



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

---

---

FACULTAD DE PSICOLOGÍA

SÍNTESIS DE PROTEÍNAS EN EL NÚCLEO  
ACCUMBENS EN LA CONSOLIDACIÓN DE LA  
MEMORIA GUSTATIVA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADO EN PSICOLOGÍA

P R E S E N T A :

RODRIGO PEDROZA LLINÁS



DIRECTOR DE TESIS: DR. FEDERICO BERMÚDEZ RATTONI

México, D.F.

2007



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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

---

Esta tesis se desarrolló en el Laboratorio de Neurobiología del Aprendizaje y la Memoria, a cargo del Dr. Federico Bermúdez Rattoni, en el Departamento de Neurociencias del Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México, con los apoyos económicos DGAPA IN220706-03 y CONACyT 60478.

---

---

---

## AGRADECIMIENTOS

A mis padres, Patricia Llinás Ruiz y Jorge Pedroza Romero, y a mi hermana, Michelle Pedroza Llinás, por haberme apoyado siempre en todas mis decisiones profesionales, pero sobre todo en las personales. Este trabajo está dedicado a ustedes tres; sin ustedes nada de esto habría sido posible.

A la Dra. Leticia Ramírez Lugo, por sus enseñanzas, consejos, paciencia y tiempo, por ser una excelente tutora, pero sobre todo por su gran amistad e invaluable ayuda a lo largo de todos estos años, tanto dentro como fuera del laboratorio.

A Andrea Coronado, por haber compartido conmigo felices años de simbiosis académica, y ser mi mejor (y casi siempre única) amiga en la facultad; por su cariño, su ayuda y sus consejos. A Kioko Guzmán, Pamela Salcedo y Sandra Ramírez, por haber sido las mejores amigas durante el tiempo que compartimos en el laboratorio, pero sobre todo fuera de él; gracias por escucharme siempre y aguantarme tanto, sobre todo en los momentos difíciles.

A Joyce Graciela Martínez, por querer ser una parte tan importante en mi vida, por su amor, su comprensión, su apoyo, sus consejos, por ser ella: una excelente amiga y una pareja extraordinaria. Sólo tú y yo sabemos quién eres para mí; las palabras no alcanzan, ¿recuerdas?

A Luis Núñez, Luis Royero, Sergio, Wendy, Ilse, Vanesa, Paola, Pascal, Adrián, Marisela, y Perla, por haber hecho del laboratorio, durante más de 4 años, mucho más que sólo un lugar de trabajo (en más de un sentido).

Al Dr. Federico Bermúdez Rattoni, por haberme permitido trabajar durante cuatro años y medio en su laboratorio.

---

---

---

*¿Cómo podemos explicar (...) la estabilidad de la memoria en términos de lo que hace la neurona y lo que sucede en la sinapsis? Debemos suponer que la memoria es un cambio estructural, pero al hacerlo se nos plantea una dificultad, pues entramos en conflicto con la idea de que (...) sólo importa el patrón de estimulación sensorial y no el lugar donde éste tiene lugar. Comencemos, por tanto, preguntando si esta idea tiene, después de todo, una base firme...*

Donald O. Hebb, en *La organización de la conducta*. Traducción (Ed. Debate, 1985) de *The Organization of Behavior* (John Wiley & Sons, 1949)

---

---

---

# ÍNDICE TEMÁTICO

<b>ÍNDICE TEMÁTICO</b>	<b>5</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS</b>	<b>7</b>
<b>ABREVIATURAS</b>	<b>8</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>9</b>
1.1. APRENDIZAJE Y MEMORIA	9
1.2. MEMORIAS DE CORTO Y DE LARGO PLAZO	10
1.3. CONSOLIDACIÓN Y SÍNTESIS DE PROTEÍNAS	12
1.3.1. SÍNTESIS Y FUNCIÓN DE LA PROTEÍNAS	13
1.3.2. PLASTICIDAD SINÁPTICA	15
1.4. MEMORIA GUSTATIVA	17
1.4.1. DUALIDAD DEL TRAZO DE MEMORIA DEL SABOR	20
1.4.2. VÍAS NEURONALES DE LA MEMORIA GUSTATIVA	21
1.5. NÚCLEO ACCUMBENS	24
1.5.1. NÚCLEO ACCUMBENS EN APRENDIZAJES ASOCIATIVOS	26
1.5.2. CONSOLIDACIÓN EN EL NÚCLEO ACCUMBENS	28
<b>2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	<b>30</b>
2.1. OBJETIVOS	30
2.1.1. OBJETIVO GENERAL	30
2.1.2. OBJETIVO ESPECÍFICO	30
2.2. HIPÓTESIS	31
<b>3. METODOLOGÍA</b>	<b>32</b>
3.1. ANIMALES	32
3.2. FÁRMACOS	32
3.3. CIRUGÍA	32
3.4. MICROINYECCIÓN	33
3.5. ANÁLISIS HISTOLÓGICO	33
3.6. PROCEDIMIENTOS CONDUCTUALES	34
<b>4. EXPERIMENTOS</b>	<b>35</b>
4.1. EXPERIMENTO 1. BLOQUEO DE LA SÍNTESIS DE PROTEÍNAS EN EL CONDICIONAMIENTO DE AVERSIÓN AL SABOR	35
4.1.1. RESULTADOS	37

---

---

---

---

4.2. EXPERIMENTO 2. BLOQUEO DE LA SÍNTESIS DE PROTEÍNAS EN LA ATENUACIÓN DE LA NEOFOBIA	39
4.2.1. RESULTADOS	41
4.3. INTRODUCCIÓN AL EXPERIMENTO 3	43
4.4. EXPERIMENTO 3. BLOQUEO DE LA SÍNTESIS DE PROTEÍNAS EN LA INHIBICIÓN LATENTE DEL CONDICIONAMIENTO DE AVERSIÓN AL SABOR	46
4.4.1. RESULTADOS	48
<b>5. DISCUSIÓN GENERAL Y CONCLUSIONES</b>	<b>50</b>
5.1. LA INHIBICIÓN DE LA SÍNTESIS DE PROTEÍNAS AFECTA LA CONSOLIDACIÓN DEL TMS AVERSIVO	50
5.2. LA INHIBICIÓN DE LA SÍNTESIS DE PROTEÍNAS AFECTA LA CONSOLIDACIÓN DEL TMS SEGURO	54
5.2. MECANISMOS MOLECULARES POSIBLEMENTE INVOLUCRADOS EN LA CONSOLIDACIÓN DEL TMS EN EL mNAcc	57
5.4. POSIBLES EFECTOS INESPECÍFICOS DEL FÁRMACO	64
5.5. TEMPORALIDAD DE LA SÍNTESIS DE PROTEÍNAS EN EL mNAcc PARA LA CONSOLIDACIÓN DE LA MEMORIA GUSTATIVA	66
5.6. CONCLUSIONES.	72
<b>6. REFERENCIAS</b>	<b>73</b>

---

---

---

---

## ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

FIGURA 1.1. MODELO CONDUCTUAL DE LA MEMORIA GUSTATIVA	19
FIGURA 1.2. VÍAS NEURALES DEL TRAZO DE MEMORIA DEL SABOR	23
FIGURA 1.3. LOCALIZACIÓN ANATÓMICA DEL NÚCLEO ACCUMBENS	25
FIGURA 3.1. LOCALIZACIÓN DE LAS CÁNULAS GUÍA EN EL CEREBRO	34
FIGURA 4.1. PROTOCOLO EXPERIMENTAL PARA EL CONDICIONAMIENTO DE AVERSIÓN AL SABOR	36
FIGURA 4.2. RESULTADOS OBTENIDOS CON LA INYECCIÓN DE ANISOMICINA EN EL mNAcc ANTES O DESPUÉS DEL SABOR EN EL CONDICIONAMIENTO DE AVERSIÓN AL SABOR	38
FIGURA 4.3. PROTOCOLO CONDUCTUAL DE LA ATENUACIÓN DE LA NEOFOBIA	40
FIGURA 4.4. RESULTADOS OBTENIDOS CON LA INYECCIÓN DE ANISOMICINA EN EL mNAcc ANTES O DESPUÉS DEL SABOR NUEVO EN LA ATENUACIÓN DE LA NEOFOBIA	42
FIGURA 4.5. MODELO DE LA CONSOLIDACIÓN DEL TRAZO DE MEMORIA DEL SABOR PROPUESTO POR GUTIÉRREZ Y COLABORADORES	44
FIGURA 4.6. PROTOCOLO CONDUCTUAL DE LA INHIBICIÓN LATENTE DEL CONDICIONAMIENTO DE AVERSIÓN AL SABOR	47
FIGURA 4.7. RESULTADOS OBTENIDOS CON LA INYECCIÓN DE ANISOMICINA EN EL mNAcc ANTES O DESPUÉS DE LA PREEXPOSICIÓN AL SABOR EN LA INHIBICIÓN LATENTE DEL CONDICIONAMIENTO DE AVERSIÓN AL SABOR	49
TABLA 5.1. TEMPORALIDAD DE LA SÍNTESIS DE PROTEÍNAS EN LA CONSOLIDACIÓN, EN OTRAS TAREAS Y ESTRUCTURAS	53

