



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

---

---

FACULTAD DE PSICOLOGÍA

La actualización de la memoria de aversión requiere  
de la síntesis de proteínas en la corteza insular y la  
amígdala central

*T E S I S*

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

*LICENCIADO EN PSICOLOGÍA*

P R E S E N T A :

*ARREGUÍN MARTÍNEZ*

*JOSÉ LUIS*

DIRECTOR DE TESIS: DR. CARLOS DE JESÚS RODRÍGUEZ ORTIZ  
REVISOR DE TESIS: DR. CÉSAR CASASOLA CASTRO



México, D.F.

2008



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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

## **Agradecimientos**

Este trabajo se realizó en el laboratorio de Neurobiología del Aprendizaje y la Memoria del Instituto de Fisiología Celular de la Universidad Nacional Autónoma de México, con el apoyo económico de Consejo Nacional de Ciencia Tecnología (CONACYT) 60478 y de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA-UNAM) IN220706-3.

Agradezco al Dr. Federico Bermúdez Rattoni, por abrirme las puertas de su laboratorio y brindarme su confianza así como por sus valiosos consejos.

Al Dr. Carlos de Jesús Rodríguez Ortiz que fue el director de esta tesis y la mente detrás de este trabajo.

A la M en C. Paola de la Torre García por su apoyo, y por sus sabios consejos en la realización de este trabajo.

Al Dr. César Casasola Castro, al Dr. Víctor Ramírez Amaya, a la Dra. Martha Lilia Escobar Ortiz y a la M en C Ariana Israela Balderas Moreno por haber revisado esta tesis y haberla enriquecido con sus comentarios.

A todos mis compañeros en el laboratorio. Sinuhé, Paulina, Azul, Julio, Cristina, Consuelo, Pascal, Pamela, Luis Royero, Kioko, Ilse, Vanesa, Roxana, Lucia, Ernesto, Katia, Fernando, Daniel, Karla.

Al señor Oreste Carbajal por su inigualable apoyo técnico.

---

## Agradecimientos

A mi madre Josefina y mi padre José Luis, quienes me regalaron la vida y me enseñaron lo que cuesta ganarse un peso.

A mis hermanas Erika y María.

A mi Tía Margarita por ser como mi segunda madre.

A mis primos Jorge, Fredi, Chucho, Lupe, Miguel, Tulia, Rosita y a todas sus familias.

A mi Myr por estar ahí, cerca de mí, y ser mi mundo.

A mis grandes camaradas el Abuelo, el Cometa, el Choro, el Prángana, el George boy, el Totoro, Erandi, Miguel Ángel Pérez, Luz, Ángeles y Miguel Ángel Hofmann.

A mis cuates de la Fac, Silvestre, Mirna Yoselyn, Irene, Jacqueline García, el Efras, el Panda, Roberto Carlos, Ana, Antaar, Rodolfo, el Trujo, Fedia, Laura, Nancy, Karla, Karina, Jacqueline Bonilla, Iván, Nitzia, Lucero, Erika, Nayeli, Alicia y los que me faltaron, sin ustedes el paso por la Facultad no hubiera sido lo que fue.

A la memoria de Maquito, mi Tío Lalo y mi primo Lalo. Se les recuerda y extraña.

---

- ¿Rumbo capitán?

- Kirk: Segunda estrella a la derecha, todo recto hacia el mañana.

---

---

## Índice

|  |      |
|--|------|
| Abreviaciones .....  | vii  |
| RESUMEN .....  | viii |
| I. Antecedentes .....  | 1    |
| 1.1. Memoria y cerebro .....   | 1    |
| 1.2. La Memoria .....  | 2    |
| 1.3. La clasificación de la memoria .....                            | 3    |
| II. LA CONSOLIDACIÓN .....   | 5    |
| 2.1. La teoría de la consolidación .....                             | 5    |
| 2.2. Síntesis de proteínas .....                                     | 7    |
| 2.3. La reconsolidación .....  | 9    |
| 2.4 Inconvenientes con la reconsolidación .....                      | 14   |
| 2.5 Las diferencias entre la consolidación y la reconsolidación..... | 17   |
| 2.6 La actualización de la memoria .....                             | 18   |
| III. MEMORIA GUSTATIVA.....  | 21   |
| 3.1 Condicionamiento de aversión a los sabores .....                 | 21   |
| 3.2 La dualidad de la memoria de sabor .....                         | 24   |
| 3.3 Los sustratos neuronales de la memoria de sabor.....             | 26   |
| 3.4 La corteza insular y la amígdala .....                           | 27   |
| IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA, HIPÓTESIS Y OBJETIVO ...             | 29   |
| 4.1 Planteamiento del problema.....                                  | 29   |
| 4.2 Hipótesis.....   | 30   |
| 4.3 Objetivo general .....   | 30   |
| 4.4 Objetivos particulares .....                                     | 30   |
| 4.4.1. Objetivo 1.....   | 30   |
| 4.4.2. Objetivo 2.....   | 31   |
| 4.4.3. Objetivo 3.....   | 31   |

---

---

|  |    |
|--|----|
| V. METODOLOGÍA .....   | 31 |
| 5.1 Sujetos .....  | 31 |
| 5.2 Cirugía de implantación de cánulas .....   | 32 |
| 5.3 Procedimiento de la microinyección.....  | 32 |
| 5.4 Fármacos .....   | 33 |
| 5.5. Procedimientos conductuales.....  | 33 |
| 5.5.1. Condicionamiento de aversión al sabor (CAS) .....   | 33 |
| 5.6. Procedimientos histológicos .....   | 34 |
| 5.7 Análisis de resultados.....  | 34 |
| VI. EXPERIMENTOS .....   | 37 |
| 6.1. Experimento 1. Inhibición de la síntesis de proteínas en la corteza insular, amígdala central o amígdala basolateral en condiciones donde se integra información a la memoria. ....                               | 38 |
| 6.1.1. Protocolo de entrenamiento de CAS.....  | 38 |
| 6.1.2. Análisis de datos .....   | 39 |
| 6.1.3. Resultados .....  | 40 |
| 6.2. Experimento 2. Inhibición de la síntesis de proteínas en la corteza insular y la amígdala central o en la corteza insular y la amígdala basolateral en condiciones donde se integra información a la memoria..... | 42 |
| 6.2.1. Protocolo de entrenamiento de CAS.....  | 42 |
| 6.2.2. Análisis de datos .....   | 43 |
| 6.2.3. Resultados .....  | 43 |
| 6.3. Experimento 3. Inhibición de la síntesis de proteínas en la corteza insular y la amígdala central en condiciones de nivel máximo de aprendizaje. ....   | 46 |
| 6.3.1. Protocolo de entrenamiento de CAS.....  | 46 |
| 6.3.2. Análisis de datos .....   | 47 |
| 6.3.3. Resultados .....  | 47 |
| VII DISCUSIÓN .....  | 49 |

---

---

|   |    |
|---|----|
| 7.1 La síntesis de proteínas conjunta en la corteza insular y la amígdala central es indispensable para consolidar a la memoria de aversión gustativa. ....   | 49 |
| 7.2 Mecanismos celulares implicados en la consolidación de la memoria de aversión .....   | 50 |
| 7.2.1 Receptores a glutamato .....  | 50 |
| 7.2.2. Síntesis de proteínas.....   | 53 |
| 7.3 La síntesis de proteínas en la corteza insular o la amígdala central es suficiente para mantener en el almacén de largo plazo a la memoria de aversión gustativa cuando a ésta se le incorpora información..... | 54 |
| 7.4 La inhibición de la síntesis de proteínas en la ausencia de información actualizada.....  | 56 |
| 7.5 Conclusiones .....  | 57 |
| XI. REFERENCIAS.....  | 58 |

---

## Abreviaciones

**ABL:** Amígdala basolateral

**AC:** Amígdala central

**ACSF:** Líquido cerebroespinal artificial (*Artificial cerebrospinal fluid*)

**AMPA:** ácido  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5metilisoazol-4-propionico

**AN:** Atenuación de la neofobia

**AP-5:** 2-amino-5-fosfonopentanoato

**BDNF:** Brain-derived neurotrophic factor

**CAS:** Condicionamiento de aversión al sabor

**CEC:** Choques electroconvulsivos

**CREB:** cAMP response element binding

**EC:** Estímulo condicionado

**EI:** Estímulo incondicionado

**LB:** Línea base

**LiCl:** Cloruro de litio

**LNacc:** Núcleo accumbens lateral

**MCP:** Memoria a corto plazo

**MLP:** Memoria a largo plazo

**Nacc:** Núcleo accumbens

**mARN:** Ácido ribonucleíco mensajero

**mNacc:** Núcleo accumbens medial

**NBM:** Núcleo basal magnocelular

**NMDA:** N-metil D-aspartato

**NPB:** Núcleo parabraquial pontino

**NTS:** Núcleo del tracto solitario

**PLP:** Potenciación a largo plazo

**TMS:** Trazo de memoria del sabor

**VDS:** Estimulo potencialmente peligroso

**VTA:** Área ventral tegmental

---

## RESUMEN

Antecedentes: La teoría de la consolidación de la memoria propone que a través de la síntesis de nuevas proteínas las memorias recientemente adquiridas son fortalecidas en un trazo a largo plazo. Se ha propuesto que este proceso ocurre sólo una vez, pero evidencia creciente indica que al momento de la evocación las memorias entran en un estado lábil y requieren de nuevo de la síntesis de proteínas para mantenerse en el almacén a largo plazo; este proceso es conocido como reconsolidación. Hasta ahora la función de la reconsolidación sigue siendo materia de debate, en este sentido se ha propuesto que puede funcionar para integrar nueva información a un trazo ya consolidado. Para probar esta hipótesis, en este trabajo se utilizó el condicionamiento de aversión a los sabores (CAS) como modelo de memoria. En el primer día se asoció sacarina (estímulo condicionado, EC) con una inyección intraperitoneal de cloruro de litio (estímulo incondicionado, EI). La asociación de estos estímulos da como resultado aversión a la sacarina. Al día siguiente los animales fueron inyectados con anisomicina (inhibidor de síntesis de proteínas) en la corteza insular (CI), amígdala central (AC), o en ambas estructuras cerebrales al mismo tiempo. Veinticuatro horas después se realizó una prueba de memoria a largo plazo. Cuando se inyectó anisomicina en la CI o la AC se afectó la consolidación.

De la información entrante, pero al inyectar en ambas estructuras se afectó, además, a la memoria que ya había sido consolidada. Sin embargo, cuando las inyecciones se realizaron en ambas estructuras en condiciones donde no se actualizó la memoria, asíntota conductual, no se obtuvo ningún efecto en el desempeño de la tarea. Estos resultados apoyan la teoría de que la reconsolidación es parte de un proceso de actualización de la memoria. Además

---

indican que la síntesis de proteínas es necesaria en la corteza insular y la amígdala central para que la consolidación de la información entrante pueda llevarse a cabo. Por otro lado, la síntesis de proteínas en cualquiera de las dos estructuras es suficiente para mantener la información previamente consolidada en el almacén de memoria de largo plazo cuando ésta es desestabilizada por la adquisición de nueva información.

# **I. Antecedentes**

## ***1.1. Memoria y cerebro***

Una pregunta que ha intrigado a los investigadores en el campo de la neurobiología de la memoria es ¿En dónde se almacenan los recuerdos? Uno de los primeros investigadores que a mediados del siglo XX estudió la localización de la memoria en animales de experimentación fue Karl Lashley. Él realizó lesiones en la corteza cerebral de ratas después de haberlas entrenado en tareas muy sencillas en laberintos. En los cuales, animales tenían que recorrer el laberinto evitando todos los pasillos salvo el que contenía comida. Con lesiones modestas, Lashley esperaba que el rendimiento de los animales fuera pobre, la sorpresa fue que el rendimiento de los animales fue bueno pese a las lesiones, sin embargo, cuando realizó lesiones más extensas y bilaterales, abarcando una porción mayor de la corteza, observó alteraciones más claras en el desempeño. Con estos trabajos se obtuvieron importantes conclusiones, como el hecho de que el efecto sobre la memoria depende de la cantidad de tejido lesionado y que existe una correlación entre el aprendizaje y la cantidad de tejido disponible, independientemente de su tipo (Lashley, 1950).

Las principales aportaciones que hizo Lashley fueron sus dos principios, el de “acción de masas” que establecía que el cerebro funciona como un todo al momento de organizar la información entrante, y su principio de “equipotencialidad” que proponía que si ciertas partes del cerebro eran dañadas otras podían asumir las funciones de las regiones dañadas. Otra aportación importante de Lashley fue la introducción del concepto

---

“engrama” o trazo de memoria que se refiere al ajuste o reacomodo neuronal al momento de almacenar la memoria (Lashley, 1950). Este término también implica que las redes neuronales que se forman al momento de que la información se almacena en el cerebro van siendo reforzadas con el paso del tiempo, así, al usar los términos “trazo” o “engrama” nos estamos refiriendo a la memoria ya formada.

## ***1.2. La Memoria***

Todas y cada una de las cosas que ocurren en nuestro entorno son en potencia estímulos que pueden llegar a proporcionarnos cierto tipo de información que, una vez captada por nuestros receptores, será llevada y analizada, dependiendo del tipo de información (técnica, mecánica, fónica etc.), a diferentes regiones del cerebro. Cuando esos estímulos son repetitivos, se presentan con cierta contigüidad o tienen carga emocional, es entonces que la información que proporcionan adquiere un carácter muy importante, debido a que nos indica de regularidades en el ambiente las cuales al recordarlas, nos permitirán crear estrategias más eficientes de adaptación. La memoria es un sistema que nos permite retener la información en una forma organizada y de fácil acceso, para poder usar el conocimiento adquirido como producto de la experiencia (Chance, 2004).

La memoria es una de las cualidades más notables de las que se valen los organismos para poder adaptarse a su medio. Esta se puede dividir en tres fases, que son: 1) adquisición, es cuando la nueva información llega y es mantenida por un corto tiempo; 2) consolidación, en esta fase la información, a través de la síntesis de proteínas, pasa de un estado lábil a uno estable y por último 3) la evocación, que es cuando se recupera la

---

información almacenada para poder utilizarla si es necesario (Baddeley, 1999). De esta manera, el aprendizaje es la fase donde se adquiere el nuevo conocimiento y la memoria es la retención de éste a lo largo del tiempo (Kandel, 2001).

### ***1.3. La clasificación de la memoria***

En el año de 1885 Hermann Ebbinghaus publicó su ahora célebre monografía “Ueber das Gedächtnis” (Sobre la memoria), en la cual relata sus experimentos hechos en sí mismo, que consistieron en memorizar sílabas sin sentido como “ZIP”, “GAP”, etc. Después midió su rendimiento a diferentes intervalos de tiempo y se dio cuenta que entre más tiempo pasaba más trabajo le costaba recordar las sílabas, con esto pudo describir la forma que tiene la curva del olvido (Richardson, 2007).

Unos años más tarde en 1890, William James publicó su libro “The Principles of Psychology” (principios de psicología), en el que propone la distinción de dos tipos de memoria, una llamada primaria (transitoria) y otra secundaria (permanente). En este modelo se postuló que las memorias tenían cierta duración, que sólo algunas podían ser retenidas por largo tiempo mientras que las que no, eran olvidadas. En el año de 1965 Atkinson y Shiffrin propusieron la teoría multialmacén de la memoria, que plantea el uso de tres almacenes (figura 1), que son: el primero, almacén sensorial; aquí la información es retenida milisegundos; otro más de corta duración y de capacidad limitada al que se llamó almacén de memoria a corto plazo y, finalmente, un almacén de mayor duración que podía variar de semanas a años llamado almacén de largo plazo (Bermudez-Rattoni, 2001).

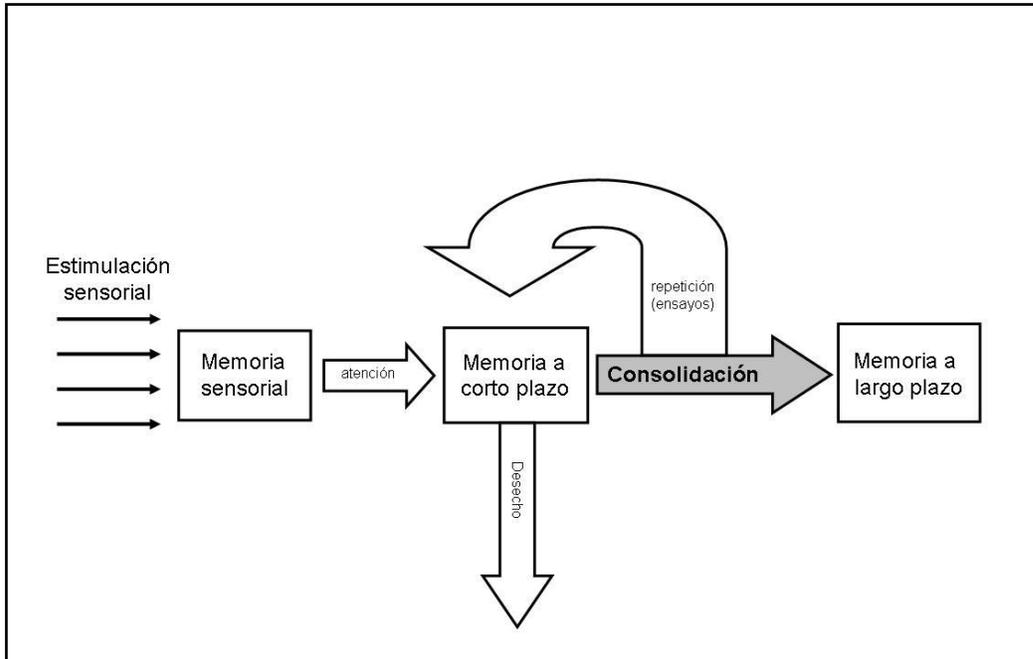


Figura. 1 En este diagrama se aprecia el funcionamiento del modelo multialmacén de Atkinson y Shiffrin. Primero, llega la información sensorial, que a su vez ellos dividían en icónica y ecoica y, dependiendo de su duración, es que pasa, o no, a la memoria a corto plazo; si la información no es utilizada, es desechada al poco tiempo, si hay repetición de la información, entonces se consolida y la información pasa a memoria a largo plazo y permanece allí por un largo periodo (Tomado de Baddeley, 1999).

Una de las limitantes más importantes que tiene este modelo es que el almacén de memoria a corto plazo es muy poco flexible con la información entrante, muy rígido, da poca interacción con la información y sólo propone que sirve para guardar la información por poco tiempo. En el año de 1986, Baddeley, postuló que el almacén a corto plazo más bien es flexible y que puede interactuar con la información entrante de una forma activa, por lo que postuló el concepto de memoria de trabajo (Baddeley, 1999).

