugo L, Miranda MI, Escobar ML, Espinosa E y Bermudez-Rattoni F. 2003. The role of cortical cholinergic pre- and post-synaptic receptors in taste memory formation. *Neurobiol. Learn. Mem.* 79, 184-193.

Rivera A, Peñafiel A, Megías M, Agnati LF, López-Téllez JF, Gago B, Gutiérrez A, De la Calle A y Fuxe K. 2008. Cellular localization and distribution of dopamine D(4) receptors in the rat cerebral cortex and their relationship with the cortical dopaminergic and noradrenergic nerve terminal networks. *Neuroscience* 155, 997-1010.

Robbins TW, Muir JL, Killcross AS y Pretsell D. 1993. Methods for assessing attention and stimulus control in the rat. En A. Sahgal (Ed.), Behavioural Neuroscience. A practical approach. Vol. I. Pp. 13-47. Oxford University Press.

Roesler R, Reolon G, Luft T, Martins M, Schröder N, Vianna M y Quevedo J. 2005. NMDA receptors mediate consolidation of contextual memory in the hippocampus after context preexposure. *Neurochem. Res.* 30, 1407-1411.

Saper CB. 1982. Convergence of autonomic and limbic connections in the insular cortex of the rat. *J. Comp. Neurol.* 210, 163-173.

Sato H, Shimanuki Y, Saito M, Toyoda H, Nokubi T, Maeda Y, Yamamoto T y Kang Y. 2008. Differential columnar processing in local circuits of barrel and insular cortices. *J. Neurosci.* 28, 3076-3089.

Schiller D y Weiner I. 2004. Lesions to the basolateral amygdala and the orbitofrontal cortex but not to the medial prefrontal cortex produce an abnormally persistent latent inhibition in rats. *Neuroscience* 128, 15-25.

Schiller D y Weiner I. 2005. Basolateral amygdala lesions in the rat produce an abnormally persistent latent inhibition with weak preexposure but not with context shift. *Behav. Brain Res.* 163, 115-121.

Sewards TV y Sewards M. 2002. Separate, parallel sensory and hedonic pathways in the mammalian somatosensory system. *Brain Res. Bull.* 58, 243-260.

Shi C-J y Cassell MD. 1998. Cortical, thalamic, and amygdaloid connections of the anterior and posterior insular cortices. *J. Comp. Neurol.* 399, 440-468.

Shulz DE, Sosnik R, Ego V, Haidarliu S y Ahissar E. 2000. A neuronal analogue of state-dependent learning. *Nature* 403, 549-553.

Siegel GJ, Albers RW, Brady ST y Price DL. 2006. Basic neurochemistry. Molecular, cellular and medical aspects. 7<sup>a</sup> ed. Elsevier Academic Press.

Squire LR y Kandel ER. 2000. Memory. From mind to molecules. New York: Scientific American Library.

Squire L, Bloom FE, McConnell SK, Roberts JL, Spitzer NC y Zigmond MJ. 2003. Fundamental neuroscience. San Diego: Academic Press.

Stanford SC. 2001. Noradrenaline. En RA. Webster (Ed.), Neurotransmitters, Drugs and Brain Function. Pp. 163-185. England: John Wiley and Sons.

Svenningsson P, Hall H, Sedvall G y Fredholm BB. 1997. Distribution of adenosine receptors in the postmortem human brain: an extended autoradiographic study. *Synapse* 27, 322-335.

Svingos AL, Cheng PY, Clarke CL y Pickel VM. 1995. Ultrastructural localization of delta-opioid receptor and Met5-enkephalin immunoreactivity in rat insular cortex. *Brain Res.* 700, 25-39.

Sweatt JD. 2003. Mechanisms of memory. New York: Elsevier Academic Press.

Tohyama M y Takatsuji K. 1998. Atlas of neuroactive substances and their receptors in the rat. Oxford: Oxford University Press.

Unnerstall JR, Kopajtic TA y Kuhar MJ. 1984. Distribution of alpha 2 agonist binding sites in the rat and human central nervous system: analysis of some functional, anatomic correlates of the pharmacologic effects of clonidine and related adrenergic agents. *Brain Res.* 319, 69-101.

Van den Berg CL, Pijlman FT, Koning HA, Kergaarde L, Van Ree JM y Spruijt BM. 1999. Isolation changes the incentive value of sucrose and social behaviour in juvenile and adult rats. *Behav. Brain Res.* 106, 133-142.

Vidales I, Leal I y Vidales F. 2004. *Psicología general*. 2ª ed. México, D.F.: Editorial Limusa.

Wai M, Shi C, Kwong WH, Zhang L, Lam WP y Yew DT. 2008. Development of the human insular cortex: differentiation, proliferation, cell death, and appearance of 5HT-2A receptors. *Histochem. Cell Biol.*, en prensa.