---

---



---

---

## ABREVIATURAS

**ABL:** Amígdala basolateral

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

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

**AN:** Atenuación de la neofobia

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

**CAS:** Condicionamiento de aversión al sabor

**DA:** Dopamina

**DLP:** Depresión a largo plazo

**EC:** Estímulo condicionado

**EI:** Estímulo incondicionado

**IL:** Inhibición latente

**LB:** Línea base

**LiCl:** Cloruro de litio

**LNacc:** Núcleo accumbens lateral

**MCP:** Memoria a corto plazo

**MLP:** Memoria a largo plazo

**Nacc:** Núcleo accumbens

**mNacc:** Núcleo accumbens medial

**NBM:** Núcleo basal magnocelular

**Nce:** Núcleo central de la amígdala

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

**NPB:** Núcleo parabraquial pontino

**NTS:** Núcleo del tracto solitario

**PFC:** Corteza prefrontal

**PLP:** Potenciación a largo plazo

**TMS:** Trazo de memoria del sabor

**VTA:** Área tegmental ventral

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1. APRENDIZAJE Y MEMORIA

Se define a la memoria como un proceso mediante el cual el conocimiento es codificado, almacenado, y posteriormente recuperado (Squire y Kandel, 1999). Los conocimientos almacenados en la memoria son obtenidos a través del aprendizaje, siendo este último una herramienta de la que disponen los organismos para hacerle frente a los cambios medioambientales que, por la rapidez con que estos cambios se presentan, no permiten la entrada en acción de la selección natural, o las conductas reflejas de los organismos (Chance, 1999). La memoria también puede ser definida como la representación interna de las experiencias pasadas (Baddeley, 1999), definición que implica que la memoria es una “huella” que la experiencia deja en el sistema nervioso, a esta huella de la memoria se le conoce como *trazo de memoria*. El trazo de memoria, también llamado *engrama*, es la representación y almacenamiento de la información obtenida en el aprendizaje a través de cambios físicos o bioquímicos en el cerebro (Tronson y Taylor, 2007). El concepto de trazo de memoria es un poco más amplio que el de memoria solamente, puesto que involucra los mecanismos subyacentes al mantenimiento de la memoria mediante cambios plásticos en el sistema nervioso, tema que se revisará más adelante.

La memoria se puede dividir en varias fases, las cuales son:

- a) *aprendizaje*, que es la asimilación de información del ambiente; se le llama también *adquisición* (Baddeley, 1999);
- b) *consolidación*, estabilización progresiva de la memoria en el largo plazo (Dudai, 2004), fase que depende entre otros factores de síntesis de proteínas; y
- c) *evocación*, que es la recuperación posterior de la información aprendida y codificada (Tronson y Taylor, 2007)

También se puede dividir a la memoria en función de su temporalidad; en este caso se habla de memoria de corto plazo y memoria de largo plazo; esta división se presenta en la siguiente sección.

## 1.2. MEMORIAS DE CORTO PLAZO Y DE LARGO PLAZO

El estudio formal de la temporalidad de la memoria comenzó en 1880 con Hermann Ebbinghaus quien, presentando material sin sentido a sujetos humanos, llegó a la conclusión de que existen recuerdos que persisten por un periodo corto de tiempo (algunos minutos), mientras que hay otros que persisten por días o meses (Squire y Kandel, 1999). Más tarde William James propuso que debían existir al menos dos etapas en el almacenamiento de la información. La primera de ellas, que llamó *memoria primaria*, almacena información recién adquirida concientemente. La segunda, que llamó *memoria secundaria*, no necesita que la información adquirida sea conciente todo el tiempo para ser almacenada; esta memoria puede regresar a la conciencia en situaciones posteriores (Squire y Kandel, 1999).

En 1968, Atkinson y Shiffrin plantearon un modelo de memoria según el cual la información adquirida en el aprendizaje pasa a través de una serie de almacenes sensoriales, uno para cada modalidad sensorial, que mantienen la información en un estado relativamente puro. Si esta información es relevante para el organismo se transmite después a un almacén de corto plazo, o memoria de corto plazo (MCP), de otra forma decae y es rápidamente desechada. Dicha MCP es de capacidad muy limitada, y sus funciones son mantener la información conciente, y mediar el paso de esta información a un almacén a largo plazo, o memoria de largo plazo (MLP), de capacidad ilimitada, que almacena los recuerdos para toda la vida (Baddeley, 1999). El modelo de Atkinson y Shiffrin propone que la información se transfiere de la MCP a la MLP comúnmente a través de la repetición de la información recién aprendida. Este modelo es estrictamente lineal, ya que supone que el primer almacén es estrictamente necesario para que la información pase al segundo (Squire y Kandel, 1999). Sin embargo, evidencia reciente sugiere que la MCP no necesariamente es siempre un primer paso hacia la MLP. En este sentido, Izquierdo y colaboradores (1999) han encontrado que la estimulación o bloqueo farmacológicos de varios sistemas de neurotransmisión (serotonina, noradrenalina, dopamina, GABA y glutamato) en la corteza entorrinal y en el área CA1 del hipocampo pueden afectar la MCP sin alterar la MLP en una tarea de prevención pasiva<sup>1</sup> (Izquierdo et al., 1999). Este estudio sugiere que la MCP puede no ser una etapa necesaria para la formación de la MLP, y que ésta última se procesa independiente y paralelamente a la MCP.

Por lo tanto, actualmente se reconoce que la memoria tiene dos etapas: la MCP y la MLP. La primera de ellas es transitoria y puede desaparecer con el tiempo, mientras que la

---

<sup>1</sup> Aprendizaje motivado por miedo en el que el animal asocia un contexto determinado con un estímulo aversivo; ante la reexposición al contexto el animal expresa conductas de evitación, las cuales son medidas e interpretadas como indicadores de la fuerza del condicionamiento (Igaz et al., 2002).

segunda es capaz de almacenar recuerdos para toda la vida, y es resistente a ser interrumpida. Aunque algunos autores (ver Baddeley, 1999) sugieren que la MCP es un paso previo y necesario para la MLP, existe evidencia reciente que sugiere que la formación de la MLP puede no requerir necesariamente la formación de la MCP. Sin embargo, para que la MLP pueda estabilizarse y sea resistente a interrupciones debe transcurrir un periodo de tiempo durante el cual esta memoria se estabiliza; a este periodo se le conoce como consolidación, y es un requisito indispensable para la formación de la MLP.

### 1.3. CONSOLIDACIÓN Y SÍNTESIS DE PROTEÍNAS

En 1900 Georg Müller y Alfons Pilzecker, trabajando con humanos, observaron que la estabilización de la memoria de un material *A* se afecta cuando se presenta un material *B* poco tiempo después del aprendizaje de *A*; es decir, que información nueva entrante (*B*) produce interferencia con la evocación posterior de información previamente aprendida (*A*) (Squire y Kandel, 1999). Estos estudios les llevaron a concluir que la memoria es muy frágil en sus etapas tempranas, y que necesita tiempo para estabilizarse; proponen el término *consolidación* para el proceso que permite que la memoria se fije en el largo plazo, y durante el cual ésta persiste en estado frágil y es susceptible de ser desplazada por otra información entrante (Squire y Kandel, 1999; McGaugh e Izquierdo, 2000; Wang et al., 2006). Entonces, la consolidación es un proceso mediante el cual la memoria se estabiliza con el tiempo en el largo plazo y se vuelve resistente a interrupción (Dudai, 2004; Tronson y Taylor, 2007).

Katz y Halstead plantearon en 1950 que el trazo de memoria debía ser mantenido por macromoléculas de gran importancia biológica, tales como ácidos nucleicos o proteínas (ver siguiente sección) (Davis y Squire, 1984). Flexner y colaboradores (1963) decidieron investigar si la permanencia de la memoria en el largo plazo estaba de alguna forma relacionada específicamente con las proteínas (Flexner et al., 1963). Sus hallazgos dieron pie a que algunos primeros estudios realizados en los años 1960's exploraran el papel de la síntesis de proteínas en la consolidación (Davis y Squire, 1984). En estos trabajos se inyectaron sistémica o intracerebralmente (directamente en el tejido cerebral) fármacos inhibidores de la síntesis de proteínas algunos minutos después del aprendizaje de tareas como la prevención pasiva (Agranoff y Klinger, 1964; Agranoff et al., 1965) y el laberinto en forma de Y (Flexner et al., 1963; Barondes y Cohen, 1966), encontrando que el bloqueo de la síntesis proteica interfiere notablemente con la consolidación de la memoria. En estos trabajos se encontró que se requiere una reducción masiva de la síntesis de proteínas (mayor a 90%) para interrumpir la MLP (Dudai, 2004); sin embargo, este bloqueo transitorio en la síntesis de proteínas no altera significativamente la percepción, la MCP, o la evocación de la MLP una vez que ésta última se ha consolidado (Davis y Squire, 1984; Dudai, 2004).

Una gran cantidad de evidencia ha confirmado que la aplicación de inhibidores de la síntesis de proteínas bloquea la formación de la MLP (Davis y Squire, 1984; Dudai, 2004). Por ejemplo, se sabe que la inhibición de síntesis de proteínas bloquea la MLP de memorias como la prevención pasiva en ratas (Quevedo et al., 1999; Izquierdo et al., 1999; Igaz et al., 2002) y en pollos (Freeman et al., 1995; Rose, 1995), la memoria de reconocimiento de objetos en ratas (Rossato et al., 2007), el condicionamiento de aversión al sabor en ratas (Rosenblum et al.,

1993; Bahar et al., 2003; Gruet et al., 2004) y en pollos (Mileusnic et al., 2005), el condicionamiento de preferencia a un lugar con drogas de abuso en roedores (Kuo et al., 2006; Robinson y Franklin, 2007), entre muchas otras. Es por ello que se considera que la síntesis de proteínas es un requisito fundamental y evolutivamente conservado para la consolidación de la memoria, puesto que se ha encontrado que ocurre tanto en especies de vertebrados como de invertebrados, y en una gran variedad de memorias (Alberini et al., 2006), , por ejemplo, prevención pasiva (Freeman et al., 1995; Quevedo et al., 1999; Igaz et al., 1992), condicionamiento de miedo (Schafe et al., 1999; Maren et al., 2003), y memorias espaciales (Meiri y Rosenblum, 1998; Touzani et al., 2007), entre otras.