La clasificación temporal de la memoria, desde los primeros intentos, ha generado más preguntas que respuestas y diversos autores han tratado de generar un modelo que por lo menos conteste la mayoría de las preguntas planteadas, tales como: ¿Existen otros tipos

---

de memorias? ¿Qué procesos diferencian a las distintas memorias? ¿Cuándo termina la memoria a corto plazo e inicia la de largo plazo? La permanencia temporal de la información ha sido uno de los primeros indicadores de los que se han servido los investigadores para intentar clasificarla; así se dividió a la memoria en al menos dos tipos: memoria de corto y memoria de largo plazo y diferenciadas por el proceso de consolidación (Bermudez-Rattoni, 2001).

## **II. LA CONSOLIDACIÓN**

### ***2.1. La teoría de la consolidación***

El término consolidación es atribuido a Muller y Pilzecker, quienes realizaron una serie de experimentos usando pares de sílabas sin sentido (Lechner *et al.*, 1999). Primero los sujetos eran entrenados para memorizar estos pares, el día de la prueba sólo se les presentaba una sílaba del par y la evocación correcta de la otra sílaba era su medida de memoria. Una modificación que aumentó el nivel de dificultad de esta tarea fue presentar una segunda lista de sílabas poco después de memorizar la primer lista, así se observó que la cantidad de sílabas de la primera lista evocadas correctamente era menor cuando se presentaba la segunda lista. Muller y Pilzecker postularon que esta segunda lista interfiere con la evocación correcta de la primera. Luego observaron que entre más grande era el intervalo de tiempo entre la presentación de ambas listas, menor era la cantidad de errores, los autores concluyeron que la segunda lista interfiere de forma tiempo dependiente con la estabilización de la memoria. A este proceso ellos le llamaron “consolidirung” (consolidación) (Lechner *et al.*, 1999). Pasaron muchos años hasta que aparecieron varios

---

trabajos importantes al respecto. Uno de ellos fue el de Duncan (1949), él indujo amnesia anterógrada, que se define como la incapacidad para poder conservar en la memoria a largo plazo los acontecimientos recientemente ocurridos, dejando intactos los recuerdos más viejos (Milner, 2005). Duncan indujo este tipo de amnesia a roedores dando choques eléctricos después de haberlos entrenado en una tarea de “fear conditioning” (condicionamiento al miedo) que consiste en presentar un tono (EC) seguido de la aplicación de choques eléctricos en las patas (EI) al momento de presentar únicamente el tono se observa una disminución en la actividad motora del roedor (Freezing, RC), respuesta que es tomada como la medida de memoria. Duncan reportó que entre más alejados en el tiempo daba los choques del entrenamiento, menor era el efecto sobre la memoria de los animales. El trabajo de Duncan indica que la consolidación de la memoria es un proceso que a lo largo del tiempo va estabilizando la memoria (McGaugh, 1966; 2000). Una idea importante que fue interpretada de los trabajos de Duncan y posteriores fue que la consolidación de la memoria sólo se da una vez, que existe una ventana temporal durante la cual la información es estabilizada y después ya no puede ser afectada (Figura 2).

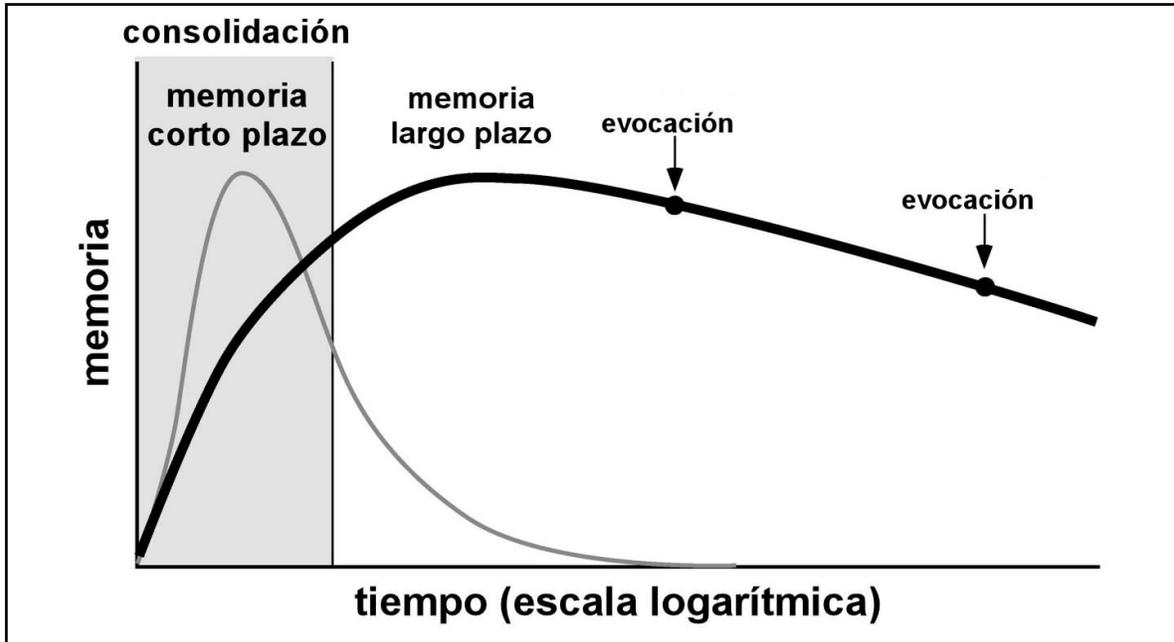


Figura 2. En esta figura se ejemplifica la manera estándar en que se conceptualiza a la consolidación. La gráfica muestra que para cada ítem memorizado la consolidación inicia y termina sólo una vez. Y que existe una ventana temporal donde la memoria se estabiliza (Modificado de Dudai, 2004).

## 2.2. Síntesis de proteínas

Con la teoría del trazo dual de Hebb se propuso que la información, en una primera fase, reverbera en una red neuronal una vez que ha sido captada por los diferentes sistemas sensoriales, permaneciendo, de esta forma, activa. Después, la información se estabiliza en la red, por medio de cambios estructurales en las neuronas (Hebb, 1949). Esta idea fue revolucionaria ya que implicó a la actividad neuronal como causante de la memoria, y lo que deriva en una mayor eficiencia en la conducción de la información. Además propuso que, de alguna manera, la memoria es almacenada en las neuronas, estabilizándola, para lo cual es necesaria la síntesis de nuevas proteínas y cambios plásticos que modifiquen las neuronas, en particular sus sinapsis (Davis y Squire, 1984).

---

En los años sesentas apareció evidencia que indicó que para que la memoria a corto plazo se establezca en memoria a largo plazo era necesaria la síntesis de proteínas (Agranoff *et al.*, 1965). Para el estudio de la participación de la síntesis de proteínas durante la formación de la memoria a largo plazo se ha hecho uso de diversos fármacos, el primero en usarse fue la puromicina (Flexner *et al.*, 1962), el cual fue abandonado más tarde por sus altos niveles de toxicidad. Barondes y colaboradores, en el año de 1967, publicaron uno de los primeros trabajos en donde se relacionó a la síntesis de proteínas con la consolidación de la memoria. Estos investigadores usaron una tarea en el laberinto en T, que consiste en que el animal ingresa por un extremo y se encuentra frente a la opción de seguir por uno de los dos brazos, en el extremo de uno de ellos hay alimento y es considerada la respuesta correcta. El criterio para saber si el animal aprendió fueron las respuestas correctas sucesivas, es decir, el requisito fue que el ratón llegara al brazo correcto en 3 o 4 ocasiones seguidas. En ese trabajo se aplicó 120 µg de acetoxiciclohexamida (un potente inhibidor de la síntesis de proteínas) 5 horas antes del entrenamiento en el laberinto en T, posteriormente se realizaron pruebas de memoria a distintos tiempos, poniendo a los ratones en el laberinto. Los autores observaron que cuando la prueba se realizó 3 horas después del entrenamiento no hay efecto por la aplicación del fármaco en el desempeño de la tarea; sin embargo, pruebas realizadas 24, 96 y 168 horas después del entrenamiento mostraron un claro deterioro de la memoria. La conclusión a la que llegaron los autores fue que la síntesis de proteínas no es necesaria a corto, pero sí a largo plazo. Cabe destacar que en este estudio se reportó un porcentaje de inhibición de la síntesis de proteínas mayor al 90% y con una duración de aproximadamente 3 horas (Barondes *et al.*, 1967). Los resultados obtenidos con este fármaco parecían alentadores, ya que se obtuvo una alta inhibición de la síntesis de

---

proteínas, sin embargo, también en este caso fueron necesarias dosis efectivas muy altas de acetoxiciclohexamida que resultaban tóxicas es decir afectaban a los animales. Entonces un grupo de investigadores introdujeron en este campo un fármaco que al parecer superaba las dificultades previas: la anisomicina (Flood *et al.*, 1973). Este fármaco resultó ser un excelente agente amnésico a dosis efectivas que no son tóxicas, además se puede administrar de manera repetida.

Está bien establecido que, en la mayoría de los casos hasta ahora estudiados, la formación de la memoria a largo plazo requiere de la formación de ácido ribonucleico mensajero (mARN) para su traducción a proteínas, por lo que la síntesis de proteínas es un proceso que incluye dos subprocesos que son la transcripción y la traducción. La transcripción se realiza en el núcleo de la célula y consiste en la lectura de la información genética para sintetizar (transcribir) una cadena de mARN que contiene la información necesaria para su posterior traducción a proteínas (Alberts *et al.*, 2002). La traducción es un proceso que ocurre en el citoplasma, que a su vez consta de tres fases, 1) iniciación que es donde se ensamblan las unidades de los ribosomas en la señal de inicio de la cadena de mARN, 2) elongación, aquí se ensamblan los aminoácidos de la proteína en un orden particular de acuerdo a los nucleótidos del mARN y 3) terminación, aquí el ribosoma libera a la proteína recién sintetizada (Alberts *et al.*, 2002).

### **2.3. La reconsolidación**

Por largo tiempo se vio a la consolidación como un proceso que estabiliza la información recientemente adquirida fortaleciéndola en una forma a largo plazo, y esta información, una

---

vez estable, ya no puede ser modificada. Sin embargo, estudios posteriores en roedores mostraron que la memoria, previamente consolidada, puede sufrir otra “consolidación” (reconsolidación); o que tal vez, la consolidación no es un proceso que ocurre en una sola ocasión. Un ejemplo de esto es el trabajo del año 1968 de Misanin y colaboradores, quienes usaron el condicionamiento al miedo en roedores, en el cual un tono (estímulo condicionado, EC) fue presentado poco antes de un choque eléctrico (estímulo incondicionado, EI) dando como resultado un decremento de la respuesta condicionada (RC) durante la presentación del EC, la RC se midió a través del decremento en el número de lengüetazos que daban a bebederos con agua. En este estudio los investigadores usaron cuatro grupos (ver figura 3), en el primero realizaron un condicionamiento al miedo convencional. En el segundo grupo, en la fase de adquisición, se les dio a los roedores 0.5 segundos de choques electroconvulsivos (40 miliamperios) inmediatamente después de la presentación de EC-EI, lo que tuvo como consecuencia que los animales no tuvieran un buen desempeño en la prueba (Figura 3). En el grupo 3 hubo una fase de reactivación un día después del entrenamiento, que consistió en una segunda presentación del EC, después de la reactivación se aplicó el choque electroconvulsivo, y el día de la prueba, este grupo mostró un rendimiento muy pobre en la tarea. El cuarto grupo fue entrenado y, 24 horas después, fue sujeto a la aplicación de choques electroconvulsivos en ausencia de reactivación (presentación del EC), durante la sesión de prueba este grupo no mostró una pérdida de la memoria. Los resultados fueron muy claros: el grupo 3 que tuvo reactivación de la memoria, a través de la presentación del tono y aplicación subsecuente de choques electroconvulsivos, presentó una amnesia dependiente de clave (el tono), como se le llamó. Con este estudio se demostró que la información al ser evocada es susceptible a ser

modificada, en este caso por la aplicación de choques electroconvulsivos (Misanin *et al.*, 1968).

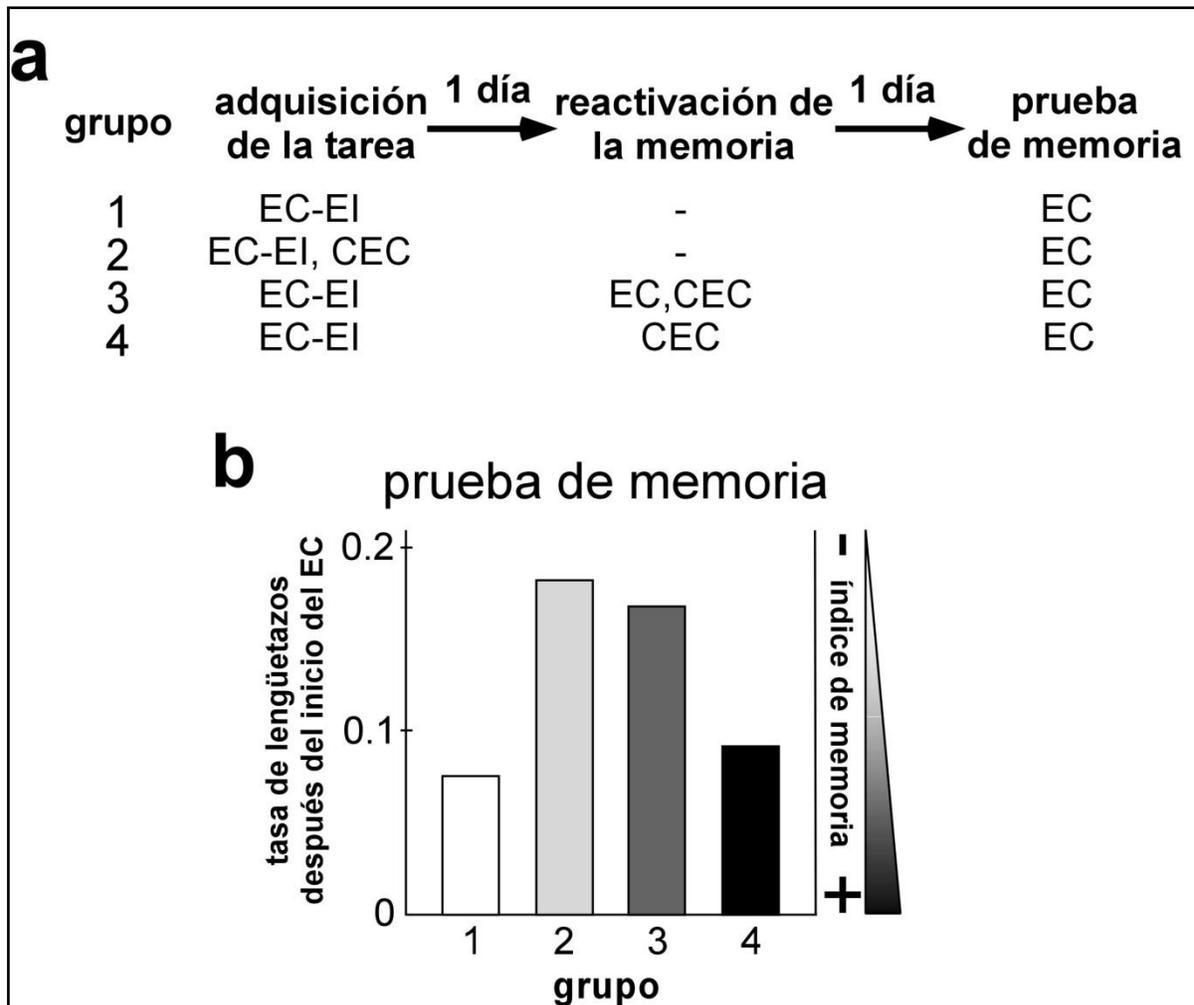


Figura 3. a. Representación esquemática del protocolo usado por Misanin y colaboradores (1968). EC, estímulo condicionado (un tono de 80 dB con una duración de 10 seg el primer día de tratamiento, con una duración de 2 seg en el segundo día y de 10 seg o 10 lengüetazos en el día de la prueba). EI, estímulo incondicionado (un choque eléctrico a la gradilla del piso de 1.3 mA con duración de 3 seg, aplicado al término de la presentación del EC). CEC, choques electroconvulsivos (un choque eléctrico de 40 mA y medio seg de duración, aplicado a través de un broche sujeto a las orejas de los animales). b. En el grupo 1 se muestra el comportamiento de los animales sometidos al condicionamiento del miedo bajo este protocolo; como medida de memoria se utilizó la reducción de lengüetazos observada después del inicio del tono. Los CEC deterioran la memoria de largo plazo cuando son aplicados después del condicionamiento (grupo 2) o cuando son aplicados después de la reactivación de la memoria (grupo 3). El grupo 4 es la demostración de que el efecto de los CEC sobre el grupo 3 depende de la reactivación de la memoria. Para mayor claridad, en el lado derecho de la gráfica se muestra un índice arbitrario de memoria (modificado del reporte de Misanin, J.R. y colegas. 1968. *Science*, 160:554). Figura tomada de la tesis de doctorado de Rodríguez-Ortiz.

---

Unos años más tarde el mismo Lewis, quien fue mentor de Misanin, escribió una revisión (Lewis, 1979) donde propone un nuevo modelo de memoria: el de memoria activa e inactiva. Lewis planteó que la memoria puede estar activa ya sea al momento de la adquisición o al momento de la evocación, por tanto la memoria es lábil y susceptible a ser alterada o, estable cuando no es activada mediante la evocación y en este momento es inactiva. La idea básica que argumentan estos trabajos es que mediante la reactivación de la memoria ya consolidada, ésta entra en un estado lábil y es susceptible a ser modificada. Estos trabajos fueron ignorados por mucho tiempo hasta finales de los años 90's cuando aparecieron estudios que corroboraban lo reportado en el pasado. Estudios como el de Bucherelli y Tassoni en 1992, en el cual entrenaron a ratas en una tarea que se denomina: "step-through passive avoidance". En este estudio una vez concluido el entrenamiento, al presentar sólo el EC, los autores aplicaron un bloqueador de las corrientes de  $\text{Na}^{2+}$  (tetrodotoxina, TTX) en el núcleo parabraquial de las ratas durante la evocación de la memoria. Reportando que la aplicación de esta droga inactivó el núcleo y produjo un deterioro posterior en la memoria. De igual manera, al inyectar el antagonista de receptores NMDA (N-metil-D-aspartato): MK-801 durante la evocación de la memoria, Przybyslawski y Sara (1997) observaron que este agente afecta el trazo de memoria a largo plazo si es evocada. El mismo grupo y usando el antagonista  $\beta$ -adrenérgico timolol, observó el mismo efecto en la memoria previamente consolidada si ésta es reactivada (Roulet y Sara, 1998). En otro estudio, del mismo equipo y analizando el sistema  $\beta$ -adrenérgico, comprobaron, una vez más, que la memoria previamente consolidada al ser evocada es susceptible a ser modificada por la aplicación de propanolol un antagonista no selectivo de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos ( $\beta_1$  y  $\beta_2$ ) (Przybyslawski y Sara, 1999).