Wais PE, Wisted JT, Hopkins RO y Squire LR. 2006. The hippocampus supports both the recollection and the familiarity components of recognition memory. *Neuron* 49, 459-466.

Weiner I. 2003. The “two-headed” latent inhibition model of schizophrenia: modeling positive and negative symptoms and their treatment. *Psychopharmacology* 169, 257-297.

Wright CI y Groenewegen HJ. 1996. Patterns of overlap and segregation between insular cortical, intermediodorsal thalamic and basal amygdaloid afferents in the nucleus accumbens of the rat. *Neuroscience* 73, 359-373.

Yamamoto T, Azuma S y Kawamura Y. 1984. Functional relations between the cortical gustatory area and the amygdala: electrophysiological and behavioral studies in rats. *Exp. Brain Res.* 56, 23-31.

Yasui Y, Saper CB y Cechetto DF. 1989. Calcitonin gene-related peptide immunoreactivity in the visceral sensory cortex, thalamus, and related pathways in the rat. *J. Comp. Neurol.* 290, 487-501.

Yonelinas AP, Otten LJ, Shaw KN y Rugg MD. 2005. Separating the brain regions involved in recollection and familiarity in recognition memory. *J. Neurosci.* 25, 3002-3008.

Young AM, Joseph MH y Gray JA. 1993. Latent inhibition of conditioned dopamine release in rat nucleus accumbens. *Neuroscience* 54, 5-9.

Zalstein-Orda N y Lubow RE. 1995. Context control of negative transfer induced by preexposure to irrelevant stimuli: latent inhibition in humans. *Learn. Motiv.* 26, 11-28.

Zurkovsky L, Brown SL, Boyd S, Fell JA y Korol, DL. 2007. Estrogen modulates learning in female rats by acting directly at distinct memory systems. *Neuroscience* 144, 26-37.

## ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Esquema de la caja de evitación inhibitoria.....
- Figura 2.** Diagrama de la corteza insular en la rata.....
- Figura 3.** Estructura de la noradrenalina.....
- Figura 4.** Ruta de síntesis de la noradrenalina.....
- Figura 5.** Principales vías noradrenérgicas en el cerebro de la rata.....
- Figura 6.** Vías de señalización principales de los receptores adrenérgicos.....
- Figura 7.** Densidad de receptores beta-adrenérgicos en la corteza insular.....
- Figura 8.** Estructura del propranolol.....
- Figura 9.** Equipo de evitación inhibitoria.....
- Figura 10.** Protocolo de la inhibición latente de la evitación inhibitoria.....
- Figura 11** Localización de los inyectores en la corteza insular.....
- Figura 12.** Ejemplos de histologías rechazadas.....
- Figura 13.** Esquema de la etapa en la que se realizaron las infusiones para observar los efectos en la adquisición/consolidación.....
- Figura 14.** Latencias de entrada en la pre-exposición. Tratamiento *previo* a la pre-

exposición.....

**Figura 15.** Latencias de entrada en el entrenamiento de la evitación inhibitoria. Tratamiento *previo* a la pre-exposición.....

**Figura 16.** Gráfico de las intensidades de la reacción conductual. Tratamiento *previo* a la pre-exposición.....

**Figura 17.** Latencias de entrada en la prueba de retención. Tratamiento *previo* a la pre-exposición.....

**Figura 18.** Esquema que muestra la etapa en que se realizaron las infusiones para observar los efectos sólo en la consolidación.....

**Figura 19.** Latencias de entrada en la pre-exposición. Tratamiento *inmediato posterior* a la pre-exposición.....

**Figura 20.** Latencias de entrada en el entrenamiento de la evitación inhibitoria. Tratamiento *inmediato posterior* a la pre-exposición.....

**Figura 21.** Gráfico de barras de las intensidades de la reacción conductual. Tratamiento *inmediato posterior* a la pre-exposición.....

**Figura 22.** Latencias de entrada en la prueba de la retención. Tratamiento *inmediato posterior* a la pre-exposición.....



## ÍNDICE DE TABLAS

**Tabla 1.** Principales proyecciones aferentes y eferentes de la corteza insular

**Tabla 2.** Descripción de los grupos utilizados en el protocolo experimental

## APÉNDICE 1

### TINCIÓN DE VIOLETA DE CRESILO

Para los cuerpos celulares.

#### REACTIVOS:

- Agua desionizada
- Etanol absoluto (JT Baker, México)
- Etanol al 96 % (DIMEBA, México)
- 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 (JT Baker, México)
- Xilol / Mezcla de xilenos (JT Baker, México)
- Violeta de cresilo (Sigma, México) al 0.1 % en agua desionizada, acidificada con 10 gotas de ácido acético glacial por cada 500 ml de solución
- Resina sintética o Permount Histological Mounting Medium (Fisher chemicals, New Jersey USA)

#### PROCEDIMIENTO:

Tren de tinción

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.