Por lo tanto, la consolidación es un proceso que permite que la memoria se establezca en el largo plazo, proceso durante el cual persiste en forma lábil, y es posible interrumpirla; una vez consolidada, se vuelve resistente a estas interrupciones. Desde mediados del s. XX se sabe que para que la memoria se consolide es necesaria la síntesis de proteínas en el cerebro, ya que si se inhibe este proceso celular, se bloquea la formación de la MLP. El hecho de que la inhibición de la síntesis de proteínas no afecte la MCP, el aprendizaje de las tareas evaluadas, o la conducta natural de los animales apoya la idea de que la síntesis de proteínas es necesaria sólo para la consolidación de la memoria, y no para ningún otro proceso relacionado con la misma (Davis y Squire, 1984). Los fármacos que se emplean en estos estudios impiden la síntesis celular de proteínas, que son compuestos orgánicos de fundamental importancia para la fisiología de los seres vivos, y son fabricadas para cumplir una amplia gama de tareas en el funcionamiento de todas las células (Jiménez y Merchant, 2003).

### **1.3.1. SÍNTESIS Y FUNCIÓN DE LAS PROTEÍNAS**

Las proteínas son macromoléculas poliméricas con estructura tridimensional específica, formadas por largas cadenas de aminoácidos unidos entre sí por enlaces peptídicos covalentes; desempeñan funciones muy amplias y variadas dentro de la fisiología de los seres vivos (Jiménez y Merchant, 2003).

La estructura de las proteínas es compleja, y sus propiedades químicas y funciones biológicas específicas se deben al orden en el que se ensamblan los aminoácidos y a su distribución espacial en la cadena polipeptídica (Jiménez y Merchant, 2003). Constituyen uno de los grupos de compuestos bioquímicos de mayor importancia biológica: forman canales y bombas que regulan el paso de pequeñas moléculas dentro y fuera de la célula; permiten la comunicación intercelular e intracelular; constituyen anticuerpos, toxinas, hormonas, fibras elásticas, fuentes de luminiscencia; forman la maquinaria celular necesaria para la expresión

génica, síntesis de otras proteínas, división celular, crecimiento celular, migración celular, transporte activo y pasivo, etc. (Alberts et al., 2002). Es importante resaltar la participación de las proteínas en la comunicación celular: todos los receptores y enzimas participantes en las cascadas de señalización intracelular que se activan cuando se estimula una vía determinada son proteínas (Alberts et al., 2002; Jiménez y Merchant, 2003).

La síntesis de proteínas como proceso celular implica fundamentalmente dos subprocesos: *transcripción* y *traducción*. La transcripción es un proceso molecular realizado en el núcleo celular que consiste en la lectura de la información contenida en los genes<sup>2</sup> por la maquinaria celular; esta información permite sintetizar una cadena de ácido ribonucleico<sup>3</sup> mensajero (mARN) que contiene la secuencia precisa de aminoácidos de una proteína determinada, y pasará por ciertas modificaciones post-transcripcionales (p. Ej., *splicing*<sup>4</sup>) antes de ser útil para el ensamblaje de una proteína (Alberts et al., 2002). La traducción es un proceso que ocurre en el citoplasma, y consta de tres fases: *iniciación*, en la cual se ensamblan las subunidades de los ribosomas<sup>5</sup> en la señal de inicio de una cadena de mARN; *elongación*, en la cual se ensamblan los aminoácidos de la proteína de acuerdo con la información contenida en el mARN; y *terminación*, en la cual el ribosoma encuentra una señal de término en el mARN, liberando la proteína recién formada. Una vez sintetizada la proteína, y dependiendo de su función en la fisiología de la célula que la elaboró, sufre cambios post-traduccionales (p.ej., glicosilación<sup>6</sup>) antes de insertarse en la maquinaria celular (Alberts et al., 2002).

Por lo tanto, las proteínas son compuestos bioquímicos de gran importancia dentro de la fisiología de las células debido a la amplia variedad de funciones que desempeñan, incluyendo la señalización intercelular, y la transducción de estas al interior de la célula. Interesantemente, se sabe que la actividad neuronal desencadena eventos moleculares tales como la liberación de

---

<sup>2</sup> Un gen es una secuencia lineal de nucleótidos en una cadena de ácido deoxirribonucleico (ADN) que contiene la información necesaria para la producción de una molécula de ARN. Se considera al gen como la unidad básica de la herencia de los seres vivos (Alberts et al., 2002).

<sup>3</sup> Macromolécula compuesta por unidades bioquímicas discretas llamadas nucleótidos, estos últimos unidos entre sí por enlaces fosfodiéstericos formando una cadena simple; esta cadena se sintetiza por las enzimas *ARN-polimerasas* en el núcleo celular a partir de la información contenida en el ADN. Hay tres tipos: *mensajero*, que lleva la información contenida en el ADN hasta los ribosomas; *de transferencia* (tARN), que es el encargado de unir un aminoácido determinado a la nascente proteína dependiendo de la información en el ARN mensajero, y *ribosomal* (rARN), que es parte constitutiva de las subunidades de los ribosomas (Alberts et al., 2002).

<sup>4</sup> Remoción en las cadenas de mARN recién sintetizadas de las secciones (llamadas *intrones*) que no codifican ninguna parte de la proteína que será sintetizada; mediante una variante de este proceso, llamada *splicing alternativo*, se genera una variedad limitada de proteínas diferentes a partir de una misma cadena de mARN (Alberts et al., 2002).

<sup>5</sup> Organelos compuestos por proteínas y rARN; constan de dos subunidades que forman un complejo. Los ribosomas se ubican en la superficie del retículo endoplásmico rugoso o libres en el citosol. Estos organelos ensamblan los aminoácidos de la proteína de acuerdo con la información codificada en la cadena de mARN (Jiménez y Merchant, 2003).

<sup>6</sup> Adición de polisacáridos a una proteína para la correcta función de la misma; las dos variantes más importantes son la *glicosilación N* (llevada a cabo justo después de la traducción ribosomal) y la *glicosilación O* (llevada a cabo en el aparato de Golgi) (Alberts et al., 2002)

neurotransmisores en la sinapsis, activación de proteínas cinasas<sup>7</sup>, y síntesis de proteínas, entre otros (Ramírez-Amaya, 2007). Debido a que la consolidación puede ser bloqueada con inhibidores de la síntesis proteica, se cree que los tratamientos aplicados poco tiempo después del aprendizaje, y que afectan a la consolidación, interfieren con el desarrollo de modificaciones en la funcionalidad de las sinapsis, dependientes de esta síntesis de proteínas, para la estabilización de la memoria; a estas modificaciones se les conoce genéricamente como plasticidad sináptica (Martin et al., 2000; Wang et al., 2006).

### 1.3.2. PLASTICIDAD SINÁPTICA

Se puede definir a la plasticidad sináptica como *cambios en la eficiencia sináptica que permiten el fortalecimiento de asociaciones entre neuronas* (Lynch, 2004), o también como *la propiedad de las sinapsis de modificar la eficiencia con la que se transmite información de una a otra neurona* (Escobar y Derrick, 2007). Se cree actualmente que la plasticidad sináptica es la base del almacenamiento de información en el cerebro (Escobar y Derrick, 2007).

En 1949 D. O. Hebb propuso que el almacenaje permanente de la memoria en los circuitos debe darse mediante modificaciones en las sinapsis de las neuronas a través de cambios morfológicos y/o funcionales a consecuencia de la actividad sináptica (Cooper, 2005); este último punto lo asentó en lo que hoy se conoce como el *postulado de Hebb*, que propone que si una neurona excita a otra de manera repetida y persistente, una o ambas células sufrirán procesos de crecimiento o cambios metabólicos que darán lugar a un aumento en la eficacia de la comunicación entre las dos (Cooper, 2005; Lynch 2004). Este postulado fue el primero que proponía formalmente el almacenaje de la memoria mediante cambios fisiológicos en el sistema nervioso (Cooper, 2005). Según Hebb, estos cambios debían darse en las sinapsis de las mismas neuronas que son activadas durante el evento que da lugar a la memoria (Bear, 1996). Sin embargo, su propuesta no tuvo fuerte apoyo experimental hasta que, en 1973, T. Bliss y T. Lømo descubrieron la potenciación a largo plazo (Martin et al., 2000). Estos autores aplicaron estimulación eléctrica breve de alta frecuencia (de 50 a 100Hz) en la vía perforante<sup>8</sup>, y registrando la respuesta en el giro dentado del hipocampo de conejos, observando que la fuerte estimulación era capaz de generar un aumento en la eficacia sináptica que duró varias horas en

---

<sup>7</sup> Enzimas que modifican a otras proteínas mediante fosforilación, reacción en la cual las cinasas le añaden a sus proteínas objetivo grupos fosfato en residuos de serina, treonina o tirosina. Mediante la fosforilación, muchas proteínas pasan de un estado inactivo a un estado activo (Alberts et al., 2002)

<sup>8</sup> El hipocampo se compone de varias subregiones, las más importantes son CA1, CA3, y el giro dentado. El giro dentado es una región inervada por la corteza entorrinal a través de un haz de fibras conocida como la vía perforante. A su vez, el giro dentado se comunica con el área CA3 a través de una proyección conocida como la vía de las fibras musgosas (*mossy fiber pathway*). Desde el área CA3 parten proyecciones, conocidas como las colaterales de Schaffer, hacia el área CA1 (López-Antunez, 1979).



el animal anestesiado, y meses en el animal atento (Bliss y Collingridge, 1993; Squire y Kandel, 1999; Lynch, 2004). Nombraron a su descubriendo potenciación a largo plazo (PLP), y constituyó la primera evidencia de la existencia del postulado de Hebb más allá del terreno especulativo (Squire y Kandel, 1999).