---

Parecía que el equipo de Susan Sara había encontrado con evidencia sistemática la reconsolidación y que sus resultados eran suficientes para desencadenar el interés en este fenómeno y estudiarlo aun más, pero sus descubrimientos fueron poco apreciados. La atención de la comunidad científica interesada en el tema fue atraída hasta el año 2000 cuando Nader y colaboradores presentaron un trabajo que mostró que es posible afectar la memoria ya consolidada cuando es evocada en uno de los modelos de memoria más estudiados (el condicionamiento al miedo) e inhibiendo específicamente el área donde se almacena esta memoria (la amígdala basolateral) (Nader *et al.*, 2000). Este grupo condicionó ratas para que asociaran un choque eléctrico en las patas con un tono, como resultado las ratas permanecieron inmóviles al presentar el tono (conducta de congelamiento). 24 horas después de la fase de adquisición se volvió a presentar el tono (reactivación de la memoria), y al mismo tiempo se administró anisomicina (un inhibidor de la síntesis de proteínas) en la amígdala basolateral. La sesión de prueba se realizó 24 horas después, en donde se presentó una vez más el tono. De forma similar a los trabajos previamente realizados, se observó que los animales inyectados con anisomicina mostraron un mal desempeño en comparación de los que fueron inyectados con la solución vehículo. Un control importante en este trabajo fue que la misma aplicación del fármaco sin la evocación, no tiene ningún efecto sobre la memoria. Además, la aplicación de anisomicina 6 horas después de la evocación tampoco tiene efecto, lo cual indica que existe una ventana temporal donde se estabiliza el trazo de memoria (Nader *et al.*, 2000). De este trabajo se concluyó que las memorias previamente consolidadas, al momento de ser evocadas, regresan a un estado lábil similar a las recién adquiridas y para su reestabilización se

---

requiere de un proceso dependiente de la síntesis de proteínas llamado reconsolidación (Sara, 2000; Nader, 2003).

#### ***2.4 Inconvenientes con la reconsolidación***

A pesar de que una gran cantidad de estudios replicaron el fenómeno de reconsolidación, surgieron también reportes que indicaban lo contrario, esto es, que la memoria una vez consolidada no es susceptible de modificarse en el momento de ser evocada y que este no es un proceso por el que atraviesen necesariamente todas las memorias (Berman *et al.*, 2001; Vianna *et al.*, 2001; Cammarota *et al.*, 2004; Izquierdo *et al.*, 2004). Sin duda este era un problema, es decir, ¿por qué bajo ciertos protocolos no ocurre la reconsolidación? Parte del problema se resolvió con estudios de extinción. Algunos de estos estudios consistieron en presentar, después del procedimiento de condicionamiento, al estímulo condicionado (EC) pero en ausencia del estímulo incondicionado (EI), lo cual puede conducir a la extinción, es decir, a una disminución en la respuesta condicionada que obedece ahora a un nuevo aprendizaje que es la asociación EC-noEI (no estímulo incondicionado) y este segundo aprendizaje también se consolida. En otras palabras, en los estudios de la reconsolidación, al momento de realizar la evocación, se presenta sólo al EC y se puede observar una disminución de la respuesta condicionada (RC) cuando se inhibe, por ejemplo, la síntesis de proteínas; esta disminución en la respuesta es interpretada como un efecto sobre el proceso de reconsolidación, esto es, que se afecta la memoria previamente consolidada. En el caso contrario, si a pesar de la inhibición de la síntesis de proteínas el animal continúa presentando una buena respuesta condicionada, se interpreta como una interrupción de la consolidación de la extinción y, por consiguiente, que en ese

---

proceso de memoria no ocurrió una desestabilización del trazo mnémico tras su evocación, por lo tanto, no atravesó por una reconsolidación.

Este punto se aclaró en una ingeniosa investigación (Pedreira y Maldonado, 2003) donde se usaron cangrejos entrenados en una tarea de condicionamiento contextual, para la cual se utilizó un aparato diseñado por ellos mismos llamado actómetro, que consta de un platón de metal que está conectado a un sistema que registra las vibraciones y una pieza de metal rectangular que es móvil. El platón actúa como estímulo condicionado (EC) y la pieza de metal rectangular es el estímulo incondicionado (EI). En el condicionamiento se coloca a los cangrejos en el platón y se les presenta la pieza de metal que funciona como un estímulo visual potencialmente peligroso (VDS, por sus siglas en inglés), el cual se mueve de izquierda a derecha por encima de los animales. Ante el VDS los cangrejos retroceden generando vibraciones que son registradas. Sin embargo, un animal expuesto al VDS en varias ocasiones retrocede poco o permanece quieto generando menos vibraciones (respuesta de inmovilidad o “freezing”), momento en el cual se considera está condicionado (asociación entre el contexto y el VDS). Para abordar la relación entre la reconsolidación y la extinción, estos investigadores aplicaron de manera sistémica un inhibidor de la síntesis de proteínas (cicloheximida) o la solución vehículo (salina) antes de someter a los animales a la sesión de evocación de la memoria. Los cangrejos entrenados e inyectados fueron divididos en cuatro grupos de reactivación, dos permanecieron en el platón por 5 minutos y fueron inyectados con solución vehículo o el inhibidor de síntesis de proteínas, los otros dos grupos permanecieron por 60 minutos en el platón e igual, uno fue inyectado con solución vehículo y el otro con inhibidor de la síntesis de proteínas. En la sesión de prueba,

---

realizada un día después, los autores observaron una diferencia importante entre los grupos inyectados con la solución vehículo. El grupo que permaneció por 5 minutos en el platón presentó la conducta condicionada (se mantuvieron inmóviles cuando se colocaron nuevamente en el platón). Por el contrario, los cangrejos con 60 minutos de exposición al contexto (estímulo condicionado) e inyectados con vehículo extinguieron la respuesta ante el estímulo condicionado (el contexto) y por lo tanto no permanecieron inmóviles. Para los grupos inyectados con el inhibidor de síntesis de proteínas los resultados fueron inversos. El grupo que permaneció por 5 minutos presentó un mal desempeño en la tarea (poca inmovilidad), por lo cual se concluyó que la síntesis de proteínas en este caso se requiere para el proceso de reconsolidación de la memoria. Por el otro lado, los cangrejos que permanecieron por 60 minutos y fueron inyectados con el inhibidor de síntesis de proteínas mostraron un buen desempeño de la conducta condicionada (permanecieron inmóviles), en este caso, la síntesis de proteínas se necesitó para consolidar la memoria de extinción, ya que al inhibir dicha síntesis se evita la extinción y la conducta de condicionamiento permanece, dando la apariencia de que con la evocación de la memoria no se desencadenó un proceso de reconsolidación. Estos resultados junto con otros reportes realizados en distintos tipos de memorias y en distintas especies (Eisenberg *et al.*, 2003; Suzuki *et al.*; 2004) permitieron llegar a la conclusión de que las condiciones de evocación son importantes para inducir un proceso de reconsolidación. Cuando la reactivación de la memoria inicia el proceso de extinción a largo plazo, entonces la síntesis de proteínas es necesaria para consolidar la memoria de extinción, en caso contrario, la síntesis de proteínas se requiere para reconsolidar la memoria del condicionamiento.

---

## ***2.5 Las diferencias entre la consolidación y la reconsolidación***

Para que se dé el paso de memoria de corto plazo a memoria de largo plazo es necesaria la síntesis de proteínas (Davis y Squire, 1984), a este proceso se le ha llamado consolidación (McGaugh, 2000). La reconsolidación, por su lado, también requiere de la síntesis de proteínas y de la activación de cascadas de transducción similares a las necesarias para el proceso de consolidación, por lo que surge la posibilidad de que la reconsolidación sea una réplica de la consolidación. Para abordar esta posibilidad se realizó una investigación en la que se utilizó la tarea de la memoria de reconocimiento. Se observó que el factor de transcripción temprana zif268 participa tanto en la consolidación como en la reconsolidación de esta memoria (Bozon *et al.*, 2003). La participación de la cinasa ERK ha sido estudiada en la memoria de prevención pasiva (inhibitory avoidance) y se ha visto que participa tanto en su consolidación como en su reconsolidación (Cestari *et al.*, 2006). En un estudio con una tarea distinta, condicionamiento auditivo al miedo, también se ha reportado la participación de ERK; en este estudio se observó específicamente su contribución en la amígdala lateral durante la consolidación y reconsolidación de esta memoria (Duvarci *et al.*, 2005). Todos estos reportes apoyan la idea de que la reconsolidación es una recapitulación de la consolidación, algo así como si se escribiera la memoria otra vez. Sin embargo existe evidencia que muestra lo contrario. El grupo de Alberini entrenó ratas en la tarea de prevención pasiva, y encontró que el factor de transcripción C/EBP $\beta$  es esencial para la consolidación de esta memoria pero no para su reconsolidación (Taubenfeld *et al.*, 2001). Lee y colaboradores (2004) condicionaron ratas en una tarea de miedo al contexto y encontraron una participación diferencial para el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF, por sus siglas en inglés) y el factor de transcripción Zif268. Reportaron que el

---

BDNF participa en la consolidación pero no en la reconsolidación y el Zif268 participa en la reconsolidación pero no en la consolidación.

## ***2.6 La actualización de la memoria***

Durante la reconsolidación, la memoria ya consolidada al ser nuevamente evocada, vuelve a un estado lábil similar a la recién adquirida, donde es susceptible a ser afectada por diversos tratamientos (Przybyslawski *et al.*, 1999; Nader *et al.*, 2000). Sin embargo, que las memorias atraviesen nuevamente por un estado lábil está aun en intensa investigación. La hipótesis que ha ganado fuerza en los últimos años es que la reconsolidación es parte de un mecanismo para incorporar nueva información a la memoria de largo plazo (Rodríguez-Ortiz y Bermudez-Rattoni, 2007). Esta idea fue sugerida en el pasado por Lewis (1979). De igual manera, para Susan Sara es durante la evocación de memorias consolidadas que la nueva información puede ser incorporada al trazo de memoria existente (Sara, 2000). De manera similar se había planteado que una de las funciones de la reconsolidación es la de actualizar la memoria (Nader, 2003). En un estudio reciente Rodríguez-Ortiz y colaboradores llevaron esta cuestión al campo experimental, para ello utilizaron los paradigmas de atenuación de la neofobia y de condicionamiento de aversión a los sabores. En ese estudio presentaron un sabor desconocido para los animales (sacarina) cada 24 horas. Conforme los animales se familiarizan con este sabor y aprenden que es un sabor seguro, el consumo se incrementa de manera gradual hasta alcanzar una asíntota, a esta conducta se le llama atenuación de la neofobia (figura 4A). Para que se lleve a cabo el reconocimiento del sabor a lo largo de los días y se almacene esta información en el largo plazo se requiere de la síntesis de proteínas en la corteza insular (Rodríguez-Ortiz *et al.*,

---

2005). En un primer experimento se inyectó anisomicina en la corteza insular después de que los animales habían probado el sabor por una segunda ocasión. Lo que se observó el día de la prueba fue que los animales presentaron menor consumo de sacarina, lo que indica que se afectó la memoria previamente consolidada, como se anticipaba por la hipótesis de la reconsolidación (figura 4B). Sin embargo, cuando se inhibió la síntesis de proteínas por tres días consecutivos después de haber alcanzado la asíntota en el consumo no se observó ningún efecto de la anisomicina sobre la memoria (figura 4C). Este resultado no era predicho por la teoría de la reconsolidación que propone que una memoria es lábil cada vez que es evocada. Por último, estos investigadores presentaron el sabor hasta llegar a la asíntota y después inyectaron un agente inductor de malestar gástrico (LiCl) después de haber consumido el sabor, con esto lograron que el sabor, que ya era considerado como seguro, cambiara esta propiedad y fuera reconocido como dañino, a este procedimiento se le conoce como condicionamiento de aversión a los sabores. Cuando los autores inhibieron la síntesis de proteínas en estas condiciones de actualización observaron nuevamente un deterioro sobre la memoria, ahora de la aversión (Figura 4D).

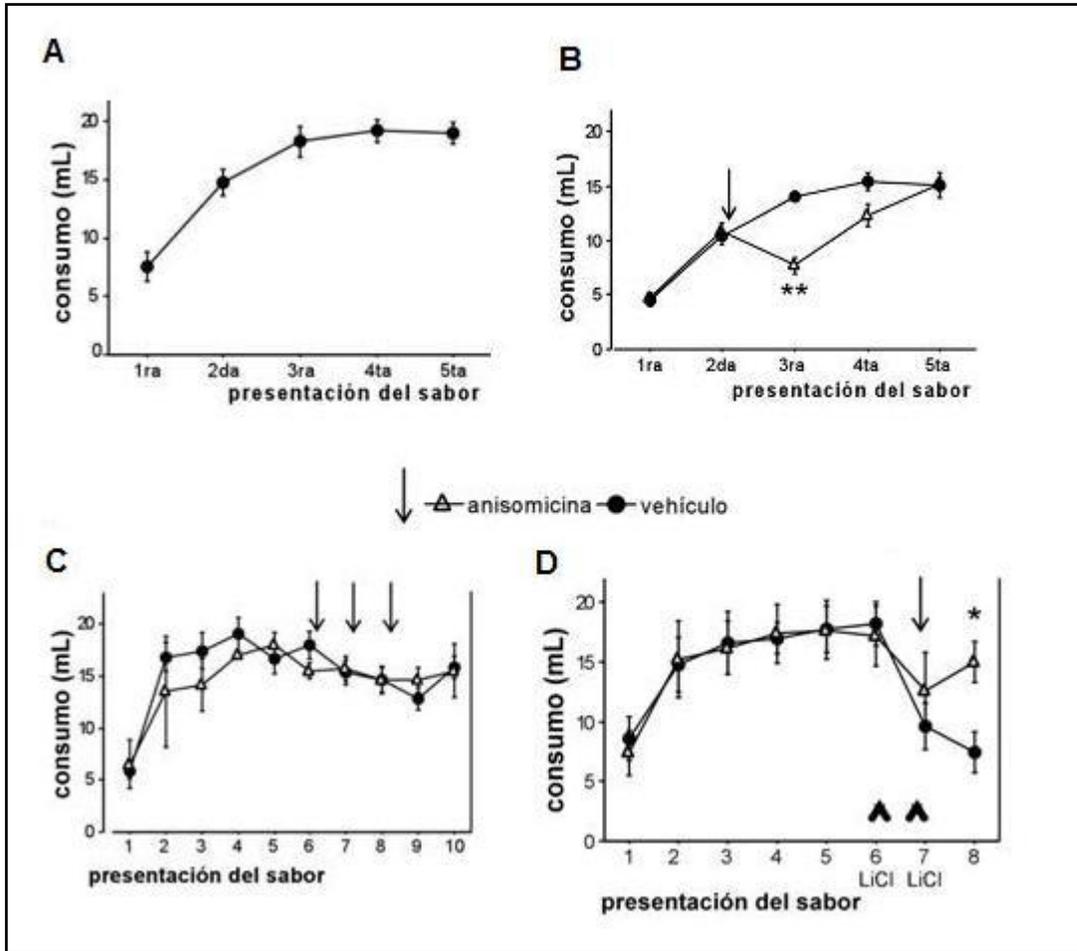


Figura 4. A. en esta figura se muestra la conducta típica de la atenuación de la neofobia. B. al aplicar anisomicina en la segunda presentación de sacarina se observó un efecto sobre la memoria previamente consolidada. C. pese a que se aplicaron tres inyecciones consecutivas de anisomicina, de la sexta a la octava presentación (flechas), la memoria no fue afectada de manera significativa cuando no es actualizada. D. aquí se llevó a las ratas a asíntota en la tarea, luego en la sexta presentación de sabor se agregó un nuevo estímulo que fue una inyección intraperitoneal de LiCl (cabezas de flecha), en la séptima presentación se aplicó anisomicina antes de la segunda adquisición de información de aversión. \*\*  $p < 0.01$ ; \*  $p < 0.05$  entre los grupos en esa medición (Modificado de Rodríguez-Ortiz et al., 2005)

En ese trabajo se concluyó que la incorporación de nueva información es necesaria para volver lábil a la memoria ya almacenada en el largo plazo. En ese estudio se observó un deterioro parcial de la memoria previamente consolidada antes de alcanzar la asíntota (figura 4B), pero al alcanzar el máximo desempeño en la tarea ningún tipo de efecto fue observado al aplicar la inyección, por lo que se concluyó que cada vez que la memoria es evocada, ésta se modifica por la incorporación de nueva información, esto es, la memoria

---

va actualizándose. Sin embargo, al llegar al nivel máximo de desempeño ya no es posible afectar la memoria por la aplicación del inhibidor porque ya no queda más información por incorporar a la memoria.

Además de deteriorarse, la memoria previamente consolidada puede mejorarse mediante la aplicación de algunos tratamientos tras su evocación. Utilizando cangrejos entrenados en la tarea de contexto descrita previamente, Frenkel y colaboradores (2005) probaron esta idea. Este grupo aplicó un tratamiento para aumentar los niveles de la hormona angiotensina II a animales escasamente entrenados después de evocar la memoria. Observaron que la aplicación del tratamiento mejoró el desempeño en la tarea por lo que concluyeron en este estudio que el papel funcional de la angiotensina II es el de fortalecer la memoria ya consolidada (Frenkel *et al.*, 2005).

### **III. MEMORIA GUSTATIVA**

#### ***3.1 Condicionamiento de aversión a los sabores***

Para poder apreciar una buena comida o una bebida, es necesario contar con un complejo sistema de discriminación que involucra la asociación de estímulos los cuales pueden ser aromas, texturas y sabores. Estas asociaciones han permitido que los animales desarrollen habilidades complejas de supervivencia, como la memoria de reconocimiento de sabores que es la habilidad de recordar un sabor previamente experimentado. En el caso de la comida, cuando un animal encuentra un sabor desconocido consume poco de éste, a lo que se le llama respuesta neofóbica, y si la ingesta del sabor no conlleva ninguna consecuencia

negativa para el animal, entonces en las próximas presentaciones el sabor será reconocido como seguro y su consumo irá en aumento (atenuación de la neofobia, AN) (figura 5, triángulos invertidos). Pero cuando ese nuevo sabor trae consecuencias negativas, en el futuro será reconocido como nocivo y el animal lo evitará en futuras presentaciones. Esta forma de memoria de reconocimiento se nombra condicionamiento de aversión a los sabores (CAS) (García 1955) (Figura 5, cruces).