Se sabe que la memoria se divide en MCP, que no depende de la síntesis de proteínas, y MLP, que persiste por más tiempo, y que depende de la síntesis de proteínas para su formación. Interesantemente, la PLP se desarrolla en dos fases, la PLP temprana, de corta duración (1 a 3 horas; Blitzer et al, 2005) e independiente de síntesis de proteínas, y la PLP tardía, que es más duradera que la PLP temprana (hasta meses en el animal vivo; Blitzer et al., 2005), y depende de la síntesis de proteínas para su formación. Brevemente, para la PLP temprana es necesaria la activación de los receptores N-metil D-aspartato glutamatérgicos<sup>9</sup> (NMDA) (aunque se han descrito formas de PLP que no dependen de la actividad de estos receptores; Lynch 2004), la entrada masiva de  $Ca^{2+}$  a la postsinapsis, y la activación de otras moléculas, como proteínas cinasas, las cuales ligan la actividad que induce la PLP con el encendido de la maquinaria celular de síntesis de proteínas (Blitzer et al., 2005). Para la PLP tardía (proceso mediante el cual la PLP se mantiene en el largo plazo) se requiere la activación de factores de transcripción<sup>10</sup>, expresión de genes, y síntesis de proteínas (Malenka y Bear, 2004; Blitzer et al, 2005). Por lo tanto, se especula que, dado que la MCP no necesita síntesis de proteínas, este tipo de memoria podría ser formada por mecanismos análogos a la PLP temprana, mecanismos que involucran fundamentalmente cambios en proteínas ya existentes. Por otro lado, debido a que la MLP sí requiere de esta síntesis de proteínas, es posible que su formación dependa de mecanismos análogos a aquellos que subyacen a la formación de la PLP tardía (Martin et al., 2000).

Existen varios modelos conductuales de memoria disponibles para el estudio de la consolidación y de los mecanismos plásticos subyacentes a la misma. Entre ellos, uno de los más útiles es la memoria gustativa, modelo que presenta varias ventajas teóricas y metodológicas sobre otros modelos (por ejemplo, condicionamiento de miedo); entre ellas, que

---

<sup>9</sup> Los receptores tipo NMDA (el N-metil D-aspartato es el nombre de uno de sus agonistas) son receptores ionotrópicos que, una vez activados, son permeables a  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$  y  $K^+$  (Alberts et al., 2002). Estos receptores tienen una característica que los hace de especial relevancia para la plasticidad sináptica (por ejemplo, en la PLP) y la memoria (Squire y Kandel, 1999). Los receptores NMDA no intervienen en la neurotransmisión "rutinaria" glutamatérgica; para ser activados, requieren simultáneamente la presencia del ligando (glutamato) y cierta despolarización de la membrana, condiciones proporcionadas por una fuerte estimulación sináptica, lo que le confiere a los receptores NMDA la capacidad de actuar como *detectores de coincidencia* de dos eventos (glutamato y voltaje) que se presentan tras la fuerte actividad sináptica como la generada durante el aprendizaje (Lynch, 2004).

<sup>10</sup> Proteínas que trabajan en conjunto con otras proteínas para incrementar o decrementar la transcripción génica (Alberts et al., 2002).

produce una MLP robusta, que se genera después de un solo ensayo, y que se conocen con detalle las vías neuronales del procesamiento de la información que intervienen en este modelo.

#### 1.4. MEMORIA GUSTATIVA

Para su supervivencia, los animales deben aprender qué es seguro ingerir, y qué no lo es; es decir, deben discriminar entre alimentos seguros y toxinas (Welzl et al, 2001; Bermúdez-Rattoni, 1986). Por lo general, los alimentos pueden ser identificados mediante su sabor<sup>11</sup> (Welzl et al, 2001). Cuando un animal prueba un sabor nuevo, lo ingiere en cantidades muy limitadas, en espera de las consecuencias que su ingesta pueda tener (*neofobia*). Si la ingesta de este sabor nuevo no tiene consecuencias negativas, será reconocido en el futuro como seguro, y el animal incrementará su consumo en posteriores presentaciones, es decir, desarrollará preferencia por este sabor (*atenuación de la neofobia*, AN). La AN se observa en el aumento en el consumo del sabor en las pruebas 1 a 7 de la Figura 1.1, A (triángulos). La Figura 1.1, B esquematiza el protocolo experimental comúnmente usado para evaluar la memoria de lo seguro; tras la ingesta de un sabor nuevo, comúnmente sacarina, se registra el consumo inicial (neofobia), y se hacen pruebas en días subsecuentes para observar el incremento gradual del consumo (AN).

Por el contrario, si el sabor es seguido de malestar gástrico, el animal lo reconocerá en el futuro como aversivo, rechazando su consumo en presentaciones siguientes (*condicionamiento de aversión al sabor*, CAS) (Bermúdez-Rattoni, 2004). En la Figura 1.1 C (cruces) se observa este comportamiento en la reducción en el consumo en la prueba 1, incrementándose el consumo en pruebas siguientes al no presentarse de nuevo el malestar gástrico (extinción). (Bermúdez-Rattoni, 2004). La Figura 1.1, C esquematiza el protocolo experimental comúnmente usado para evaluar la memoria aversiva; tras la presentación del sabor, se inyecta un inductor de malestar gástrico, comúnmente cloruro de litio (LiCl), observándose que el animal rechaza el sabor en pruebas siguientes.

La memoria gustativa es de gran importancia evolutiva al permitir la supervivencia de los animales en su entorno; se presenta en una gran variedad de mamíferos y puede ser observada tanto en el laboratorio como en condiciones naturales (Welzl et al., 2001). Entre las ventajas que ofrece como modelo experimental para el estudio de la memoria se cuenta que el sabor (*estímulo condicionado*, EC) se asocia de forma robusta con el malestar (*estímulo*

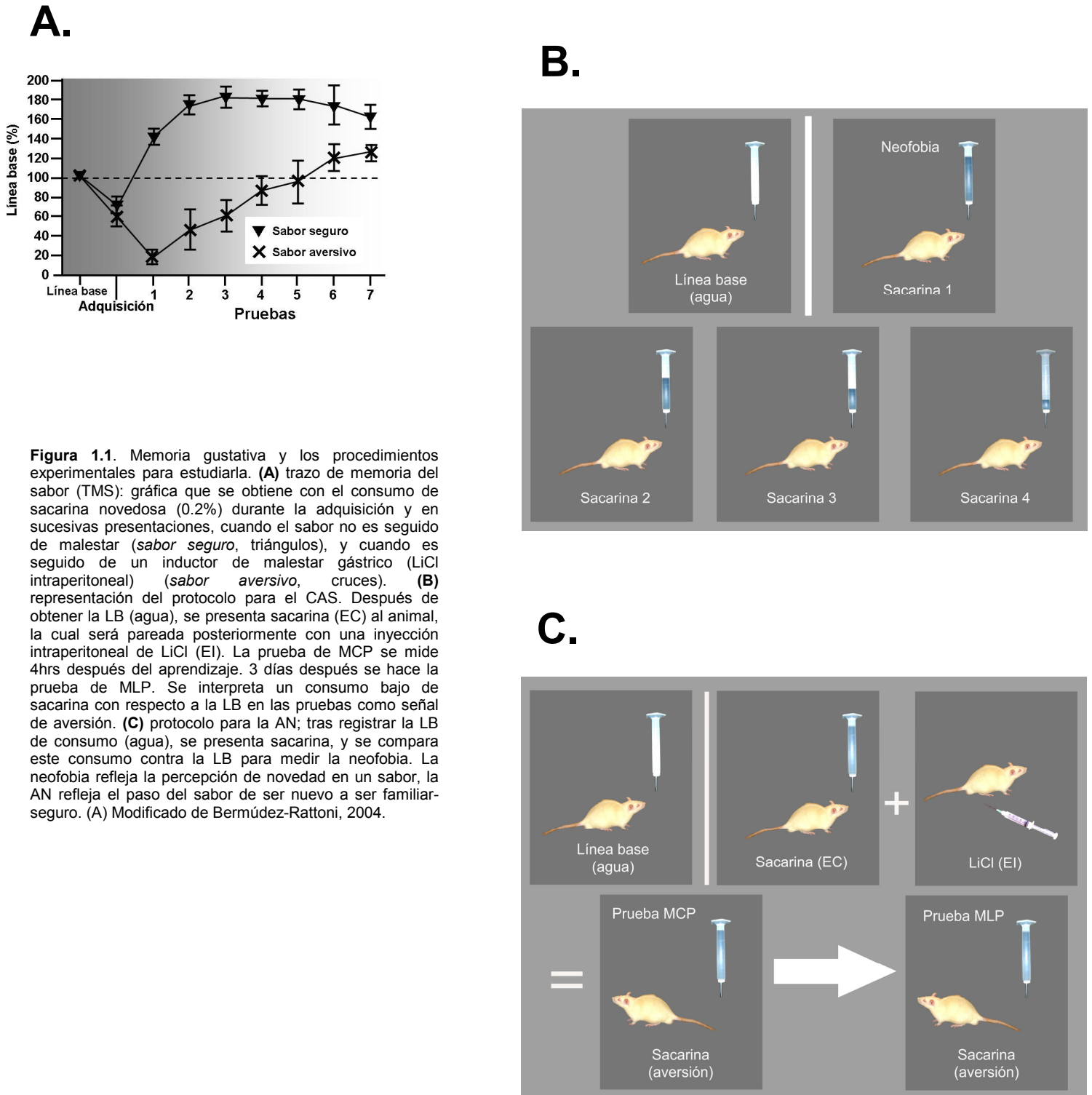
---

<sup>11</sup> El sabor es una combinación de la estimulación oral y olfativa de una sustancia determinada (Welzl et al, 2001).

*incondicionado*, EI) tras una sola asociación. Asimismo, la asociación entre estímulos en este modelo, al contrario de muchos otros tipos de aprendizajes asociativos, puede ser establecida aún transcurridas varias horas entre el EC y el EI, lo que permite la disección experimental de las fases de la memoria (Bermúdez-Rattoni, 2004, Welzl et al., 2001, Yamamoto et al., 1994). Finalmente, la memoria gustativa resulta ser un buen modelo para el estudio de la memoria porque se conocen con detalle las vías involucradas en la formación de la memoria gustativa (Bermúdez-Rattoni, 2004; Bermúdez-Rattoni et al., 2004; Welzl et al., 2001; Yamamoto et al., 1994).