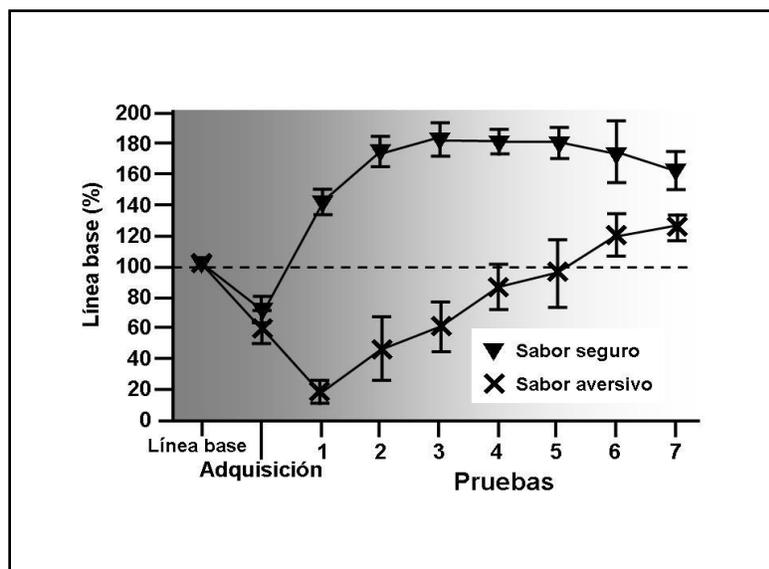


Figura 5. En la gráfica se muestran dos tipos de asociaciones que pueden tener los sabores. Triángulos invertidos: en la primera presentación del sabor el animal muestra un bajo consumo de éste (neofobia, adquisición). Con el paso de las presentaciones el animal reconoce el sabor como seguro y aumenta su consumo (pruebas). Las cruces muestran cuando un nuevo sabor es asociado con un malestar gástrico. En este caso cada vez que el sabor es seguido del malestar su consumo disminuirá (prueba 1). Cuando deja de ser seguido por malestar su consumo incrementa. (Pruebas de 2 a 7). Modificado de Bermúdez Rattóni 2004

En el CAS, un sabor, como la sacarina (estímulo condicionado, EC), es asociado a un malestar gástrico inducido (estímulo incondicionado, EI), que comúnmente se hace con la inyección en el peritoneo de cloruro de litio (LiCl) (figura 6). John Garcia fue el primero en describir este tipo de condicionamiento que encontró de manera fortuita (Garcia, 1955).

---

Este modelo conductual presenta varias ventajas que hacen atractivo su uso, entre las ventajas se encuentran:

1.- Basta con un solo apareamiento entre la sacarina (EC) y la inyección de cloruro de litio (EI) para ver los efectos conductuales en el largo plazo.

2.- El amplio conocimiento de las estructuras cerebrales implicadas en el procesamiento de esta memoria.

3.- Entre la presentación del EC al EI pueden pasar varias horas; la posibilidad de separar estos dos estímulos permite estudiar los mecanismos involucrados en las diferentes fases del procesamiento de la información.

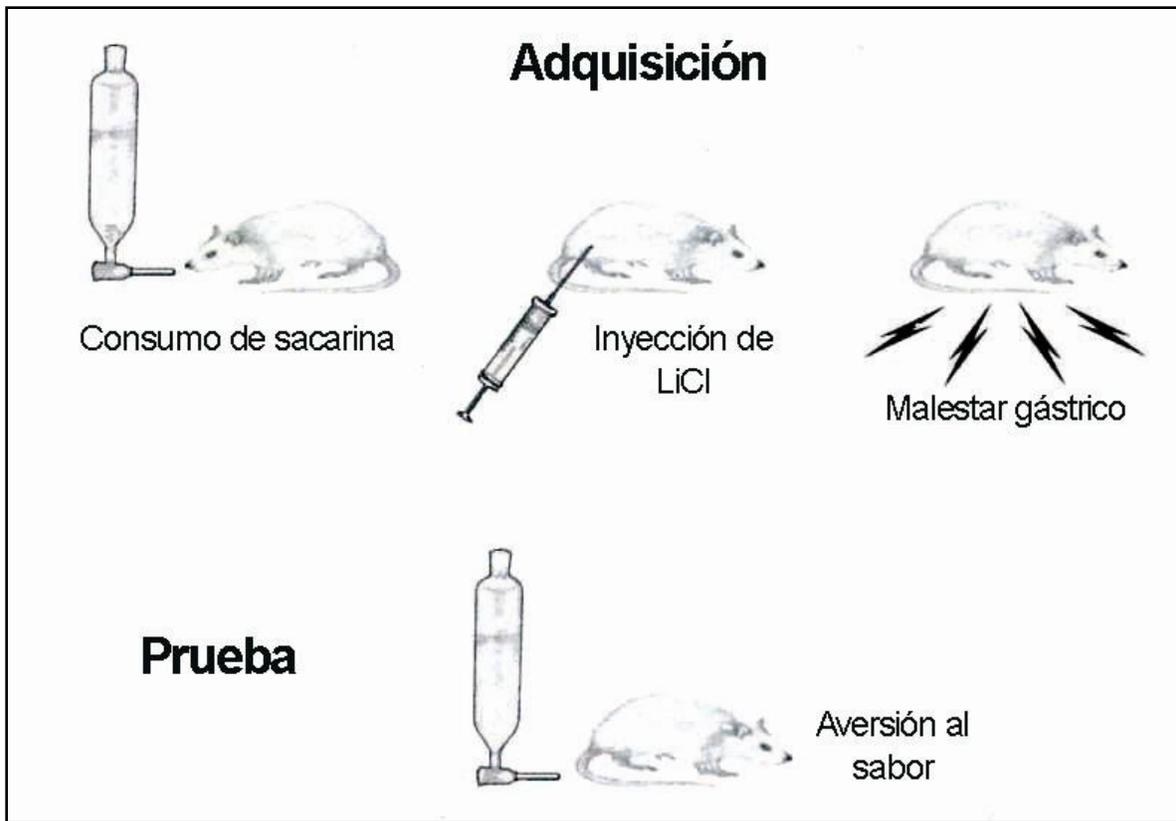


Figura 6. Aquí se muestra la forma en que se realiza un CAS. Primero es necesario adiestrar a los animales a que beban una sola vez al día, esto se realiza a lo largo de tres días en los cuales los animales sólo tienen acceso al agua por 15 minutos (no mostrado). En el cuarto día al animal se le presenta el sabor novedoso que en este caso fue sacarina 0.1% (EC) por 15 minutos, después del consumo se dejan pasar otros 15 minutos y al término de este segundo periodo se aplica una inyección intraperitoneal de cloruro de litio 0.15 M (EI). Al siguiente día (prueba) ya se observan los efectos de la asociación EC-EI como la disminución en el consumo de sacarina entre un 50% a un 70%.

### 3.2 La dualidad de la memoria de sabor

Al momento que un animal prueba un sabor desconocido, entra en juego un complicado sistema de reconocimiento que seguramente es innato y que ayuda al animal a evitar consumir algún tipo de tóxico (Domjan, 1976). Si el sabor no trae ningún tipo de consecuencias negativas será reconocido en el futuro como seguro (AN). Pero si el sabor le sigue un malestar gastrointestinal se formará un trazo de memoria a largo plazo que

---

promueve que en futuras presentaciones el sabor sea evitado y reconocido como dañino/nocivo (CAS) (Garcia, 1955). Estos dos procesos pueden ser referidos, como lo hicieron Gutiérrez y colaboradores, como trazos de memoria del sabor (TMS) seguro y de aversión (Gutiérrez *et al.*, 2003). Estos dos tipos de memorias comparten algunas características, por ejemplo, al inyectar en la CI escopolamina, un antagonista de los receptores colinérgicos muscarínicos, antes de presentar un sabor nuevo se evita la formación de ambas memorias (Gutiérrez *et al.*, 2003). Por el contrario, si la escopolamina es administrada después de que a los animales se les presentó la sacarina por 15 minutos, se afecta la consolidación de la AN, dejando intacta la memoria del CAS. Estos resultados indican que los receptores muscarínicos participan en la adquisición de ambas memorias, pero sólo en la consolidación de la AN. Así mismo, la presentación por primera vez de un sabor aumenta los niveles de liberación de acetilcolina en la CI, conforme transcurren las presentaciones del sabor, la liberación va disminuyendo gradualmente porque el sabor se convierte en familiar (Miranda *et al.*, 2000). Otro sistema de neurotransmisión que se ha estudiado en la corteza insular durante la formación de la memoria gustativa, es el sistema glutamatérgico. Cuando se inyectó A-P5 (antagonista de receptores NMDA) una hora antes de la presentación del sabor o una hora después de la presentación del sabor, bloquea la formación de memoria de aversión (Ferreira *et al.*, 2002). Por otro lado, el bloqueo de los receptores NMDA en la corteza insular antes de presentar el sabor no afectó la neofobia ni su atenuación (Gutiérrez *et al.*, 2003). La memoria de aversión requiere de la liberación de glutamato en la corteza insular para su formación (Miranda *et al.*, 2002; Ferreira *et al.*, 2002). Además, se ha reportado que la formación de la memoria de aversión activa al factor de transcripción CREB (cAMP response-element-binding protein) en la corteza insular

---

(Desmedt *et al.*, 2003), induciendo la síntesis de proteínas necesaria para la consolidación de la memoria de aversión en esta estructura cortical (Rosenblum *et al.*, 1993).

### ***3.3 Los sustratos neuronales de la memoria de sabor***

El procesamiento de la memoria gustativa es realizado por diferentes estructuras del cerebro de la rata, el proceso inicia desde la llegada del sabor en la cavidad oral. Principalmente la información sensorial es conducida por el nervio facial (VII) y el glossofaríngeo (XI) hasta el núcleo del tracto solitario (NTS) y desde la laringe y faringe a través del nervio vago (X). Las neuronas del NTS proyectan axones hasta el subnúcleo dorsolateral del núcleo parabraquial pontino (NPB). De ahí salen proyecciones al hipotálamo lateral, la amígdala basolateral (ABL), la amígdala central (AC), al núcleo ventroposteromedial del tálamo. El tálamo proyecta de forma importante a la corteza insular (CI). Las proyecciones de la corteza insular y de la ABL, alcanzan el núcleo acumbens (NAcc), que a su vez está comunicado con el núcleo basal magnocelular (NBM) (Bermudez-Rattoni, 2004; Bures *et al.*, 1998). Cuando el tracto intestinal está siendo irritado, tal información es transportada por el nervio vago hasta el NTS, de ahí algunos axones alcanzan al NPB, a la AC y al núcleo paraventricular hipotalámico (Bermudez-Rattoni, 2004) (Figura 7).

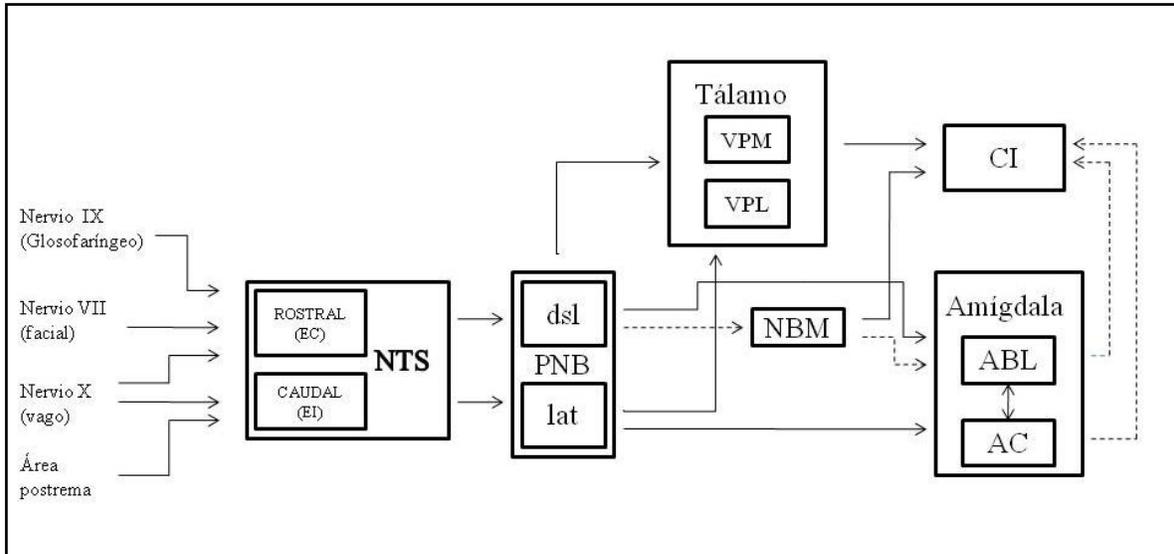


Figura 7. Diagrama que esquematiza las principales, pero no todas, proyecciones involucradas en el procesamiento del trazo de memoria gustativo. A través de los pares craneales IX, VII y X la información gustativa llega al sistema nervioso central. ABL, amígdala basolateral; AC, amígdala central; EC, estímulo condicionado; EI, estímulo incondicionado; dls, núcleo dorsolateral; lat, núcleo exterior lateral; CI, corteza insular; NBM, núcleo basal magnocelular; NTS, núcleo del tracto solitario; PNB, núcleo parabraquial; VPL, núcleo ventral posterior lateral del tálamo; VPM, núcleo ventral posteromedial del tálamo; NPB, núcleo parabraquial. Las líneas continuas representan conexiones que se sabe están involucradas en el procesamiento de los sabores. Las líneas punteadas representan la vías que se sabe están involucradas en el procesamiento de la información visceral. (Modificado de Bermudez Rattoni 2004)

### 3.4 La corteza insular y la amígdala

La corteza insular (CI) de la rata se encuentra en el lóbulo temporal y está delimitada por un área que abarca desde la corteza frontal lateral hasta la corteza perirrinal en dirección rostro caudal. En su parte más ventral va de la corteza somatosensorial a la corteza piriforme. Así mismo, la CI ha sido referida como una corteza visceral, ya que recibe información de tipo gustativa, y conexiones del tálamo, pero sus principales conexiones provienen del sistema límbico, que son las aferencias de la amígdala (Bures *et al.*, 1998). Además de que se ha demostrado que es una estructura que se encarga de procesar la

---

información gustativa en la rata, la CI ha sido relacionada fuertemente con la consolidación del CAS y la atenuación de la neofobia (Bermudez-Rattoni, 2004).

La amígdala en la rata es una estructura que forma parte del lóbulo temporal, que tiene un lugar prominente dentro de sistema nervioso, por su participación en complejos parámetros moduladores de la integración de la conducta, algunos son: mecanismos de defensa, reproducción y por supuesto el aprendizaje. Tradicionalmente la amígdala ha sido dividida en corticomedial y basolateral; pero estudios recientes la han dividido en cuatro subgrupos que son amígdala basal, lateral, central y cortical, de los cuales dos han sido involucrados en el procesamiento de la memoria gustativa: la amígdala basolateral (ABL) y la amígdala central (AC). La ABL recibe proyecciones de la corteza piriforme, proyecta terminales hacia la corteza insular (porción agranular) y también hacia la corteza entorrinal (Bermudez-Rattoni, 2004). Por otra parte, la AC recibe una variedad de aferentes corticales, la corteza entorrinal, la corteza insular (porción agranular) y la corteza perirrinal. Es generalmente aceptado que la CI tiene un papel importante en el procesamiento neuronal de los sabores y la asociación sabor-malestar (Bermudez-Rattoni, 2004); mientras que la ABL y la AC tienen una participación en el procesamiento del malestar visceral que ocurre durante el CAS (Lamprecht *et al.*, 2000). De manera importante se ha demostrado que la AC es indispensable para la consolidación de la memoria de aversión a los sabores (Bahar *et al.*, 2003).

---

## **IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA, HIPÓTESIS Y OBJETIVO**

### ***4.1 Planteamiento del problema***

Los datos descritos en la introducción apoyan la teoría de que la consolidación y la reconsolidación son procesos diferentes de memoria. Además indican que la reconsolidación es parte de un mecanismo para incorporar nueva información a la memoria de largo plazo. Por lo que resulta de interés investigar si las mismas estructuras que participan en la consolidación de la memoria de aversión (corteza insular y amígdala central) también participan en la actualización de la memoria de aversión, esto es, en condiciones donde exista nueva información que sea incorporada a la memoria (fase media de la curva de aprendizaje). Al usar inhibidores de la síntesis de proteínas, como la anisomicina, inyectada en una estructura determinada, es posible establecer la participación de esa estructura en los procesos dependientes de la síntesis de proteínas de una memoria determinada. Por lo que en este trabajo se inyectó anisomicina en la corteza insular y los subnúcleos de la amígdala en condiciones donde se integra nueva información a la memoria de aversión a los sabores y en condiciones donde la respuesta de aversión condicionada es máxima y el desempeño de la tarea no presenta cambios.

---

## ***4.2 Hipótesis***

Al inyectar el inhibidor de la síntesis de proteínas en la corteza insular o la amígdala central, pero no así en la amígdala basolateral, se verá afectada la memoria de aversión al sabor previamente consolidada siempre y cuando exista nueva información que sea incorporada a la memoria. Sin embargo, cuando los animales se encuentren en el nivel máximo de adquisición de la respuesta de aversión (asíntota de la curva de aprendizaje), al inyectar anisomicina no habrá efecto, porque ya no habrá más información nueva que agregar al trazo de memoria.

## ***4.3 Objetivo general***

Determinar si la síntesis de proteínas en la corteza insular y los subnúcleos basolateral y central de la amígdala es requerida para el mantenimiento de la memoria de aversión condicionada al sabor previamente consolidada, tanto en condiciones donde se integra nueva información (fase media de la curva de aprendizaje) como en condiciones donde esto no ocurre (asíntota de la curva de aprendizaje).

## ***4.4 Objetivos particulares***

**4.4.1. Objetivo 1.** Determinar si la inhibición de la síntesis de proteínas a través de la administración de anisomicina en la corteza insular, en la amígdala central o en la amígdala basolateral durante la reexposición al condicionamiento, afecta la respuesta de aversión condicionada previamente adquirida.

---

**4.4.2. Objetivo 2.** Determinar si inyectar de manera simultánea en la corteza insular y la amígdala central o en la corteza insular y la amígdala basolateral el inhibidor de la síntesis de proteínas, durante la reexposición al condicionamiento, afecta la respuesta de aversión condicionada previamente adquirida.

**4.4.3. Objetivo 3.** Determinar si la síntesis de proteínas en la corteza insular y amígdala central es requerida para el mantenimiento de la memoria previamente consolidada en condiciones donde no existe integración de información (asíntota de curva de aprendizaje).