Se cree que tanto el CAS como la AN dependen de la representación neural del sabor que permanece activa en paralelo en varias regiones cerebrales, aún cuando el estímulo ya no está presente; a esta representación neural se le llama *trazo de memoria del sabor* (TMS); y es este trazo de memoria el cual será reconocido en presentaciones posteriores como seguro o como aversivo dependiendo de las consecuencias gástricas que el sabor nuevo tenga (Gutiérrez et al., 2003a; Bermúdez-Rattoni et al., 2004). Por lo tanto, se puede hablar de que el TMS tiene dos modalidades: el TMS seguro y el TMS aversivo, cada uno de los cuales surgirá en función de si se presenta malestar gástrico (en este caso se formará el TMS aversivo) o si el sabor nuevo no tiene consecuencias adversas (en este caso se formará el TMS seguro).

## FIGURA 1.1. MODELO CONDUCTUAL DE LA MEMORIA GUSTATIVA



### 1.4.1. DUALIDAD DEL TRAZO DE MEMORIA DEL SABOR

Cuando el animal prueba un sabor nuevo, desarrollará aversión hacia ese sabor si la ingesta es seguida de malestar gástrico (TMS aversivo), o será reconocido como seguro en el futuro, si al sabor nuevo no tiene consecuencias adversas para el animal (TMS seguro). Esto tiene como consecuencia que el TMS se divida en dos componentes, el aversivo y el seguro, cuya formación dependerá de las consecuencias de la ingesta del sabor (Gutiérrez et al., 2003a; Bermúdez-Rattoni, 2004). La evidencia indica que existen tanto diferencias como similitudes en el procesamiento de ambas modalidades del TMS. Por ejemplo, se ha observado que tratamientos capaces de interferir con la AN no tienen efecto en la formación del CAS (Bermúdez-Rattoni, 2004). También está demostrado que la formación de aversión a un sabor no se altera cuando se administra el inductor de malestar gástrico a ratas profundamente anestesiadas (Buresova y Bures, 1980). Sin embargo, la administración de anestésicos en animales que ya han ingerido sacarina novedosa impide la AN (Bermúdez-Rattoni, 2004). En forma similar, la aplicación de choques electroconvulsivos tiene efectos disruptivos en la AN, mas no en el CAS (Bermúdez-Rattoni, 2004). Estos datos sugieren que el TMS puede dar lugar a dos variantes, cada una de las cuales se está procesando de forma diferencial en el sistema nervioso (Bermúdez-Rattoni, 2004).

Existe evidencia que indica que en la formación de la memoria gustativa hay una modulación diferencial por sistemas de neurotransmisión para cada modalidad del TMS, aunque también existen indicios de que estas dos modalidades del TMS comparten elementos en común (Bermúdez-Rattoni et al., 2004; Bermúdez-Rattoni, 2004; Gutiérrez 2003a). En este sentido, la evidencia experimental indica que los sistemas de neurotransmisión de acetilcolina y glutamato tienen papeles significativos en la formación tanto del TMS seguro como del aversivo (Miranda et al., 2003).

En el caso del sistema colinérgico en la aversión al sabor, el bloqueo de los receptores muscarínicos con escopolamina en la corteza gustativa<sup>12</sup> antes del aprendizaje impide la formación del CAS (Bermúdez-Rattoni, 2004), mientras que en el TMS seguro la inyección de escopolamina en la corteza insular (CI) antes o después de la presentación de sacarina novedosa bloquea la AN (Gutiérrez et al., 2003a). Asimismo, se sabe que los niveles de

---

<sup>12</sup> La corteza gustativa se localiza principalmente en la región disgranular de la corteza insular (Yamamoto et al., 1994). La corteza insular es una de las estructuras donde se podría formar la asociación entre sabor y malestar, ya que recibe información tanto visceral como gustativa; más aún, se ha demostrado que la integridad cortical es necesaria para el aprendizaje del CAS, pero no para la reactividad a un sabor (por ejemplo, preferencia por la sacarosa sobre el agua; Bermúdez-Rattoni, 2004).

acetilcolina extracelular en la CI aumentan cuando se prueba un sabor novedoso, y disminuyen gradualmente conforme el sabor en cuestión pierde su novedad al ser ingerido en repetidas ocasiones (Miranda et al., 2000).

En el caso del sistema glutamatérgico en el TMS aversivo, el bloqueo de los receptores tipo NMDA con el antagonista 2-amino-5-fosfonopentanoato (AP-5) antes o una hora después del EC bloquea el TMS aversivo (Ferreira et al., 2002). También se ha observado que la sola administración del inductor de malestar provoca un cambio significativo en la liberación de glutamato extracelular en la CI (Miranda et al., 2002). En relación con este neurotransmisor en el TMS seguro, el bloqueo de los receptores tipo NMDA con AP-5 en la CI antes de la sacarina novedosa no afecta ni la neofobia ni su atenuación (Gutiérrez et al., 2003b). Estos datos sugieren que la acetilcolina está más relacionada con el aprendizaje de la seguridad de un sabor, específicamente con la conversión del sabor de nuevo a seguro, mientras que el sistema glutamatérgico está más involucrado con el aprendizaje de aversión (Bermúdez-Rattoni, 2004). Por lo tanto, la evidencia sugiere que el TMS seguro y aversivo son procesados de manera diferencial; sin embargo, también comparten mecanismos en común, ya que el sistema colinérgico es esencial para ambos trazos de memoria (Gutiérrez et al., 2003a; Bermúdez-Rattoni, 2004).

Se ha reportado que la inhibición de síntesis de proteínas es necesaria para la consolidación del TMS. En este sentido, se ha visto que la doble inyección de un bloqueador de la síntesis proteica en la corteza gustativa, 15 minutos antes e inmediatamente después del aprendizaje del CAS, bloquea la formación de la MLP (Rosenblum et al., 1993). Otro trabajo reciente muestra que la inhibición de la síntesis proteica en la CI inmediatamente después de la presentación de sacarina novedosa afecta negativamente la AN (Rodríguez-Ortiz et al., 2005). Estos resultados confirman lo hallado en otras memorias, tales como la prevención pasiva (Freeman et al., 1995; Quevedo et al., 1999; Igaz et al., 1992), el condicionamiento de miedo (Schafe et al., 1999; Maren et al., 2003), memorias espaciales (Meiri y Rosenblum, 1998; Touzani et al., 2007), y tareas instrumentales (Hernandez et al., 2003) en el sentido de que la consolidación de la memoria es dependiente de la síntesis de proteínas.

#### **1.4.2. VÍAS NEURONALES DE LA MEMORIA GUSTATIVA**

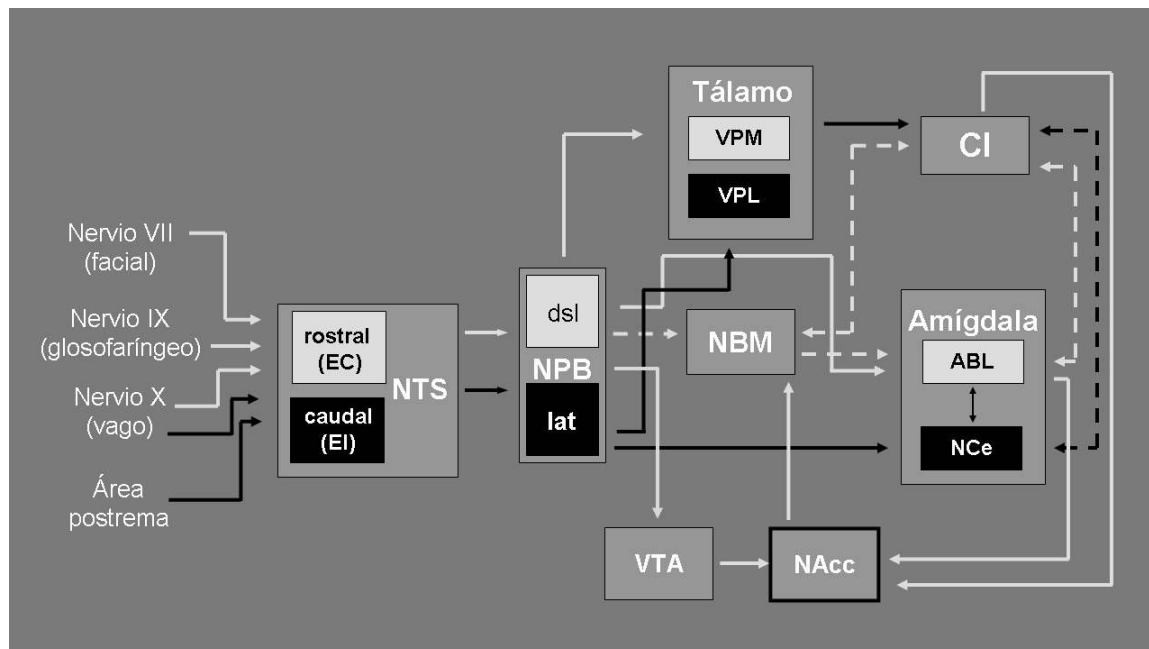
En mamíferos, la información gustativa entra al sistema nervioso central a través de los nervios craneales facial (VII), glossofaríngeo (IX) y vago (X), y llegan al núcleo del tracto solitario (NTS) rostral en el tallo cerebral (Bermúdez-Rattoni, 2004, Yamamoto et al., 1994). Del NTS rostral pasa al subnúcleo dorsolateral del núcleo parabraquial pontino (NPB), de donde salen

proyecciones hacia el hipotálamo lateral, la amígdala basolateral (ABL) y el núcleo central amigdalino (NCe), y al núcleo ventroposteromedial del tálamo; desde la ABL y CI parten fibras hacia el núcleo accumbens, mientras que desde el tálamo la información alcanza la corteza gustativa. Desde el NCe parten aferencias hacia el área ventral tegmental (VTA), que a su vez se comunica con el NAcc. Por su parte, el NAcc envía proyecciones hacia el núcleo basal magnocelular (NBM) (Figura 1.2) (Bermúdez-Rattoni, 2004, Yamamoto et al., 1994; Ramírez-Lugo et al., 2007).