## **V. METODOLOGÍA**

### **5.1 Sujetos**

Se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar (n=261, de las cuales: 62 CI, 53 AC, 24 ABL, 50 CI-AC y 45 CI-ABL, y en asíntota 33 CI-AC) de entre 250 a 300 gramos de peso al inicio del experimento, con aproximadamente 10 semanas de vida, y criadas en el bioterio del Instituto de Fisiología Celular UNAM. Las cuales se mantuvieron en un ciclo de luz:oscuridad 12h:12h, encendiéndose las luces a las ocho de la mañana. Las ratas fueron alojadas por separado en cajas de acrílico donde tuvieron acceso sin restricción a comida y agua. Sólo estuvieron privadas de agua durante la fase experimental. Los procedimientos conductuales fueron realizados en la fase de luz.

---

## ***5.2 Cirugía de implantación de cánulas***

El total de los sujetos fueron asignados a los grupos experimentales y control de acuerdo al sitio de implantación de las cánulas e inyección intracraneal del fármaco o vehículo, tal como se describe en la sección VI: EXPERIMENTOS (pagina 39), de forma previa, los animales fueron sometidos al procedimiento de implantación de cánulas como se describe a continuación.

Todos los animales fueron anestesiados vía intraperitoneal (i.p.) con una mezcla de ketamina (76 mg/ Kg) y xilazina (8 mg/ Kg). Empleando el procedimiento de cirugía estereotáxica estándar en la cual una vez realizadas las trepanaciones con una fresa dental, se implantaron cánulas de 23Ga y de 12 mm de largo. Las cánulas fueron fijadas al cráneo con dos tornillos y cemento dental de acuerdo a las siguientes coordenadas estereotáxicas (mm): 1) corteza insular, anterior 1.2, lateral  $\pm$  5.5 y ventral 4; 2) amígdala central, posterior 2.2, lateral  $\pm$  4, ventral 5.8; 3) amígdala basolateral, posterior 2.8, lateral  $\pm$  5, ventral 6.5. (Paxinos & Watson 1986). Las cánulas fueron situadas 2 mm arriba del área de interés para evitar lesiones. Se usó penicilina procaínica como antibiótico; después de la cirugía a los animales se les dieron siete días para recuperarse con acceso a comida y agua sin restricción.

## ***5.3 Procedimiento de la microinyección***

Se inyectó la anisomicina a través (120 mg/mL) de las cánulas, con jeringas marca Hamilton de 25  $\mu$ L, se inyectó una hora antes del CAS, el volumen total inyectado fue de 1  $\mu$ L / min en la corteza insular y en las amígdalas fue de 0.5  $\mu$ L / min. El inyector se

---

mantuvo por un minuto adicional para permitir la completa difusión del fármaco. Para evitar que las ratas se estresaran fueron manipuladas por varios días antes de la inyección.

## **5.4 Fármacos**

Se utilizó como vehículo una solución artificial de líquido cefalorraquídeo (mM: 125 NaCl, 5 KCl, 1.25 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O, 1.5 MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O, 26 NaHCO<sub>3</sub>, 10 glucosa, 2.5 CaCl<sub>2</sub>). Como inhibidor de la síntesis de proteínas se utilizó anisomicina (Sigma) a una concentración de 120 mg/mL, concentración que tiene efectos en la consolidación de la memoria de aversión (Rosenblum *et al.*, 1993); a la solución vehículo se le agregó una cantidad equimolar de HCl y se disolvió en solución vehículo ajustando después el pH a 7.4.

## **5.5. Procedimientos conductuales**

### **5.5.1. Condicionamiento de aversión al sabor (CAS)**

Los animales fueron inicialmente sometidos a una privación de agua durante 24 horas. En los siguientes tres días se les permitió el acceso a agua durante 15 minutos por las mañanas (10:00 ± 1 horas), lo anterior con el fin de obtener la tasa de consumo de líquido diario (línea base). En el cuarto día a los animales se les permitió el acceso durante 15 minutos a una solución de sacarina sódica al 0.1 % en sustitución del agua y 15 minutos después de terminado el periodo de consumo de sacarina se les inyectó una solución (10 mL/Kg, i.p.) de cloruro de litio (LiCl) como irritante gástrico a una concentración de 0.15 M. Después de 4 horas las ratas tuvieron nuevamente acceso al agua por 15 minutos para evitar una

---

posible deshidratación. Para los grupos de reexposición al condicionamiento se realizó a las 24 hrs. una segunda sesión de CAS con las mismas características que la primera, la finalidad de aplicar el inhibidor de la síntesis de proteínas en segundo CAS fue la de afectar la actualización de la nueva información. Para los grupos con nivel máximo de aprendizaje y estabilidad en el condicionamiento (experimento 3), se realizaron 4 sesiones de CAS consecutivas (una por día) similares a las anteriores con el fin de que los sujetos alcanzaran la asíntota de la curva de aprendizaje; el quinto día de CAS se realizó la microinyección de anisomicina. Las sesiones prueba para evaluar el efecto de las diferentes condiciones experimentales se realizaron para todos los casos un día después de concluido el entrenamiento en CAS (ver sección VI: EXPERIMENTOS).

### ***5.6. Procedimientos histológicos***

Después de terminado el experimento era necesario saber si las cánulas fueron implantadas correctamente en las estructuras estudiadas, para esto, las ratas fueron anestesiadas profundamente con pentobarbital sódico (100 mg/kg), después profundidas por vía aórtica con solución salina (0.9 %). Los cerebros fueron extraídos y puestos en paraformaldehído (4%). Una vez que el tejido estuvo fijado fue puesto en soluciones de sacarosa del 10, 20 y 30% (24 horas en cada solución). Los cerebros fueron cortados a 40 micras, teñidos con violeta de cresilo y fueron analizados al microscopio mediante la técnica del campo claro con el fin de verificar la posición de las cánulas. En las figuras 8, 9 y 10 se muestran las microfotografías representativas de la ubicación de las cánulas implantadas. Los animales detectados con una implantación errónea de las cánulas fueron descartados del análisis estadístico.

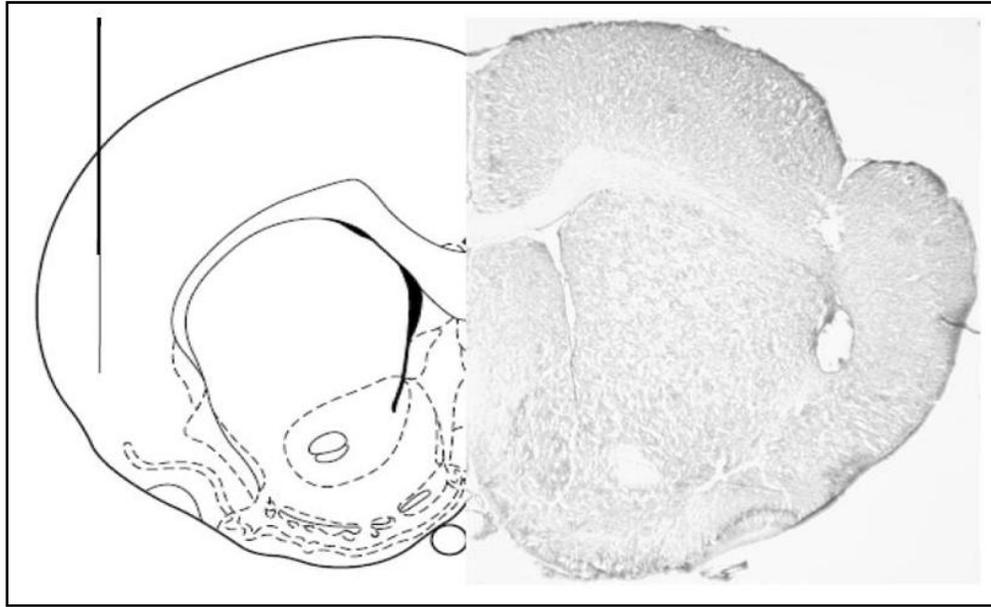


Figura 8. A la derecha se observa una microfotografía de uno de los cortes coronales del cerebro de una rata, de 40 micras de espesor, teñido con violeta de cresilo. En la imagen se muestra la lesión producida por la cánula en el tejido cerebral, así como la región a la que se dirigieron las microinyecciones en la CI. A la izquierda se presenta un esquema de la altura coronal correspondiente a la región de interés tomada de Paxinos y Watson (1998).

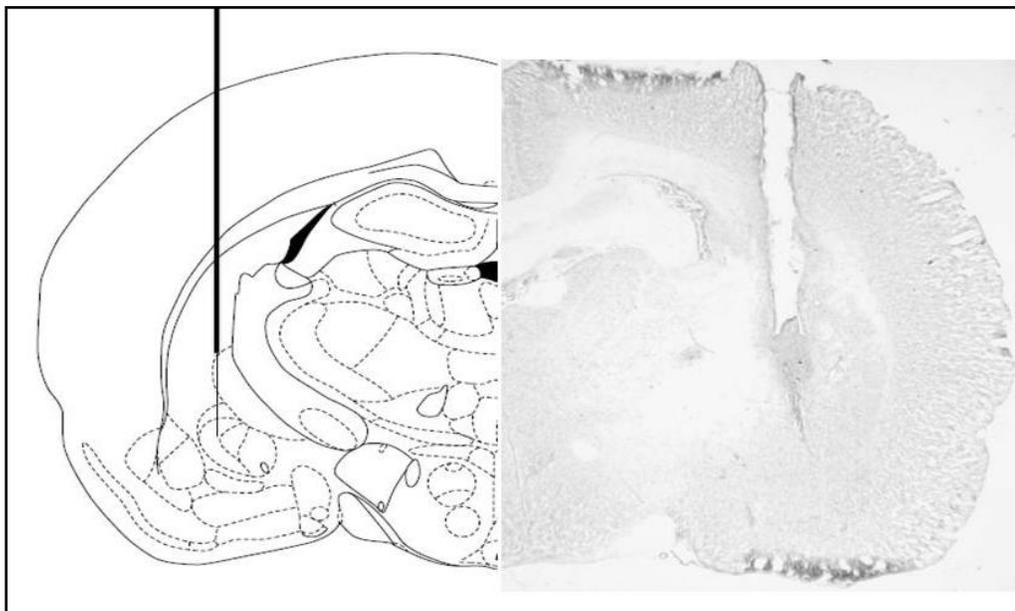


Figura 9. A la derecha se observa una microfotografía de uno de los cortes coronales del cerebro de una rata, de 40 micras, teñido con violeta de cresilo. En la imagen se muestra la lesión producida por la cánula en el tejido cerebral, así como la región a la que se dirigieron las microinyecciones en la AC. A la izquierda se presenta un esquema de la altura coronal correspondiente a la región de interés tomada de Paxinos y Watson (1998).

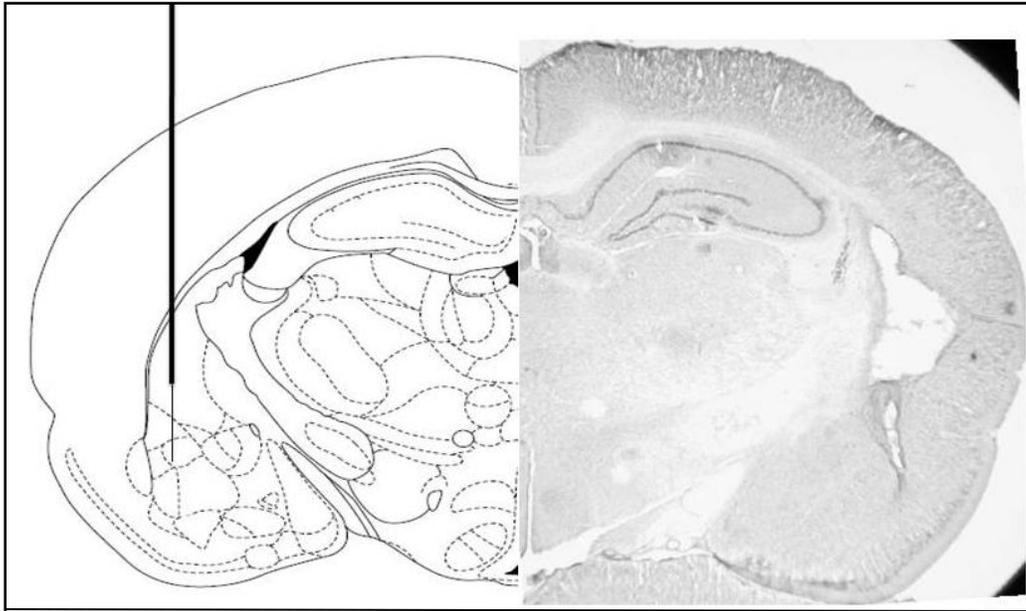


Figura 10. A la derecha se observa una microfotografía de uno de los cortes coronales del cerebro de una rata, de 40 micras de espesor, teñido con violeta de cresilo. En la imagen se muestra la lesión producida por la cánula en el tejido cerebral, así como la región a la que se dirigieron las microinyecciones en la ABL. A la izquierda se presenta un esquema de la altura coronal correspondiente a la región de interés tomada de Paxinos y Watson (1998).

## 5.7 Análisis de resultados

Para el registro del consumo de líquidos se utilizaron como bebederos probetas graduadas de plástico de 50 mL con tapón de hule y pipeta de metal. El registro del consumo de agua o solución de sacarina se tomó con una precisión de  $\pm 0.5$  mL. Para el análisis se registró la cantidad de líquido ingerido en mililitros.

Para el análisis estadístico de resultados se utilizaron diferentes pruebas estadísticas paramétricas. En el caso del primer y segundo experimento se utilizó un ANOVA factorial de los resultados (media  $\pm$  error estándar) de la sesiones prueba para analizar si existieron diferencias significativas y posteriormente se realizó un análisis *post hoc* de Fisher para comparar diferencias entre grupos específicos. Se utilizó una prueba *t* pareada para

---

comparar el promedio de consumo de un mismo grupo en dos mediciones. En el último experimento se realizó una prueba  $t$  no pareada para el día de la prueba. Cabe destacar que dado al número de grupos en cada experimento (experimento 1. 3 grupos control y 3 grupos vehículo. Experimento 2. 2 grupos control y 2 grupos experimentales. Experimento 3. 1 grupo control y 1 grupo experimental) se decidió homologar los grupos vehículo en un solo grupo por razones de claridad al momento de presentar los datos graficados, los análisis estadísticos fueron realizados cada grupo experimental con su respectivo grupo control.

---

## **VI. EXPERIMENTOS**

En total se realizaron 3 experimentos, cada experimento estuvo dividido en diferentes condiciones que a continuación se especifican.

### **6.1. Experimento 1. Inhibición de la síntesis de proteínas en la corteza insular, amígdala central o amígdala basolateral en condiciones donde se integra información a la memoria.**

Se analizaron tres grupos con las siguientes tres condiciones, 1) corteza insular, 2) amígdala basolateral y 3) amígdala central, cada condición tuvo su respectivo grupo control. La organización general del experimento fue de la siguiente manera:

#### ***6.1.1. Protocolo de entrenamiento de CAS.***

Después de tres días de línea base, en el cuarto día se realizó el primer CAS, el quinto día 60 minutos antes del segundo CAS, se aplicó la microinyección de anisomicina/vehículo (figura 8). La sesión prueba se realizó al día siguiente y consistió en la presentación de la solución de sacarina 0.1% por 15 minutos.

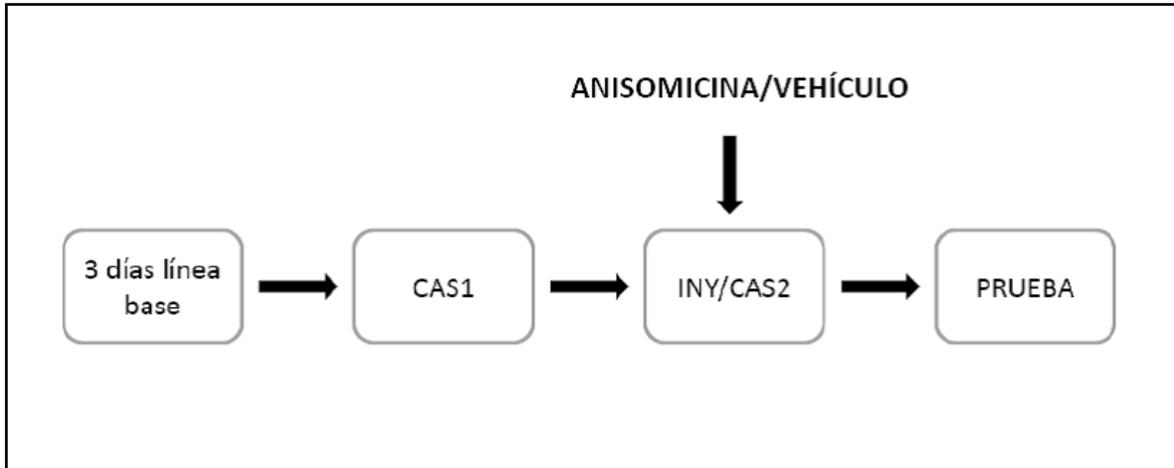


Figura 11. Protocolo del experimento 1. Después de tres días de línea base, se realizó la presentación de sacarina seguida de la inyección intraperitoneal de LiCl (CAS1), al día siguiente una hora antes de la presentación de la sacarina se realizó la microinyección (INY) de anisomicina o solución vehículo y la segunda sesión de CAS. La sesión prueba fue realizada al día siguiente.

Los animales fueron divididos en dos grupos de la siguiente manera

| Grupo       | tratamiento   | Animales en CI | Animales en AC | Animales en ABL |
|-------------|---|----------------|----------------|-----------------|
| anisomicina | Anisomicina 60 minutos antes de la aplicación del segundo CAS       | 32             | 26             | 12              |
| vehículo    | Solución vehículo 60 minutos antes de la aplicación del segundo CAS | 30             | 27             | 12              |

### 6.1.2. Análisis de datos

Los datos que se analizaron fue el consumo de sacarina el día de la prueba. Las pruebas estadísticas usadas fueron: un ANOVA factorial únicamente para los resultados del día de

---

la prueba, con un análisis *post hoc de Fisher* para comparar diferencias entre grupos. Se realizó una *t de student* pareada para comparar un mismo grupo en el día de la prueba y el consumo previo.