Los irritantes del sistema gastrointestinal estimulan al nervio vago, de donde parten proyecciones hacia el NTS caudal. Adicionalmente, los inductores de malestar alcanzan a través del torrente sanguíneo el área postrema<sup>13</sup>. El área postrema también manda proyecciones al NTS caudal, de donde parten fibras hacia el NPB lateral, la ABL y el núcleo paraventricular del hipotálamo. El NPB caudal proyecta finalmente hacia la porción ventroposterolateral del tálamo (Bermúdez-Rattoni, 2004, Bermúdez-Rattoni et al., 2004; Yamamoto et al., 1994; Yamamoto, 2007). Todo el circuito de la memoria gustativa antes descrito se esquematiza en la Figura 1.2.

---

<sup>13</sup> Zona, ubicada en el piso del cuarto ventrículo, en el tallo cerebral (López-Antúnez, 1979), con una barrera hematoencefálica más permisiva que la del resto del cerebro; es el área postrema la encargada de detectar signos de toxicidad (Yamamoto et al., 1994)

**FIGURA 1.2. VÍAS NEURALES DEL TRAZO DE MEMORIA DEL SABOR**

**Figura 1.2.** Esquema que muestra a las estructuras cerebrales que participan en el trazo de la memoria gustativa. Las líneas gris claro representan la codificación de la información gustativa (EC); las líneas negras representan la codificación de la información visceral (EI); las líneas punteadas representan proyecciones que participan en el CAS pero cuya modalidad sensorial se desconoce. NTS: núcleo del tracto solitario; NPB: núcleo parabraquial pontino, dsl: subnúcleo dorsolateral, lat: subnúcleo exterior lateral; NBM: núcleo basal magnocelular; NAcc: núcleo accumbens; VPM: tálamo ventroposteromedial, VPL: tálamo ventroposterolateral; VTA: área tegmental ventral; CI: corteza insular; ABL: amígdala basolateral, NCe: núcleo central amigdalino. Modificado de Bermúdez-Rattoni, 2004 y Ramírez-Lugo et al., 2007.

La información generada por el sabor alcanza la corteza gustativa, que se encuentra en la región agranular de la CI (Bermúdez-Rattoni 2004, Yamamoto et al., 1994; Yamamoto, 2007). La evidencia indica que la CI es una estructura particularmente importante para la memoria gustativa (Bermúdez-Rattoni, 2004). En este sentido, se ha visto que lesiones en la CI eliminan la aversión al sabor una vez consolidado el aprendizaje del CAS (Yamamoto et al., 1994). También se ha reportado que la remoción de la corteza cerebral en ratas antes del aprendizaje de aversión al sabor impiden que los animales aprendan el CAS (Bermúdez-Rattoni, 2004). Sin embargo, otros trabajos apuntan a que la corteza gustativa no es esencial para la percepción del sabor por sí misma; por ejemplo, animales lesionados en la CI prefieren la ingesta de sustancias con valor nutricional intrínseco, como soluciones de sacarosa o soluciones de cloruro de sodio, y rechazan la ingesta de sustancias innatamente aversivas, como soluciones de quinina o soluciones ácidas (Bermúdez-Rattoni, 2004).

La evidencia no permite establecer una relación exclusiva entre una estructura cerebral particular y alguno de las dos modalidades del TMS (Bermúdez-Rattoni, 2004). De entre las



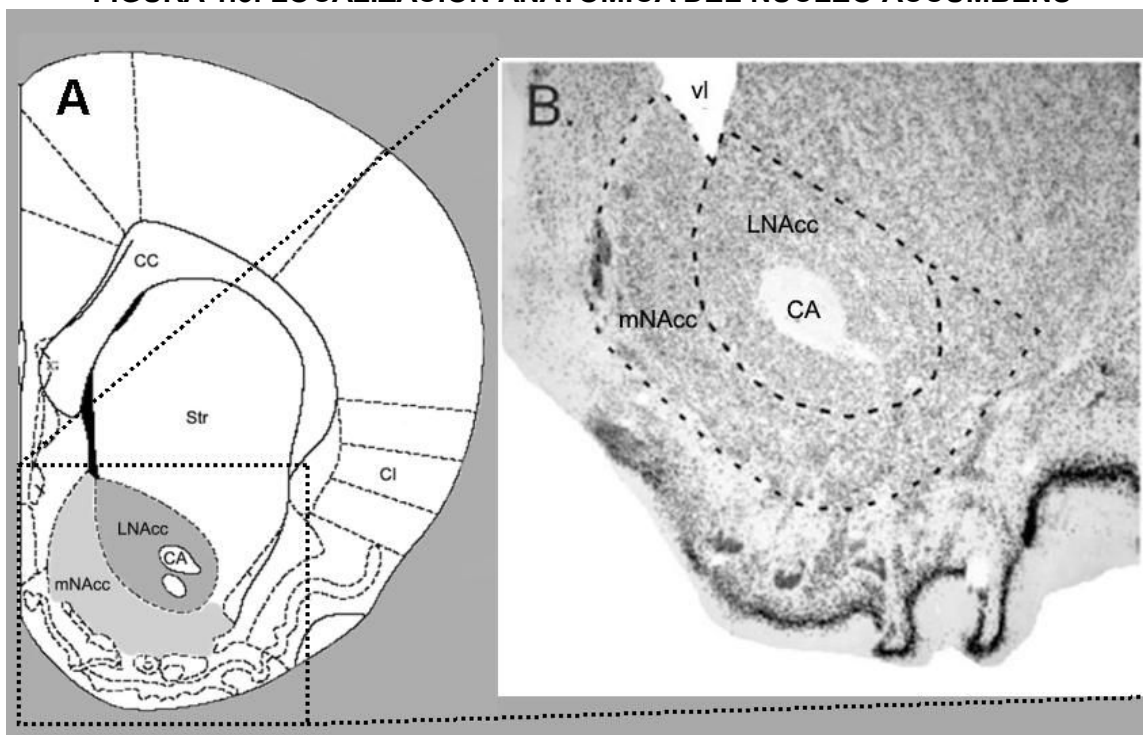
estructuras que participan en la codificación de este TMS una de las menos estudiadas es el núcleo accumbens. El núcleo accumbens es una región del cerebro rostrubasal que está anatómica y funcionalmente en estrecha relación con el cuerpo estriado (Zahm, 2000). Como se puede apreciar en la Figura 1.2, el núcleo accumbens está interconectado con estructuras que tienen una gran importancia en la formación del TMS, como la corteza gustativa, la ABL, y el NBM, entre otras.

## 1.5. NÚCLEO ACCUMBENS

El núcleo accumbens (NAcc) es una estructura bilateral del telencéfalo<sup>14</sup> rostrubasal, y se ubica en la parte caudal del asta anterior del ventrículo lateral, y arriba de la sustancia perforada anterior (López-Antúnez, 1979). Junto con el tubérculo olfatorio forma el estriado ventral, región ésta última perteneciente a los ganglios basales (López-Antúnez, 1979; Zahm, 2000). En la Figura 1.3 se muestra la ubicación anatómica de esta estructura en el cerebro de la rata.

---

<sup>14</sup> División más grande del cerebro, basada en el desarrollo embrionario del sistema nervioso; incluye a la corteza cerebral, sistema límbico, bulbo olfatorio y ganglios basales (López-Antúnez, 1979).

**FIGURA 1.3. LOCALIZACIÓN ANATÓMICA DEL NÚCLEO ACCUMBENS**

**Figura 1.3.** (A) Esquema coronal donde se muestra la ubicación del NAcc y sus subregiones medial (mNAcc) y lateral (LNAcc) en el cerebro de la rata. Str: estriado; CC: cuerpo caloso; CI: corteza insular; (B) microfotografía coronal mostrando al mNAcc y al LNAcc en el cerebro de la rata; vl: ventrículo lateral. (B) Modificado de Pothuizen et al., 2006.

El NAcc está involucrado con conductas dirigidas a la obtención de reforzadores, ya sean éstos naturales (p. Ej., ingesta, actividad sexual) o artificiales, como drogas de abuso (p. Ej., cocaína y anfetaminas); en este sentido, su participación en el desarrollo de las adicciones es bien conocida, principalmente a través de su actividad dopaminérgica (Kelley, 2004; Zahm, 2000). El NAcc recibe proyecciones glutamatérgicas en su mayoría de estructuras límbicas relacionadas con el control de respuestas emocionales, como la amígdala y el hipotálamo, y cortezas como la corteza prefrontal (PFC); a su vez, el NAcc manda proyecciones principalmente GABAérgicas hacia circuitos motores como el globo pálido ventral y el mesencéfalo ventral (Kelley, 2004; Zahm, 1999, 2000; Wolf, 2002). Por lo tanto, se le considera como una interfaz entre estímulos reforzantes y conductas motoras dirigidas hacia la obtención de los mismos; es decir, entre “la motivación y la acción” (Kelley, 2004; Setlow, 1997; Ramírez-Lugo et al, 2006a, 2006b; Wolf, 2002; Hyman et al., 2006).

El NAcc se subdivide morfológicamente en tres regiones: el NAcc medial (mNAcc), el NAcc lateral (LNAcc), y el NAcc rostral (en inglés *shell*, *core* y *rostral pole*, respectivamente); la mayoría de los autores consideran al NAcc rostral como una extensión del medial, por lo que la

diferenciación dominante del NAcc en la literatura considera generalmente sólo al NAcc medial y al lateral (Zahm, 2000).