### **6.1.3. Resultados**

Como se muestra en la figura 9, el consumo de sacarina el día de la prueba de los grupos inyectados con anisomicina en la corteza insular o en la amígdala central fue similar a su consumo el día del segundo CAS, lo que refleja una falta de consolidación de la memoria de aversión adquirida en el segundo condicionamiento. Por el otro lado, el grupo inyectado con anisomicina en la amígdala basolateral presentó una disminución importante en su consumo (del 70% al 30%) similar a la que se observó en el grupo vehículo, lo que indica que no hubo efecto de la inhibición de la síntesis de proteínas sobre la memoria de aversión. El análisis de ANOVA factorial para el día de la prueba reveló diferencias estadísticamente significativas en el factor intragrupos ( $F_{(5,133)} = 7.01$   $p < 0.01$ ). El análisis *post hoc de Fisher* mostró que los resultados de los grupos inyectados con anisomicina en la amígdala central y la corteza insular son estadísticamente distintos de sus respectivos vehículos ( $p$ 's  $< 0.01$ ), mientras que el grupo inyectado en la amígdala basolateral no mostró diferencia contra el vehículo ( $p > 0.05$ , NS). Adicionalmente, cuando se efectuó una prueba de *t* pareada para los distintos grupos entre el día de la prueba y el día de la inyección se observó que los grupos inyectados con anisomicina en la corteza insular o la amígdala central no presentaron diferencias entre sus consumos ( $p > 0.05$ , NS). Por el otro lado el grupo de anisomicina en la amígdala basolateral mostró una disminución en su consumo el día de la prueba ( $t_{(23)} = 8.47$   $p < 0.01$ ); lo mismo se observó en los grupos

vehículo ( $p < 0.01$ ). Estos resultados muestran que se necesita de la síntesis de proteínas en la corteza insular y la amígdala central para consolidar la memoria de aversión que se adquiere durante el segundo entrenamiento de aversión (CAS2); mientras que la síntesis de proteínas en la amígdala basolateral no parece ser necesaria para la consolidación de la memoria de aversión gustativa.

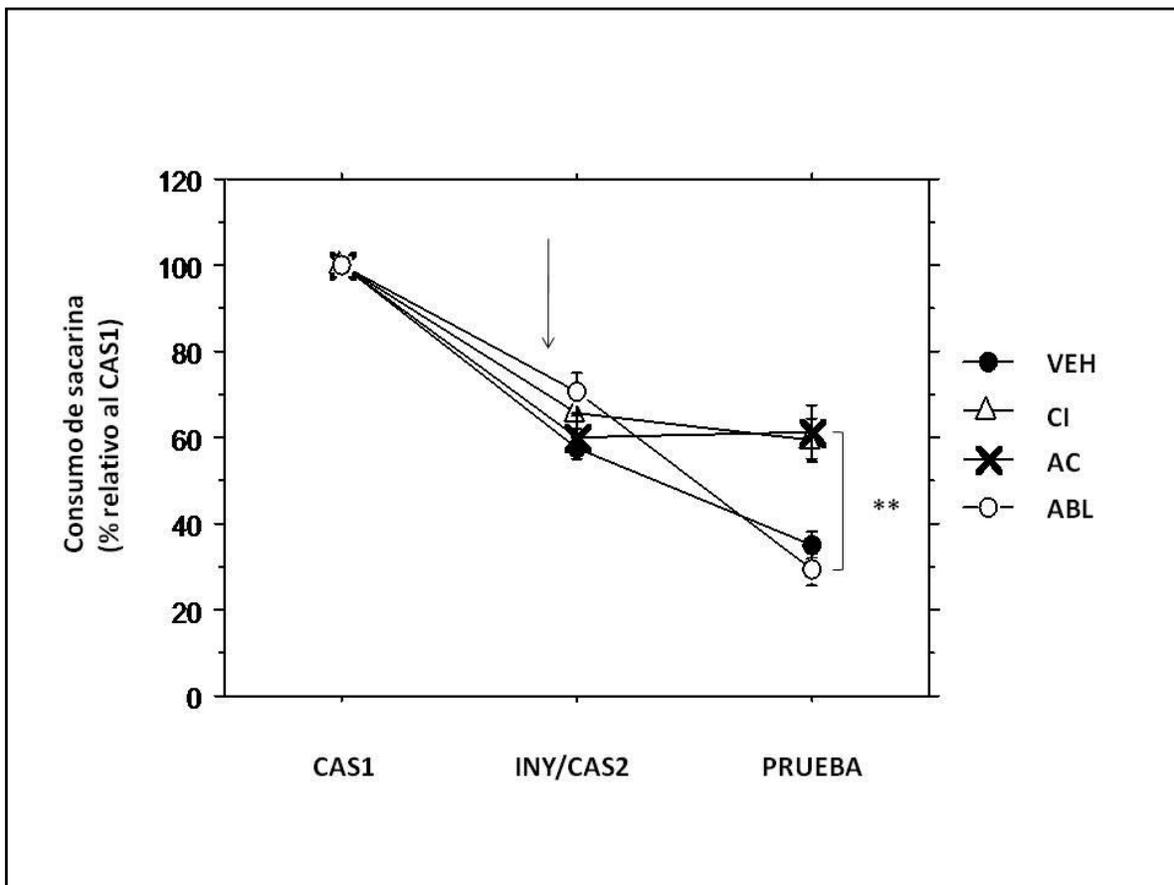


Figura 12. En la gráfica se muestran las dos sesiones de adquisición: CAS1 y CAS2, y el día de la prueba de memoria de aversión para los grupos inyectados con el inhibidor de la síntesis de proteínas en la corteza insular (CI), amígdala central (AC) o basolateral (ABL); por razones de claridad los vehículos se homologaron en un solo grupo (VEH) aunque los análisis estadísticos se hicieron comparando el grupo anisomicina contra su respectivo control para cada estructura. La flecha indica el momento de la inyección cerebral. \*\* =  $p < 0.01$  entre el grupo inyectado en la CI o AC y su respectivo grupo vehículo. Los resultados se muestran en medias  $\pm$  error estándar.

---

## 6.2. Experimento 2. Inhibición de la síntesis de proteínas en la corteza insular y la amígdala central o en la corteza insular y la amígdala basolateral en condiciones donde se integra información a la memoria.

En este experimento se analizaron las siguientes dos condiciones que fueron: 1) corteza insular-Amígdala central y 2) corteza insular-Amígdala basolateral. Cada condición tuvo su respectivo control.

### 6.2.1. Protocolo de entrenamiento de CAS.

Se realizó el mismo protocolo que en el experimento 1. Las microinyecciones en la corteza insular-Amígdala central y corteza insular-Amígdala basolateral se realizaron 60 minutos antes del segundo CAS como se muestra en la figura 10, la prueba se realizó al día siguiente y consistió en la presentación de la solución de sacarina 0.1% durante 15 minutos.

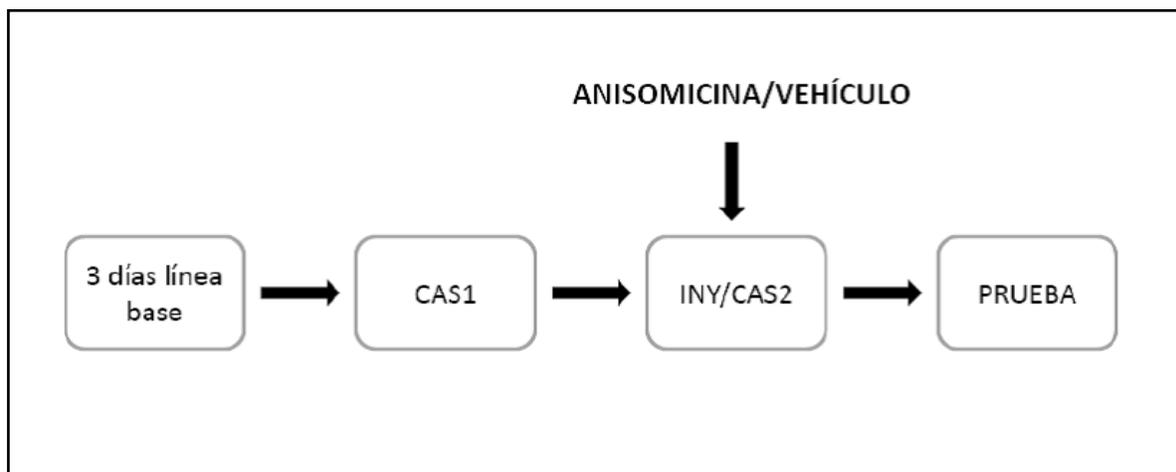


Figura 13. Protocolo del experimento 2. Después de tres días de línea base, se realizó la presentación de sacarina seguida de la inyección intraperitoneal de LiCl (CAS1), al día siguiente, una hora antes de presentar la sacarina, se realizó la microinyección (INY) de anisomicina o vehículo. La sesión prueba fue al día siguiente.

---

Los animales fueron divididos en grupos de la siguiente manera

| <b>Grupo</b> | <b>Tratamiento</b>  | <b>Animales en CI-AC</b> | <b>Animales en CI-ABL</b> |
|--------------|---|--------------------------|---------------------------|
| Anisomicina  | Anisomicina 60 minutos antes de la aplicación del segundo CAS       | 22                       | 19                        |
| Vehículo     | Solución vehículo 60 minutos antes de la aplicación del segundo CAS | 21                       | 27                        |

### **6.2.2. Análisis de datos**

Los datos que se analizaron fue el consumo de sacarina el día de la prueba. Las pruebas estadísticas usadas fueron: un ANOVA factorial únicamente el día de la prueba, con un análisis *post hoc* de Fisher para comparar diferencias entre grupos, adicionalmente se realizó una *t de student* pareada para comparar un mismo grupo en el día de la prueba y el consumo previo.

### **6.2.3. Resultados**

En los experimentos anteriores no se encontró efecto por la inhibición de la síntesis de proteínas sobre la memoria previamente consolidada (primer CAS) sin embargo, si se observó un efecto sobre la consolidación de la nueva memoria (segundo CAS) cuando el inhibidor de la síntesis de proteínas se inyectó en la corteza insular o la amígdala central. Debido a esto, se realizaron los siguientes experimentos con inyecciones de anisomicina en

---

ambas estructuras al mismo tiempo, con el fin de analizar la coparticipación de ambas estructuras sobre el mantenimiento en el largo plazo de la respuesta de aversión condicionada al sabor en condiciones de reexposición al condicionamiento. En estos experimentos se implantaron cánulas en 2 estructuras diferentes en cada animal, unas ratas fueron implantadas en la corteza insular y la amígdala central y el resto en la corteza insular y la amígdala basolateral. Se realizó el protocolo conductual de la siguiente manera: tres días de línea base de consumo de agua, aquí sólo se les presentó agua por 15 minutos para que se habituaran a consumir líquido una vez al día. En el cuarto día se presentó sacarina al 0.1 % (EC) por 15 minutos, quince minutos después de terminado el consumo se inyectó de manera intraperitoneal cloruro de litio 0.15 M (10mL/kg) como agente irritante (EI). En el quinto día se aplicó, a través de las cánulas, una microinyección de anisomicina o solución vehículo 60 minutos antes de la presentación de sacarina y 15 minutos después de terminado el consumo, una vez más se aplicó la inyección intraperitoneal de cloruro de litio, llevándose a cabo la sesión prueba al día siguiente sólo presentando el EC, el protocolo se muestra en la figura 10.

En la figura 11 se muestra que el grupo inyectado con anisomicina en la corteza insular y la amígdala central presentó un incremento significativo en su consumo el día de la prueba con respecto al grupo inyectado en la corteza insular y la amígdala basolateral que mostró un consumo similar el día de la prueba y el de inyección de anisomicina. Al aplicar un ANOVA factorial para el día de la prueba se obtuvo un efecto de grupo ( $F_{(3,85)} = 16.52$   $p < 0.01$ ). El análisis *post hoc* de Fisher reveló que ambos grupos inyectados con anisomicina son estadísticamente diferentes a sus respectivos controles ( $p$ 's  $< 0.01$ ).

Importantemente el análisis *post hoc* entre los dos grupos inyectados con anisomicina también mostró diferencias ( $p < 0.05$ ), lo que indica claramente que el grupo inyectado en la insular y central presentó un deterioro sobre la memoria previamente consolidada. En cambio el grupo inyectado en la insular y basolateral tuvo un efecto exclusivamente sobre la memoria adquirida en el segundo CAS; este efecto es similar al observado en los experimentos anteriores cuando se inyectó solamente en la amígdala central o la corteza insular.

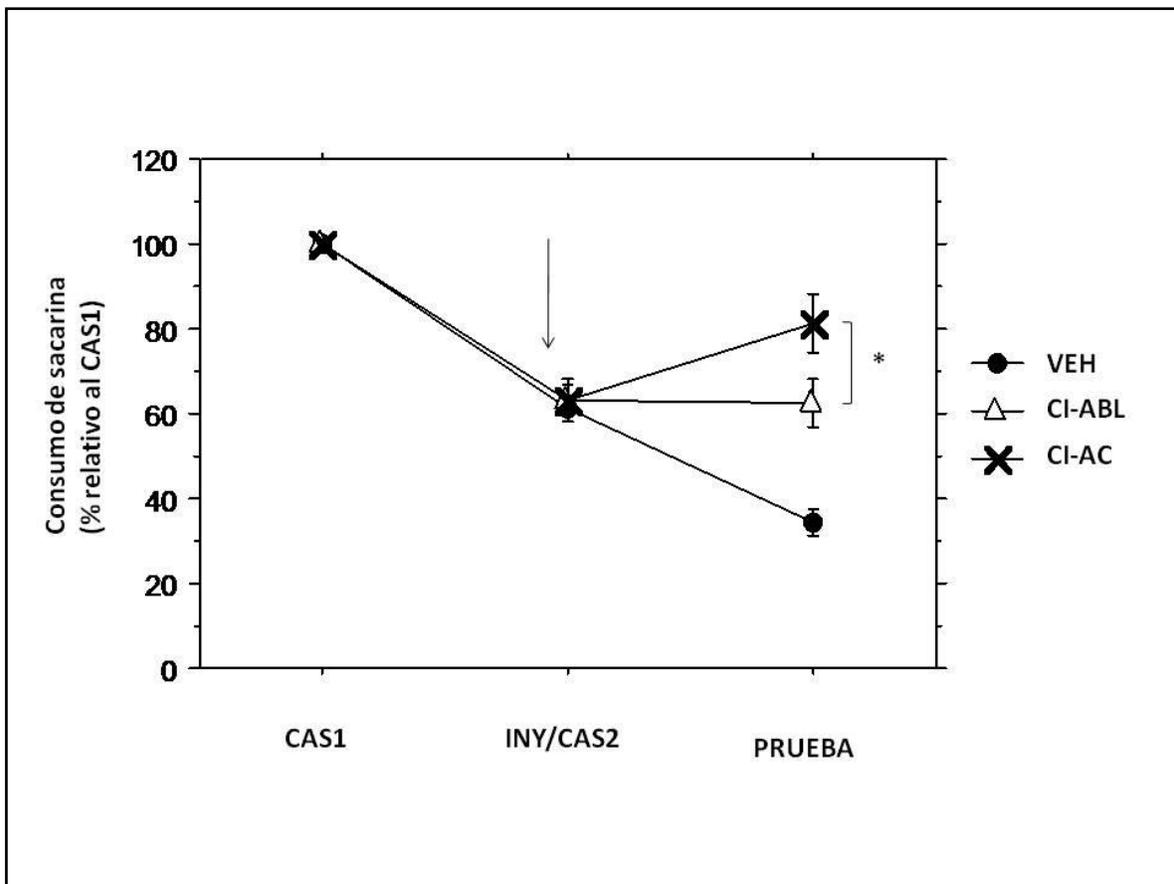


Figura 14. En la gráfica se muestran las dos sesiones de adquisición y el día de la prueba de memoria de aversión para los grupos inyectados con el inhibidor de la síntesis de proteínas en la corteza insular y amígdala central (CI-AC) o en la corteza insular y amígdala basolateral (CI-ABL); por razones de claridad los vehículos se homologaron en un solo grupo (VEH) aunque los análisis estadísticos se hicieron comparando el grupo anisomicina contra su respectivo control para cada condición. La flecha indica el momento de la inyección cerebral. \* =  $p < 0.05$ , \*\*= $p < 0.01$ . Los resultados se muestran en medias  $\pm$  error estándar.

---

### 6.3. Experimento 3. Inhibición de la síntesis de proteínas en la corteza insular y la amígdala central en condiciones de nivel máximo de aprendizaje.

En este experimento se analizó una condición que fue corteza insular-amígdala central, con su respectivo grupo control.

#### 6.3.1. Protocolo de entrenamiento de CAS.

Después de tres días de línea base, del cuarto al séptimo día se realizó un CAS por día. Las microinyecciones en la corteza insular-amígdala central se realizaron 60 minutos antes del quinto condicionamiento (octavo día) como se muestra en la figura 12, la prueba se realizó al día siguiente y consistió en la presentación de la solución de sacarina 0.1% durante 15 minutos.

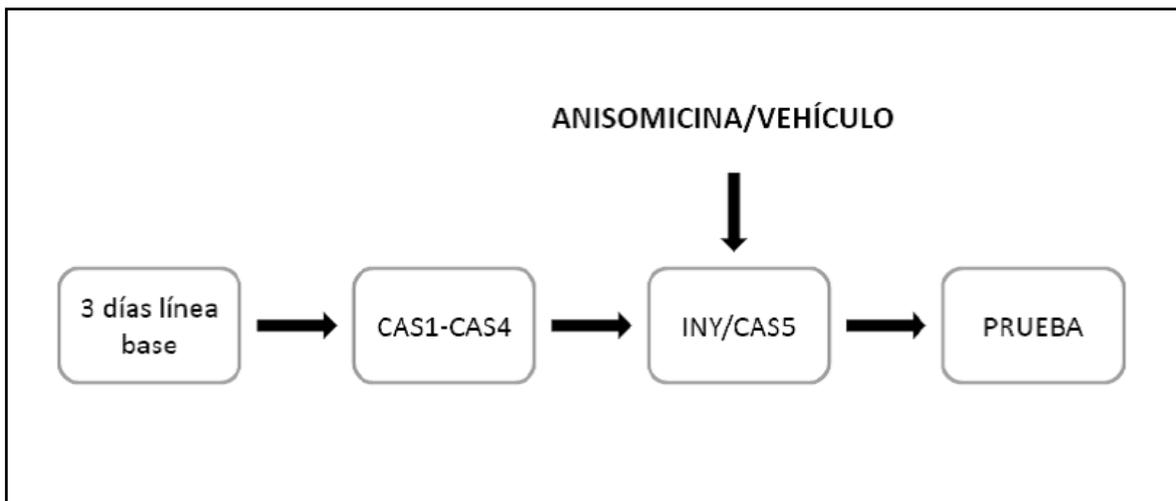


Figura 15. Protocolo del experimento 3. Después de tres días de línea base se aplicaron 4 CAS consecutivos (uno por día), 60 minutos antes de hacer el quinto CAS se realizó la microinyección (INY) de anisomicina o solución vehículo. La sesión prueba se hizo al día siguiente

---

Los animales fueron divididos en grupos de la siguiente manera

| <b>Grupo</b>       | <b>Tratamiento</b>   | <b>Animales en CI-AC</b> |
|--------------------|--|--------------------------|
| <b>Anisomicina</b> | Anisomicina 60 minutos antes de la aplicación del quinto CAS       | <b>15</b>                |
| <b>Vehículo</b>    | Solución vehículo 60 minutos antes de la aplicación del quinto CAS | <b>18</b>                |

### ***6.3.2. Análisis de datos***

Se realizó una prueba *t de student* el día de la prueba, para buscar diferencias entre los dos grupos

### ***6.3.3. Resultados***

Los siguientes experimentos fueron diseñados para contestar si el deterioro observado en la memoria previamente consolidada se mantenía en condiciones donde la memoria no se actualiza (asíntota de la curva de aprendizaje del CAS). Rodriguez-Ortiz y cols. (2005) reportaron que bajo condiciones donde ya no es evidente la actualización de la memoria, esto es, no hay cambio en la conducta, ya no es posible deteriorarla con inhibidores de la síntesis de proteínas después de evocarla. Para abordar este punto se diseñó el siguiente experimento donde los animales alcanzaron un nivel máximo de desempeño en la tarea de

---

CAS antes de evocar la memoria e inhibir la síntesis de proteínas. En este experimento se implantaron cánulas en la corteza insular y amígdala central de las ratas. Se aplicó el protocolo conductual de la misma manera que en los experimentos pasados sólo que en esta ocasión se realizaron cinco asociaciones consecutivas de CAS. Una hora antes de la última asociación (quinto CAS) se hizo la microinyección de anisomicina o vehículo en la corteza insular y la amígdala central. La sesión prueba se llevó a cabo al día siguiente sólo presentando la sacarina (EC) como se muestra en la figura 12.

Con la inyección de anisomicina simultanea en la insular y central se observó deterioro sobre la memoria previamente consolidada en condiciones de actualización de la memoria (fig. 11, sesión prueba). Sin embargo, como se observa en la figura 13, la inyección de anisomicina en estas mismas estructuras no produjo ningún efecto en la memoria de largo plazo si se realiza en condiciones donde la conducta no cambia (asíntota de la curva de aprendizaje de CAS). El análisis con la prueba *t* de Student no pareada para el día de la prueba no reveló diferencias significativas entre los grupos ( $t_{(31)} = 1.66$   $p > 0.05$ , NS). De este resultado se concluye, en apoyo a observaciones anteriores, que en condiciones donde no hay actualización ya no es posible afectar la memoria inhibiendo la síntesis de proteínas a pesar de ser evocada.

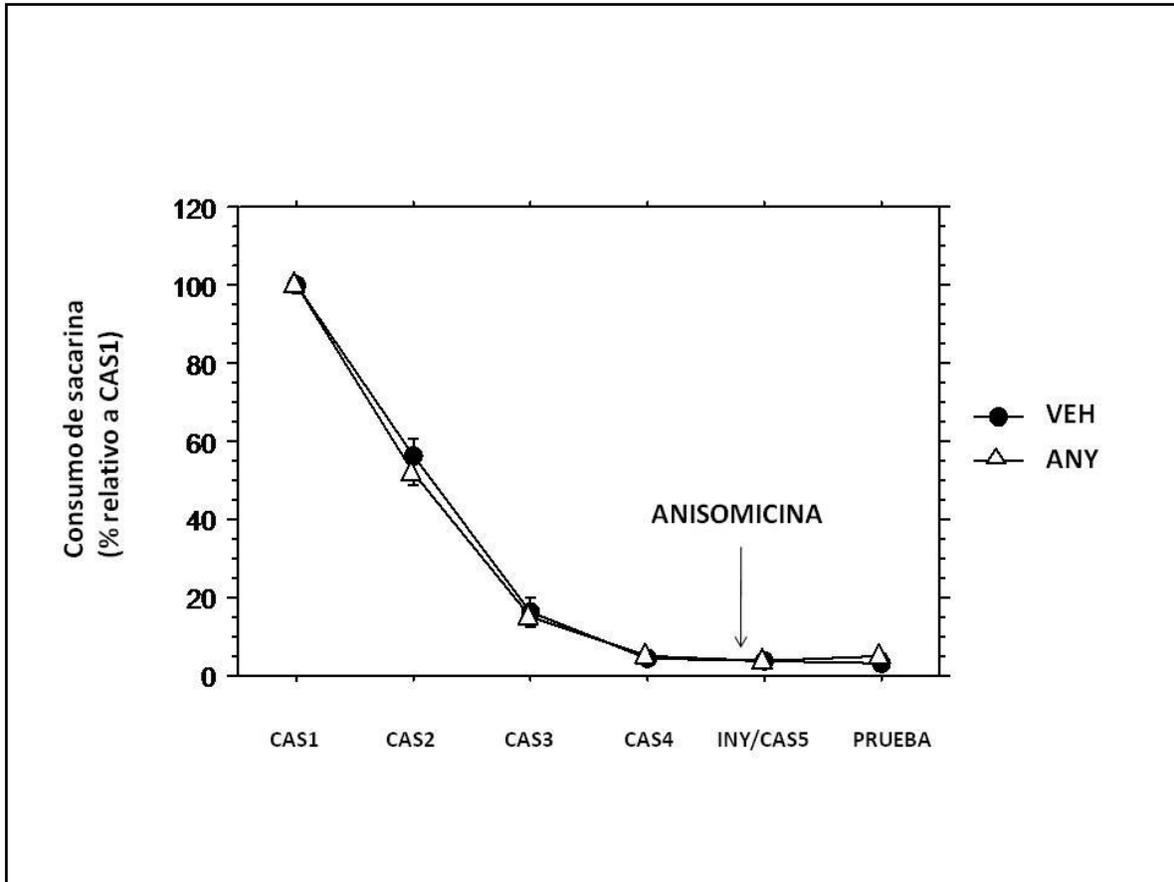


Figura 16. En la gráfica se muestran las cinco adquisiciones y el día de la prueba de memoria de aversión para el grupo inyectado con el inhibidor de la síntesis de proteínas en la corteza insular y la amígdala central (ANY) o inyectado con solución vehículo (VEH). Se observa que a pesar de haberse inyectado en ambas estructuras la anisomicina no deteriora la memoria (prueba). La flecha indica el momento de la inyección cerebral. Los resultados se muestran en medias  $\pm$  error estándar.

## VII DISCUSIÓN

### 7.1 La síntesis de proteínas conjunta en la corteza insular y la amígdala central es indispensable para consolidar a la memoria de aversión gustativa.

La consolidación o estabilización de la memoria en el largo plazo requiere de la síntesis de proteínas, éste es un postulado aceptado en el estudio de la memoria (McGaugh, 2000). En

---

esta investigación encontramos que al inyectar el inhibidor de la síntesis de proteínas anisomicina en la corteza insular o la amígdala central se afectó la consolidación de la información entrante. Esto se reflejó, en el experimento 1, en un incremento en el consumo de sacarina en comparación con el grupo control. Por el contrario, los animales inyectados con solución vehículo tuvieron una disminución significativa en su consumo lo que demuestra que los animales adquieren una mayor aversión a ese sabor (información entrante) el día de la inyección intracerebral (segundo CAS) (figura 9). De manera similar, se observó que la inyección de anisomicina en la amígdala basolateral no tuvo efecto sobre la memoria. Este dato indica que esta estructura no participa en la consolidación de esta memoria de aversión. Estos resultados son congruentes con un par de estudios previos (Bahar *et al.*, 2003; Rosenblum *et al.*, 1993), donde se reportó que la amígdala central y la corteza insular son estructuras que requieren de la síntesis de proteínas para la consolidación del CAS. Debido a que la inhibición de la síntesis de proteínas en cualquiera de las dos estructuras es suficiente para evitar la consolidación de la memoria de aversión, se concluye que la síntesis de proteínas en ambas estructuras es indispensable para almacenar en el largo plazo la memoria de aversión gustativa.

## ***7.2 Mecanismos celulares implicados en la consolidación de la memoria de aversión***

### **7.2.1 Receptores a glutamato**

Una serie importante de trabajos indican que para almacenar los recuerdos el cerebro requiere de modificaciones en sus neuronas, específicamente en sus sinapsis, a esto se le llama plasticidad sináptica (Martin *et al.*, 2000). Para que se lleve a cabo la plasticidad

---

sináptica implicada en el almacenamiento de la memoria se necesita de la expresión de factores de transcripción temprana y de la síntesis de proteínas (Adams y Dudek, 2005). Así como de la participación de diversos neurotransmisores de los cuales uno de los más importantes para la memoria es el glutamato (Rao y Finkbeiner, 2007). El glutamato es el principal neurotransmisor excitatorio en el cerebro, es liberado de las terminales sinápticas y activa diferentes tipos de receptores; entre los ionotrópicos se incluyen los del tipo AMPA ( $\alpha$ -amino3-hidroxi-5-metil-4-acido isoxazolepropionico), así como a los de tipo NMDA. Los receptores AMPA están compuestos por combinaciones de las subunidades GluR1, GluR2, GluR3 y GluR4. Los receptores AMPA que carecen de la subunidad GluR2 son permeables al  $\text{Ca}^{2+}$ . En contraste, los receptores NMDA están formados por subunidades NR1, NR2 y NR3 y son todos permeables al  $\text{Ca}^{2+}$  (Rao y Finkbeiner, 2007). Para la consolidación del CAS es vital la entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  en la corteza insular ya que estimula la fosforilación del receptor en la subunidad NR2B; dicho evento puede elevar los niveles del factor de transcripción CREB, que a su vez induce la síntesis de proteínas (Bermudez-Rattoni, 2004).

Al igual que en la corteza insular, se ha demostrado que la liberación de glutamato en la amígdala es también un paso crítico para la adquisición del CAS (Miranda *et al.*, 2002). Se ha propuesto que la amígdala juega un papel importante en el CAS ya que modula la consolidación de esta memoria. Por ejemplo, la administración de glutamato en la amígdala fortalece una memoria débil de CAS (Miranda *et al.*, 2002). En experimentos relacionados, Ferreira y colaboradores (Ferreira *et al.*, 2005) administraron, al igual que en el reporte anterior, glutamato directamente en la amígdala, pero además, aplicaron al

---

mismo tiempo AP5, un antagonista de los receptores NMDA, en la CI. La manipulación farmacológica de estos receptores en la CI bloqueó la modulación positiva que tiene la amígdala en la consolidación de la memoria de aversión (Ferreira *et al.*, 2005). Estos resultados apuntan que la amígdala regula a la CI a través de actividad glutamatérgica. Para abordar la relación directa que existe entre la amígdala y la CI en la consolidación del trazo de memoria de aversión al sabor se usó la potenciación a largo plazo (LTP, por sus siglas en inglés). La LTP es un modelo experimental de plasticidad celular en donde se induce, mediante estimulación breve de alta frecuencia, cambios plásticos en las sinapsis, que pueden durar horas, días o incluso semanas. Escobar y Bermudez-Rattoni estimularon la amígdala con pulsos de voltaje de una frecuencia de 100Hz, por intervalos de 20 segundos y registraron una potenciación de la respuesta sináptica en la CI. Además, reportaron que ratas estimuladas en la amígdala bajo este protocolo tienen una mejor retención del CAS que ratas control (Escobar y Bermudez-Rattoni, 2000). Una vez que se estableció la relación directa entre la amígdala y la corteza insular en la consolidación de la memoria de aversión, vino la pregunta ¿Qué neurotransmisores modulan esta potenciación? Para esto, Escobar y colaboradores (Escobar *et al.*, 2002) indujeron una LTP entre la amígdala y la CI pero ahora utilizaron manipulaciones farmacológicas. Observaron que la aplicación de CCP (3-(2-carboxipiperazin)-propil-1-ácido fosfónico) y AP-5 (ácido D-2-amino-5-fosfonopentatónico), ambos antagonistas de los receptores tipo NMDA, bloquearon la memoria de largo plazo del CAS, así como también la inducción *in vivo* del LTP. Concluyeron que el sistema de neurotransmisión de glutamato en la CI es indispensable para la formación de la memoria de aversión. Además, indican que esta regulación es importante para el establecimiento de la memoria del CAS. En nuestros experimentos

---

observamos que la amígdala central (pero no la amígdala basolateral) participa en la consolidación de la memoria de aversión, ya que al inhibir la síntesis de proteínas evitamos la formación de dicha memoria. Esta serie de reportes nos demuestran no sólo que la amígdala tiene un papel como sitio de consolidación de la memoria del CAS, sino además, que modula, a través de la liberación de glutamato, a la CI para permitir que esa estructura sea también sitio de consolidación de la memoria de aversión a los sabores.

### **7.2.2. Síntesis de proteínas**

Uno de los grupos más importantes de proteínas que participan en la consolidación de la memoria de aversión en la CI y la AC son los genes de expresión temprana (IEG's, por sus siglas en inglés). Estos genes se expresan rápida y transitoriamente por la actividad neuronal (Davis *et al.*, 2003). Los IEG's se activan por cascadas de señalización en las cuales están involucradas cinasas, que a su vez interactúan con estos genes para inducir cambios plásticos en las células (Davis *et al.*, 2003). c-fos es uno de los IEG's que se ha visto implicado en la plasticidad sináptica y la consolidación de la memoria, razón por la cual es muy estudiado (Davis *et al.*, 2003). Al realizar inmunohistoquímica para la proteína c-Fos se observó una expresión importante de este gen en la amígdala y la corteza insular tras la presentación de un sabor nuevo como la sacarosa (Yamamoto, 2006). Igualmente, al presentar un sabor nuevo pero seguido de una inyección intraperitoneal de LiCl, se observó expresión de c-Fos en la amígdala y en la CI (Bernstein y Koh, 2007). También se reportó que se necesita de una dosis alta de LiCl para que haya expresión de este gen en dichas estructuras (Ferreira *et al.*, 2006). Estos estudios apoyan los datos reportados en el presente trabajo, e indican que uno de los candidatos que seguramente se inhibe en nuestro protocolo

---

es c-Fos. Estudios posteriores permitirán seguir caracterizando cuales otras proteínas son sintetizadas en la CI y la amígdala para permitir la consolidación del CAS.

### ***7.3 La síntesis de proteínas en la corteza insular o la amígdala central es suficiente para mantener en el almacén de largo plazo a la memoria de aversión gustativa cuando a ésta se le incorpora información***

La teoría de la reconsolidación propone que la memoria previamente consolidada al momento de evocarla se vuelve lábil, susceptible a ser modificada por el efecto de diversos tratamientos (Dudai, 2004). La reconsolidación es un proceso que se mantiene controversial en parte por no encontrarse cada vez que la memoria es evocada y en parte por falta de evidencia sobre su función para la memoria. En los estudios que abordan al proceso de reconsolidación no se ha analizado en detalle si después de la aplicación del tratamiento, el desempeño de los animales es similar al de antes de ser entrenados. Comúnmente se observa un deterioro en la respuesta condicionada y se presume que el efecto es total sobre la memoria (para una excepción referirse a Morris *et al.*, 2006). En la presente investigación no se observó que la inyección simultánea del inhibidor en la corteza insular y la amígdala central deteriore la memoria previamente consolidada en tal grado que el desempeño observado el día de la prueba sea similar al demostrado antes del primer condicionamiento (primer CAS, figura 11). Este hallazgo es un argumento a favor de que la reconsolidación no es un proceso que se necesite para realmacenar la memoria cada vez que es evocada. Sin embargo si se observó un efecto parcial sobre la memoria previamente consolidada cuando se inyectó el inhibidor. Esta observación puede ser interpretada bajo la teoría de Rodríguez-Ortiz y colaboradores (2005; 2008), la cual propone que la reconsolidación es parte de un proceso que permite la integración de información relevante

---

a la memoria de largo plazo. La reconsolidación se explicaría como la desestabilización parcial de la memoria previamente consolidada para permitir el acople de la nueva información a la información ya almacenada en el largo plazo (actualizar la memoria). Esto ayuda a entender porque cuando se trata con fármacos que interrumpen a la consolidación se afecta a la memoria previamente consolidada y parece que este proceso tiene la función de consolidar la memoria otra vez. Una cuestión que resulta muy interesante en los resultados presentados en este trabajo es: ¿por qué con sólo una estructura es posible mantener el trazo previo? Parte de la respuesta es que se necesita la síntesis de proteínas en cualquiera de las dos estructuras para poder sostener el trazo de memoria de aversión, independientemente de que estructura sea la CI o la AC, el trazo se sostiene. Lo que indica que las dos estructuras son importantes para la formación de la memoria pero, con sólo una de ellas es posible el mantenimiento de la memoria de aversión después de su reactivación. La CI es importante para la formación de esta memoria porque es la corteza encargada de procesar la información gustativa. La amígdala procesa experiencias que tengan cierta carga emocional, además existe evidencia que muestra su papel modulador en la formación de la memoria de aversión. Por tanto el malestar gástrico provocado por la inyección de LiCl activa a la amígdala que a su vez modula a la corteza insular, y el trazo de memoria es consolidado por estas dos estructuras. Además puede ser que en ambas estructuras exista redundancia en la información consolidada, es decir que en las dos estructuras se almacene la misma información (la aversión a la sacarina) y al inyectar anisomicina en la CI o la AC la estructura que permanece intacta sigue guardando la memoria del CAS previo, pero si es inyectada anisomicina en ambas estructuras al mismo tiempo el trazo se rompe, se desestabiliza y es entonces que se afecta la memoria previamente consolidada.

---

#### ***7.4 La inhibición de la síntesis de proteínas en la ausencia de información actualizada***

En el caso donde los animales ya han alcanzado la máxima respuesta adquirida (asíntota de la curva de aprendizaje) del CAS se observó que al aplicar anisomicina no se afectó a la memoria. Este resultado es congruente con la teoría de que al actualizarse la memoria se desestabiliza la información almacenada en el largo plazo. En las condiciones de asíntota ya no hay más información relevante que incorporar en el trazo de memoria y la evocación no desestabiliza a la memoria previamente consolidada y por lo tanto no hay efecto sobre el desempeño de la tarea con la inyección del inhibidor y por tanto ya no hay actualización.

Después de activar la memoria previamente consolidada, se adquiere nueva información relevante para la memoria “original”, por ejemplo, información sensorial, emocional sobre el EC, el contexto donde éste se presentó, los cuales pueden ser incorporados en el trazo de memoria original (Tronson y Taylor, 2007), haciéndolo diferente ya que van incorporando nueva información al trazo, lo van actualizando (Rodríguez-Ortiz *et al.*, 2005). Diversos estudios han demostrado que para que se incorpore información al trazo es necesario que la memoria entre en un estado dependiente de síntesis de proteínas (Rodríguez-Ortiz *et al.*, 2005; Doyere *et al.*, 2007; Rossato *et al.*, 2007). En un trabajo con humanos (Hupbach *et al.*, 2007), se pidió a sujetos que memorizaran una lista con 20 palabras en el día 1. Después, en el día 2, sólo la mitad de los sujetos tuvo reactivación de la memoria de las 20 palabras del día anterior. En ese mismo día a todos se les pidió que memorizaran una segunda lista de palabras. En la prueba, realizada en el día

---

3, se pidió a los sujetos que repitieran la lista de palabras memorizada en el día 1. Sorpresivamente los sujetos que en el día 2 tuvieron reactivación de la lista 1, cometían errores al confundir palabras de la lista 2 con palabras de la lista 1. Se concluyó que la reactivación reabre la memoria para que sea modificada, por lo tanto la memoria puede ser fortalecida, debilitada o nueva información puede ser incorporada (Hupbach *et al.*, 2007). En este trabajo se observó que para que se consolide la memoria de aversión es necesaria la síntesis de proteínas en la CI y la AC. Los resultados obtenidos en esta tesis apoyan la idea de que al afectar la memoria previamente consolidada, se está interfiriendo con la incorporación de información actualizada al trazo de memoria y que en asíntota la memoria ya no se puede afectar probablemente porque ya no se actualiza.