De las tres subregiones antes mencionadas, el mNAcc es el que tiene la mayor diversidad en cuanto a conexiones interestructurales (Zahm, 1999), ya que manda proyecciones a la parte medial del globo pálido ventral, hipotálamo lateral, al VTA, al NPB, y la *sustancia nigra pars compacta*; a su vez, recibe aferencias dopaminérgicas del VTA, GABAérgicas y glutamatérgicas de la ABL y de la CI, y noradrenérgicas del NTS y el *locus coeruleus* (Ramírez-Lugo et al, 2006; Zahm, 2000). De estas estructuras, la ABL, el NPB, el NTS y la CI son de gran importancia en el TMS (Ramírez-Lugo et al, 2006).

El LNAcc tiene aferencias hacia la parte dorsolateral del globo pálido ventral, el núcleo entopeduncular, y la *sustancia nigra pars compacta* (Ramírez-Lugo et al., 2007; Zahm, 2000), y recibe proyecciones de la PFC dorsal, la ABL y el tálamo ventromedial (Zahm, 2000).

Se sabe que esta estructura está involucrada en memorias declarativas<sup>15</sup>, como el laberinto acuático de Morris<sup>16</sup> (Setlow, 1997), y no declarativas, como la memoria gustativa (Ramírez-Lugo et al., 2007, 2006b).

### 1.5.1. NÚCLEO ACCUMBENS EN APRENDIZAJES ASOCIATIVOS

Existe evidencia que indica la participación del NAcc en memorias asociativas. Por ejemplo, se sabe que existe en el NAcc una liberación significativamente mayor de glutamato cuando una rata asocia un tono con una descarga eléctrica en las patas (Salu'skaya y Mardsen, 1997). Similarmente, la liberación de dopamina en el mNAcc es significativamente mayor durante la evocación en esta tarea de miedo a un tono (Pezze et al., 2001). Asimismo, la inactivación en ratas del NAcc con el bloqueador de los canales de Na<sup>+</sup> sensibles a voltaje tetrodotoxina<sup>17</sup>,

---

<sup>15</sup> La memoria declarativa es aquella que almacena recuerdos que pueden ser fácilmente traídos a la conciencia, como la memorización de fechas y datos, o las memorias espaciales, mientras que la memoria no declarativa es aquella que no puede ser fácilmente traída a la conciencia y sólo se expresa a través de la ejecución, como en el caso de los condicionamientos clásico y operante, o en la adquisición de habilidades motoras (Setlow, 1997; Squire y Kandel, 1999). Existe evidencia neurológica de pacientes con lesiones en el lóbulo temporomedial que apunta a que la memoria declarativa es dependiente de la actividad del hipocampo, mientras que la memoria no declarativa no depende de la actividad de esta estructura subcortical (Squire y Kandel, 1999).

<sup>16</sup> Tarea empleada para evaluar la memoria espacial. Consiste en un contenedor lleno de agua, el cual posee una pequeña plataforma cuya altura es inferior al nivel del agua; el animal (comúnmente se usan roedores) debe nadar en el contenedor hasta llegar a la plataforma, sirviéndose de claves espaciales fuera del contenedor como puntos de referencia (Squire y Kandel, 1999).

<sup>17</sup> La tetrodotoxina es una neurotoxina potente, abundantemente presente en el pez globo, y sin antídoto conocido, que impide los potenciales de acción en las neuronas bloqueando la actividad de los canales de Na<sup>+</sup> sensibles a voltaje (Agnew, 1984). Comúnmente la muerte por intoxicación con TTX es debida a hipoxia cerebral, consecuencia de la depresión de los músculos respiratorios (Tambyah et al., 1994).

impide el aprendizaje y la evocación de un condicionamiento de miedo, asociando una luz con un choque eléctrico en las patas de los animales (Schwienbacher et al., 2004). De igual forma, en un condicionamiento pavloviano en el que se emplea una luz como EC y la disponibilidad de sacarosa como EI, la tasa de disparo de las neuronas del NAcc es significativamente mayor cuando se presenta el EC, una vez que la tarea ha sido aprendida (Wan y Peoples, 2006). Finalmente, se ha visto que la administración de antagonistas de los receptores D1 y D2<sup>18</sup> dopaminérgicos en el mNAcc interfieren con el aprendizaje de condicionamiento de preferencia a un lugar con morfina (Fenu et al., 2006) y nicotina (Spina et al., 2006). Estos datos sugieren que la actividad del NAcc es importante en varios aprendizajes asociativos. Adicionalmente, se ha verificado la participación de esta estructura en la memoria gustativa.

### 1.5.2. NÚCLEO ACCUMBENS Y MEMORIA GUSTATIVA

Existe evidencia específica que apunta a que el NAcc participa en la formación de la memoria gustativa. Por ejemplo, Mark y colaboradores, recolectando fracciones de 20 minutos obtenidas con microdiálisis<sup>19</sup> y analizadas con HPLC<sup>20</sup>, midieron los niveles extracelulares de dopamina (DA) en el NAcc durante el aprendizaje del CAS, encontrando que la sacarina no condicionada aumenta la liberación de DA significativamente en un 37% (Mark et al., 1991). Por el contrario, cuando la sacarina ha sido asociada con malestar gástrico, los niveles de DA disminuyen en 40% (Mark et al., 1991). En otro trabajo, estos autores midieron los niveles esta vez de acetilcolina durante el aprendizaje del CAS, encontrando que la asociación del EC con el EI provocó un aumento de 40% en la liberación de acetilcolina (Mark et al., 1995). Asimismo, Fenu y colaboradores exploraron la participación del sistema dopaminérgico en el mNAcc en la formación del TMS aversivo, encontrando que la inyección de un antagonista de los receptores D1 de dopamina (SCH-39166) en esta estructura, 5 minutos después del sabor, bloqueó la formación del CAS (Fenu et al., 2001). Estos trabajos, en conjunto, sugieren la participación del NAcc en la formación de la memoria gustativa de aversión, principalmente a través de la actividad de varios sistemas de neurotransmisión, específicamente el colinérgico y el

---

<sup>18</sup> Los receptores dopaminérgicos son proteínas transmembranales que están unidas a proteínas G (enzimas que se activan tras cambiar su unión constitutiva del nucleótido guanósín difosfato –GDP- por guanósín trifosfato –GTP-). Estos receptores se dividen en receptores tipo D1, que están unidos a una clase de proteína G excitatoria (que estimula la síntesis del segundo mensajero adenosín monofosfato cíclico –cAMP-), y D2, los cuales están unidos a otra clase de proteína G inhibitoria (disminuye la síntesis de cAMP) (Siegel et al., 1999).

<sup>19</sup> Técnica empleada para obtener muestras de fluido presente en el espacio extracelular de los tejidos (Siegel et al., 1999).

<sup>20</sup> Cromatografía líquida de alta resolución (en inglés *High Performance Liquid Chromatography*), es un tipo de cromatografía en columna utilizada para analizar una muestra bioquímica y separar sus componentes, con base en la interacción de los componentes de la muestra analizada y la columna cromatográfica (Siegel et al., 1999).

dopaminérgico. Consistentemente, se ha reportado que la expresión de c-Fos<sup>21</sup> aumenta significativamente en el mNAcc cuando se induce CAS con altas dosis de cloruro de litio (LiCl) (Ferreira et al., 2006), lo cual apoya la idea de la participación del mNAcc en la formación de la aversión a un sabor.

Más recientemente Ramírez-Lugo y colaboradores estudiaron el papel de los sistemas colinérgico y glutamatérgico en el mNAcc y LNAcc en el TMS. Estos autores bloquearon los receptores muscarínicos y tipo NMDA 15 minutos antes del sabor en el CAS y 15 minutos antes de la sacarina novedosa en la AN, en ambas subestructuras (Ramírez-Lugo et al., 2006). Los resultados que obtuvieron fueron, en el TMS aversivo, que la inhibición de los receptores NMDA antes del sabor afecta la MCP y la MLP, tanto en el mNAcc como en el LNAcc, mientras que la inhibición de los receptores colinérgicos tuvo efectos en la MCP y MLP sólo en el mNAcc. En el TMS seguro, el bloqueo de los receptores muscarínicos tuvo efectos sólo en el mNAcc en la prueba al día siguiente de la adquisición, mas no en la neofobia ni en las pruebas posteriores. El bloqueo de los receptores NMDA no tuvo efecto en ninguna de las dos subregiones. (Ramírez-Lugo et al., 2006). Estos datos muestran que el mNAcc es especialmente relevante en la formación del TMS, ya que es la única subestructura del NAcc donde se ve que la actividad tanto de los receptores NMDA como los receptores muscarínicos es crítica para la codificación del TMS seguro y del TMS aversivo. En el caso de la actividad colinérgica en el mNAcc, la evidencia indica que esta subregión es importante para la consolidación tanto del TMS seguro como del aversivo. De hecho, algunos trabajos (Hernández et al., 2001; Li y Fleming, 2004) han encontrado que el mNAcc participa, a través de la síntesis de nuevas proteínas, en la consolidación de algunas memorias.

### **1.5.3. CONSOLIDACIÓN EN EL NÚCLEO ACCUMBENS.**

Existe evidencia experimental de que el NAcc está involucrado en la consolidación de varias memorias. Hernández y colaboradores reportaron que la inhibición de la síntesis de proteínas en el LNAcc durante los primeros 5 días del aprendizaje de una tarea instrumental en una cámara operante<sup>22</sup> interfiere con la consolidación de la memoria, observándose que los animales inyectados con el fármaco tardan más tiempo en emitir respuestas correctas en

---

<sup>21</sup> Gen de expresión temprana (ver sección 5.3) y factor de transcripción que se activa en respuesta a la estimulación de la neurona; por ello es empleado como marcador de actividad neuronal (Squire y Kandel, 1999).