## **7.5 Conclusiones**

- Para que se dé la consolidación de la memoria de aversión gustativa es necesaria la síntesis de proteínas en la corteza insular y la amígdala central.
- La síntesis de proteínas en la amígdala basolateral no es necesaria para la consolidación de la memoria de aversión gustativa.
- Sólo se requiere de síntesis de proteínas en la corteza insular o la amígdala central para mantener en el almacén de largo plazo a la memoria de aversión gustativa previamente consolidada después de ser reactivada.
- Una vez alcanzado el nivel máximo de desempeño en la tarea de CAS ya no es posible deteriorar a la memoria de aversión gustativa previamente consolidada por la inhibición de síntesis de proteínas en la corteza insular y la amígdala central.

---

## XI. REFERENCIAS

Abraham, W.C., Dragunow, M., and Tate, W.P. (1991). The role of immediate early genes in the stabilization of long-term potentiation. *Mol Neurobiol* 5, 297-314.

Adams, J.P., and Dudek, S.M. (2005). Late-phase long-term potentiation: getting to the nucleus. *Nat Rev Neurosci* 6, 737-743.

Agranoff, B.W., Davis, R.E., and Brink, J.J. (1966). Chemical studies on memory fixation in goldfish. *Brain Res* 1, 303-309.

Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P., (2002). *Molecular biology of the cell*. 4<sup>th</sup> ed., *Garland Science*, New York.

Baddeley, A. (1999) *Memoria humana. Teoría y Práctica*. Madrid España.

Bahar, A., Dorfman, N., and Dudai, Y. (2004). Amygdalar circuits required for either consolidation or extinction of taste aversion memory are not required for reconsolidation. *Eur J Neurosci* 19, 1115-1118.

Bahar, A., Samuel, A., Hazvi, S., and Dudai, Y. (2003). The amygdalar circuit that acquires taste aversion memory differs from the circuit that extinguishes it. *Eur J Neurosci* 17, 1527-1530.

Barondes, S.H., and Cohen, H.D. (1967). Delayed and sustained effect of acetoxycycloheximide on memory in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 58, 157-164.

Belelovsky, K., Elkobi, A., Kaphzan, H., Nairn, A.C., and Rosenblum, K. (2005). A molecular switch for translational control in taste memory consolidation. *Eur J Neurosci* 22, 2560-2568.

Berman, D.E., and Dudai, Y. (2001). Memory extinction, learning anew, and learning the new: dissociations in the molecular machinery of learning in cortex. *Science* 291, 2417-2419.

Bermudez-Rattoni, F. (2004). Molecular mechanisms of taste-recognition memory. *Nat Rev Neurosci* 5, 209-217.

Bermudez-Rattoni, F., Ramirez-Lugo, L., Gutierrez, R., and Miranda, M.I. (2004). Molecular signals into the insular cortex and amygdala during aversive gustatory memory formation. *Cell Mol Neurobiol* 24, 25-36.

Bernstein, I.L., and Koh, M.T. (2007). Molecular signaling during taste aversion learning. *Chem Senses* 32, 99-103.

---

Bozon, B., Davis, S., and Laroche, S. (2003). A requirement for the immediate early gene zif268 in reconsolidation of recognition memory after retrieval. *Neuron* 40, 695-701.

Bucherelli, C., and Tassoni, G. (1992). Engram activation reinstates the susceptibility of consolidated memory traces to retrograde amnesia by functional blockade of parabrachial nuclei. *Behav Brain Res* 51, 61-65.

Cammarota, M., Bevilaqua, L.R., Medina, J.H., and Izquierdo, I. (2004). Retrieval does not induce reconsolidation of inhibitory avoidance memory. *Learn Mem* 11, 572-578.

Cestari, V., Costanzi, M., Castellano, C., and Rossi-Arnaud, C. (2006). A role for ERK2 in reconsolidation of fear memories in mice. *Neurobiol Learn Mem* 86, 133-143.

Chance P (1999) *Learning and Behavior*. Books-cole publishing company.

Davis, H.P., and Squire, L.R. (1984). Protein synthesis and memory: a review. *Psychol Bull* 96, 518-559.

Davis, S., Bozon, B., and Laroche, S. (2003). How necessary is the activation of the immediate early gene zif268 in synaptic plasticity and learning? *Behav Brain Res* 142, 17-30.

Debiec, J., LeDoux, J.E., and Nader, K. (2002). Cellular and systems reconsolidation in the hippocampus. *Neuron* 36, 527-538.

Desmedt, A., Hazvi, S., and Dudai, Y. (2003). Differential pattern of cAMP response element-binding protein activation in the rat brain after conditioned aversion as a function of the associative process engaged: taste versus context association. *J Neurosci* 23, 6102-6110.

Domjan, M. (1976). Determinants of the enhancement of flavored-water intake by prior exposure. *J Exp Psychol Anim Behav Process* 2, 17-27.

Doyere, V., Debiec, J., Monfils, M.H., Schafe, G.E., and LeDoux, J.E. (2007). Synapse-specific reconsolidation of distinct fear memories in the lateral amygdala. *Nat Neurosci* 10, 414-416.

Dudai, Y. (2004). The neurobiology of consolidations, or, how stable is the engram? *Annu Rev Psychol* 55, 51-86.

Duncan, C.P. (1949). The retroactive effect of electroshock on learning. *J Comp Physiol Psychol* 42, 32-44.

Duvarci, S., Nader, K., and LeDoux, J.E. (2005). Activation of extracellular signal-regulated kinase- mitogen-activated protein kinase cascade in the amygdala is required for memory reconsolidation of auditory fear conditioning. *Eur J Neurosci* 21, 283-289.

---

Eisenberg, M., and Dudai, Y. (2004). Reconsolidation of fresh, remote, and extinguished fear memory in Medaka: old fears don't die. *Eur J Neurosci* 20, 3397-3403.

Escobar, M.L., Alcocer, I., and Bermudez-Rattoni, F. (2002). In vivo effects of intracortical administration of NMDA and metabotropic glutamate receptors antagonists on neocortical long-term potentiation and conditioned taste aversion. *Behav Brain Res* 129, 101-106.

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

Ferreira, G., Ferry, B., Meurisse, M., and Levy, F. (2006). Forebrain structures specifically activated by conditioned taste aversion. *Behav Neurosci* 120, 952-962.

Ferreira, G., Gutierrez, R., De La Cruz, V., and Bermudez-Rattoni, F. (2002). Differential involvement of cortical muscarinic and NMDA receptors in short- and long-term taste aversion memory. *Eur J Neurosci* 16, 1139-1145.

Ferreira, G., Miranda, M.I., De la Cruz, V., Rodriguez-Ortiz, C.J., and Bermudez-Rattoni, F. (2005). Basolateral amygdala glutamatergic activation enhances taste aversion through NMDA receptor activation in the insular cortex. *Eur J Neurosci* 22, 2596-2604.

Flexner, J.B., Flexner, L.B., Stellar, E., De La Haba, G., and Roberts, R.B. (1962). Inhibition of protein synthesis in brain and learning and memory following puromycin. *J Neurochem* 9, 595-605.

Flood, J.F., Rosenzweig, M.R., Bennett, E.L., and Orme, A.E. (1973). The influence of duration of protein synthesis inhibition on memory. *Physiol Behav* 10, 555-562.

Garcia, J., Kimeldorf, D.J., and Koelling, R.A. (1955). Conditioned aversion to saccharin resulting from exposure to gamma radiation. *Science* 122, 157-158.

Gill, K.M., Bernstein, I.L., and Mizumori, S.J. (2007). Immediate early gene activation in hippocampus and dorsal striatum: effects of explicit place and response training. *Neurobiol Learn Mem* 87, 583-596.

Goelet, P., Castellucci, V.F., Schacher, S., and Kandel, E.R. (1986). The long and the short of long-term memory--a molecular framework. *Nature* 322, 419-422.

Gutierrez, R., Rodriguez-Ortiz, C.J., De La Cruz, V., Nunez-Jaramillo, L., and Bermudez-Rattoni, F. (2003a). Cholinergic dependence of taste memory formation: evidence of two distinct processes. *Neurobiol Learn Mem* 80, 323-331.

Gutierrez, R., Tellez, L.A., and Bermudez-Rattoni, F. (2003b). Blockade of cortical muscarinic but not NMDA receptors prevents a novel taste from becoming familiar. *Eur J Neurosci* 17, 1556-1562.

- 
- Hebb, D.O. 1949. *The Organization of Behavior*, New York, John Wiley & Sons.
- Hupbach, A., Gomez, R., Hardt, O., and Nadel, L. (2007). Reconsolidation of episodic memories: a subtle reminder triggers integration of new information. *Learn Mem* 14, 47-53.
- Izquierdo, I., Cammarota, M., Vianna, M.M., and Bevilaqua, L.R. (2004). The inhibition of acquired fear. *Neurotox Res* 6, 175-188.
- Jimenez, B., and Tapia, R. (2004). Biochemical modulation of NMDA receptors: role in conditioned taste aversion. *Neurochem Res* 29, 161-168.
- Kandel, E.R. (2001). The molecular biology of memory storage: a dialogue between genes and synapses. *Science* 294, 1030-1038.
- Lamprecht, R., Dudai, Y. (2000). The amygdala in conditioned taste aversion; it's there but where? In J. Aggleton (Ed.), *the Amygdala* (pp. 310-331). New York: Oxford University Press.
- Lanahan, A., and Worley, P. (1998). Immediate-early genes and synaptic function. *Neurobiol Learn Mem* 70, 37-43.
- Lashley, K. (1950). In search of the engram. *Symposia of the Society for Experimental Biology*, 4, 454-482.
- Lechner, H.A., Squire, L.R., and Byrne, J.H. (1999). 100 years of consolidation--remembering Muller and Pilzecker. *Learn Mem* 6, 77-87.
- Lee, J.L., Everitt, B.J., and Thomas, K.L. (2004). Independent cellular processes for hippocampal memory consolidation and reconsolidation. *Science* 304, 839-843.
- Lewis, D.J. (1979). Psychobiology of active and inactive memory. *Psychol Bull* 86, 1054-1083.
- Mansilla, A., Barajas, H., and Arguero, R. (2000). Theoretical aspects of the neurobiological integration of memory. *Med Hypotheses* 54, 51-58.
- Maren, S. (2003). The amygdala, synaptic plasticity, and fear memory. *Ann N Y Acad Sci* 985, 106-113.
- Martin, S.J., Grimwood, P.D., and Morris, R.G. (2000). Synaptic plasticity and memory: an evaluation of the hypothesis. *Annu Rev Neurosci* 23, 649-711.
- McGaugh, J.L. (1966). Time-dependent processes in memory storage. *Science* 153, 1351-1358.

- 
- McGaugh, J.L. (2000). Memory--a century of consolidation. *Science* 287, 248-251.
- Milekic, M.H., and Alberini, C.M. (2002). Temporally graded requirement for protein synthesis following memory reactivation. *Neuron* 36, 521-525.
- Milner, B. (2005). The medial temporal-lobe amnesic syndrome. *Psychiatr Clin North Am* 28, 599-611, 609.
- Miranda, M.I., Ferreira, G., Ramirez-Lugo, L., and Bermudez-Rattoni, F. (2002). Glutamatergic activity in the amygdala signals visceral input during taste memory formation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99, 11417-11422.
- Miranda, M.I., Ferreira, G., Ramirez-Lugo, L., and Bermudez-Rattoni, F. (2003). Role of cholinergic system on the construction of memories: taste memory encoding. *Neurobiol Learn Mem* 80, 211-222.
- Miranda, M.I., Ramirez-Lugo, L., and Bermudez-Rattoni, F. (2000). Cortical cholinergic activity is related to the novelty of the stimulus. *Brain Res* 882, 230-235.
- Misanin, J.R., Miller, R.R., and Lewis, D.J. (1968). Retrograde amnesia produced by electroconvulsive shock after reactivation of a consolidated memory trace. *Science* 160, 554-555.
- Nader, K. (2003). Memory traces unbound. *Trends Neurosci* 26, 65-72.
- Nader, K., Schafe, G.E., and Le Doux, J.E. (2000a). Fear memories require protein synthesis in the amygdala for reconsolidation after retrieval. *Nature* 406, 722-726.
- Nader, K., Schafe, G.E., and LeDoux, J.E. (2000b). The labile nature of consolidation theory. *Nat Rev Neurosci* 1, 216-219.
- Pedreira, M.E., and Maldonado, H. (2003). Protein synthesis subserves reconsolidation or extinction depending on reminder duration. *Neuron* 38, 863-869.
- Phillis, J.W. (2005). Acetylcholine release from the central nervous system: a 50-year retrospective. *Crit Rev Neurobiol* 17, 161-217.
- Przybylski, J., Roulet, P., and Sara, S.J. (1999). Attenuation of emotional and nonemotional memories after their reactivation: role of beta adrenergic receptors. *J Neurosci* 19, 6623-6628.
- Przybylski, J., and Sara, S.J. (1997). Reconsolidation of memory after its reactivation. *Behav Brain Res* 84, 241-246.

---

Ramírez-Amaya, V. (2007). Molecular mechanisms of synaptic plasticity underlying long-term memory formation, en Bermúdez-Rattoni, F. (2007). *Neural plasticity and memory: from genes to brain imaging*, (pp. 47-66), *Taylor & Francis Group*: Florida.

Ramirez-Lugo, L., Miranda, M.I., Escobar, M.L., Espinosa, E., and Bermudez-Rattoni, F. (2003). The role of cortical cholinergic pre- and post-synaptic receptors in taste memory formation. *Neurobiol Learn Mem* 79, 184-193.

Ramirez-Lugo, L., Zavala-Vega, S., and Bermudez-Rattoni, F. (2006). NMDA and muscarinic receptors of the nucleus accumbens have differential effects on taste memory formation. *Learn Mem* 13, 45-51.

Rao, V.R., and Finkbeiner, S. (2007). NMDA and AMPA receptors: old channels, new tricks. *Trends Neurosci* 30, 284-291.

Reilly, S., and Bornovalova, M.A. (2005). Conditioned taste aversion and amygdala lesions in the rat: a critical review. *Neurosci Biobehav Rev* 29, 1067-1088.

Richardson, J.T. (2007). Measures of short-term memory: a historical review. *Cortex* 43, 635-650.

Rodriguez-Ortiz, C.J., De la Cruz, V., Gutierrez, R., and Bermudez-Rattoni, F. (2005). Protein synthesis underlies post-retrieval memory consolidation to a restricted degree only when updated information is obtained. *Learn Mem* 12, 533-537.

Rodriguez-Ortiz C.J., Garcia-DeLaTorre, P., Benavidez, E., Ballesteros, M.A., Bermudez-Rattoni, F. (2008) Intrahippocampal anisomycin infusions disrupt previously consolidated spatial memory only when memory is updated. *Neurobiol Learn Mem* 89:352-359.

Rodriguez-Ortiz CJ y Bermudez-Rattoni F (2007) Memory Reconsolidation or Updating Consolidation? en Bermudez-Rattoni, F. (2007). *Neural plasticity and memory: from genes to brain imaging*, (pp. 47-66), *Taylor & Francis Group*: Florida.

Rosenblum, K., Meiri, N., and Dudai, Y. (1993). Taste memory: the role of protein synthesis in gustatory cortex. *Behav Neural Biol* 59, 49-56.

Roulet, P., and Sara, S. (1998). Consolidation of memory after its reactivation: involvement of beta noradrenergic receptors in the late phase. *Neural Plast* 6, 63-68.

Sara, S.J. (2000). Retrieval and reconsolidation: toward a neurobiology of remembering. *Learn Mem* 7, 73-84.

Siegel, G.J., Agranoff, B.W., Albers, R.W., Fisher, S.K., Uhler, M.D. (1999). *Basic neurochemistry. Molecular, cellular and medical aspects*. 6<sup>th</sup> ed., *Lippincott Williams & Wilkins*, Philadelphia, E.U.

---

Schneider, A.M., and Sherman, W. (1968). Amnesia: a function of the temporal relation of footshock to electroconvulsive shock. *Science* 159, 219-221.

Squire, L.R. (2004). Memory systems of the brain: a brief history and current perspective. *Neurobiol Learn Mem* 82, 171-177.

Squire, L.R., Stark, C.E., and Clark, R.E. (2004). The medial temporal lobe. *Annu Rev Neurosci* 27, 279-306.

Suzuki, A., Josselyn, S.A., Frankland, P.W., Masushige, S., Silva, A.J., and Kida, S. (2004). Memory reconsolidation and extinction have distinct temporal and biochemical signatures. *J Neurosci* 24, 4787-4795.

Taubenfeld, S.M., Milekic, M.H., Monti, B., and Alberini, C.M. (2001). The consolidation of new but not reactivated memory requires hippocampal C/EBPbeta. *Nat Neurosci* 4, 813-818.

Tronson, N.C., and Taylor, J.R. (2007). Molecular mechanisms of memory reconsolidation. *Nat Rev Neurosci* 8, 262-275.

Tronson, N.C., Wiseman, S.L., Olausson, P., and Taylor, J.R. (2006). Bidirectional behavioral plasticity of memory reconsolidation depends on amygdalar protein kinase A. *Nat Neurosci* 9, 167-169.

Vianna, M.R., Szapiro, G., McGaugh, J.L., Medina, J.H., and Izquierdo, I. (2001). Retrieval of memory for fear-motivated training initiates extinction requiring protein synthesis in the rat hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98, 12251-12254.

Yamamoto, T. (2006). Neural substrates for the processing of cognitive and affective aspects of taste in the brain. *Arch Histol Cytol* 69, 243-255.

Yamamoto, T. (2007). Brain regions responsible for the expression of conditioned taste aversion in rats. *Chem Senses* 32, 105-109.

Yamamoto, T., Shimura, T., Sako, N., Yasoshima, Y., and Sakai, N. (1994). Neural substrates for conditioned taste aversion in the rat. *Behav Brain Res* 65, 123-137.