<sup>22</sup> Aparato usado para el análisis experimental de la conducta, inventado alrededor de 1930 por B.F. Skinner. Consiste generalmente en una caja cerrada, con rejilla en el piso (por donde se pueden aplicar descargas eléctricas), y en uno de los muros una o varias luces, una o varias palancas, y un dispensador de comida. Usualmente se emplean roedores en estos aparatos. Las cámaras operantes se emplean para el estudio de los condicionamientos pavloviano y operante (Chance, 1999).

relación con el tiempo que tardan en responder correctamente los animales tratados con vehículo (Hernández et al., 2002), Análogamente, la inhibición de la síntesis proteica en el mNAcc con cicloheximida<sup>23</sup> afecta la consolidación de la memoria materna<sup>24</sup> en ratas hembra, medida días después de haber sido expuestas por 1hr a crías recién nacidas (Li y Fleming, 2003). Estos reportes indican que el NAcc es una estructura importante en la consolidación de algunas memorias, y que esta participación se da a través de la síntesis de proteínas. Sin embargo, sabiendo que el mNAcc es especialmente relevante para la consolidación de la memoria gustativa de aversión y de lo seguro a través de dos sistemas de neurotransmisión, no se ha explorado si también el mNAcc podría estar participando en la consolidación de estas memorias a través de la síntesis de proteínas.

---

<sup>23</sup> Inhibidor de síntesis de proteínas, que interfiere con la fase de elongación de la traducción; específicamente, bloquea la reacción de la peptidil-transferasa en la subunidad 60S de los ribosomas. Es un fármaco con fuertes efectos tóxicos (p.Ej., daño en el ADN, malformaciones congénitas, etc.), por lo que no se emplea como primera opción en la investigación en animales (Siegel et al., 1999).

<sup>24</sup> La memoria materna se refiere a la expresión de conductas relacionadas con la cuida de crías (lamer a las crías, llevarlas de regreso al nido, olfatearlas, etc.) que expresan ratas hembras que acaban de parir tras haber sido expuestas a crías recién nacidas. El hecho de que las ratas hembra acaben de parir es condición necesaria mas no suficiente para la expresión de estas conductas; debe haber una exposición a crías recién nacidas, considerada como el aprendizaje, para el surgimiento de estas respuestas (Li y Fleming, 2003).

## **2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

De acuerdo con la evidencia presentada anteriormente, se sabe que para que la memoria se establezca en el largo plazo, necesita pasar por un proceso llamado consolidación. La síntesis de proteínas es un proceso celular de gran importancia biológica en general, y lo es particularmente para que la memoria se consolide en el largo plazo, a través de la plasticidad sináptica. Un buen modelo para el estudio de la memoria es el aprendizaje gustativo, el cual forma un trazo de memoria que se divide en aversivo y seguro, y cuya consolidación depende de la síntesis de proteínas en la corteza gustativa. En la formación del trazo de memoria participan estructuras corticales y subcorticales; recientemente se ha descrito que el NAcc participa en la formación de la memoria gustativa, y particularmente, que el mNAcc está involucrado en la formación del TMS seguro y aversivo, principalmente a través de los sistemas colinérgico y glutamatérgico. Más aún, se sabe que la síntesis de proteínas en el NAcc es necesaria para la consolidación de algunas memorias. Con estos antecedentes, la pregunta de investigación es la siguiente:

**¿Es necesaria la síntesis de proteínas en el mNAcc en la consolidación de la memoria gustativa?**

### **2.1. OBJETIVOS**

#### **2.1.1. OBJETIVO GENERAL**

Determinar si es necesaria la síntesis de proteínas en el mNAcc en la consolidación del TMS.

#### **2.1.2. OBJETIVO PARTICULAR**

Evaluar si la síntesis de proteínas en el mNAcc participa de forma diferencial en el TMS seguro y en el TMS aversivo.

## 2.2. HIPÓTESIS

La síntesis de proteínas en el mNAcc es necesaria para la consolidación de la memoria gustativa. La inyección de un fármaco inhibidor de la síntesis de proteínas afectará la consolidación de la memoria, lo cual se verá reflejado en una disminución de la aversión (CAS) en la prueba al largo plazo, y en ausencia del reconocimiento de la seguridad-familiaridad del sabor (AN).



---

## 3. METODOLOGÍA.

### 3.1. ANIMALES

Se emplearon 160 ratas macho de la cepa Wistar, de 270 a 310gr al momento de la cirugía, obtenidas del bioterio del Instituto de Fisiología Celular, UNAM. Estos animales se mantuvieron en cajas de acrílico individuales con ciclo de luz-oscuridad de 12/12hrs; todas las manipulaciones y procedimientos experimentales se realizaron en la fase de luz. Los animales tuvieron acceso a alimento y agua *ad libitum*, excepto durante el desarrollo de los experimentos.

### 3.2. FÁRMACOS

Se empleó anisomicina (2-[p-metoxibencil]-3,4-pirrolidinediol 3-acetato,  $C_{14}H_{19}NO_4$ ) (Sigma, St. Louis, MO), efectivo inhibidor de síntesis de proteínas (arriba del 90% de inhibición; Grollman 1967). Este fármaco fue disuelto en HCl equimolar, ajustado a un pH de 7.4, con una concentración final de 100  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ , (Rosenblum 1993).

Como vehículo se empleó una solución de líquido cefalorraquídeo artificial (ACSF por sus siglas en inglés, NaCl 125mM, KCl 5mM,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$  1.25mM,  $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$  1.5mM,  $\text{NaHCO}_3$  26mM,  $\text{CaCl}_2$  2.5mM, glucosa 10mM).

### 3.3. CIRUGÍA

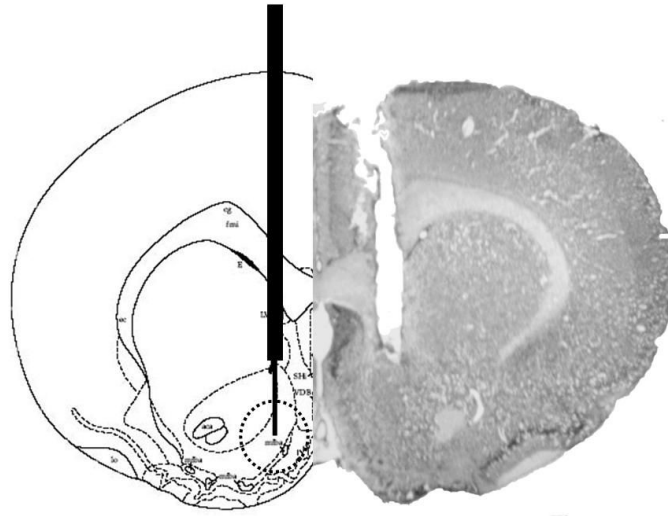
Los animales fueron anestesiados con pentobarbital sódico (40mg/kg, intraperitoneal). Después se les implantaron cánulas bilaterales de calibre 23 y 12mm de largo en el mNAcc, siguiendo las coordenadas: AP= +2mm, y lateral=  $\pm 1\text{mm}$  con respecto a Bregma (Paxinos y Watson, 1986). La punta de la cánula fue ubicada a -5.3mm subdural, 2.5mm sobre el mNAcc. Dichas cánulas se fijaron al cráneo con 2 tornillos y acrílico dental, y se bloquearon con estiletes de acero para evitar su obstrucción.

### **3.4. MICROINYECCIÓN**

Todos los animales fueron manipulados por aproximadamente 3 minutos durante los días de registro de línea base, esto para minimizar los efectos del estrés en la conducta el día de las microinyecciones. Las microinyecciones se realizaron con las ratas concientes, sostenidas a mano. Se retiraron los estiletes que bloqueaban las cánulas, y se insertaron dos inyectores dentales de calibre 30 y 14.5mm de largo, uno por cada hemisferio, que fueron conectados por medio de tubería de polietileno a dos jeringas Hamilton de cristal de 10 $\mu$ l montadas en una bomba automática de microinfusión. El volumen total inyectado fue de 1 $\mu$ l por hemisferio, a razón de 0.5  $\mu$ l/min. Los inyectores se dejaron un minuto adicional para permitir la difusión del fármaco en el tejido.

### **3.5. ANÁLISIS HISTOLÓGICO**

Para determinar el lugar exacto donde fueron ubicadas las cánulas, los animales fueron sacrificados con una sobredosis de pentobarbital. Posteriormente fueron perfundidos con solución salina al 0.9% mediante una aguja intracardiaca. Se les extrajo los cerebros, mismos que fueron fijados en una solución al 0.4% de paraformaldehído/PB 0.1M; posteriormente, los cerebros extraídos fueron colocados en una solución al 30% de sacarosa. Los cerebros congelados fueron cortados con un crióstato en secciones coronales de 40 $\mu$ m de espesor y los cortes, montados en laminillas, fueron teñidos con violeta de cresilo y analizados al microscopio mediante la técnica de campo claro. En la Figura 3.1 se muestra una microfotografía representativa de la ubicación de las cánulas implantadas. Los animales detectados con una implantación errónea de las cánulas fueron descartados del análisis estadístico.

**FIGURA 3.1. LOCALIZACIÓN DE LAS CÁNULAS GUÍA EN EL CEREBRO**

**Figura 3.1.** Microfotografía de uno de los cortes coronales del cerebro de una rata, de 40 $\mu$ m 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.

**3.6. PROCEDIMIENTOS CONDUCTUALES**

Después de la cirugía, se dejó descansar a todos los animales 4 días, durante los cuales tuvieron agua y alimento *ad libitum*. Al día 5 fueron privados 24hrs de agua. Los protocolos conductuales empleados en cada uno de los experimentos se detallan en la siguiente sección.

## 4. EXPERIMENTOS

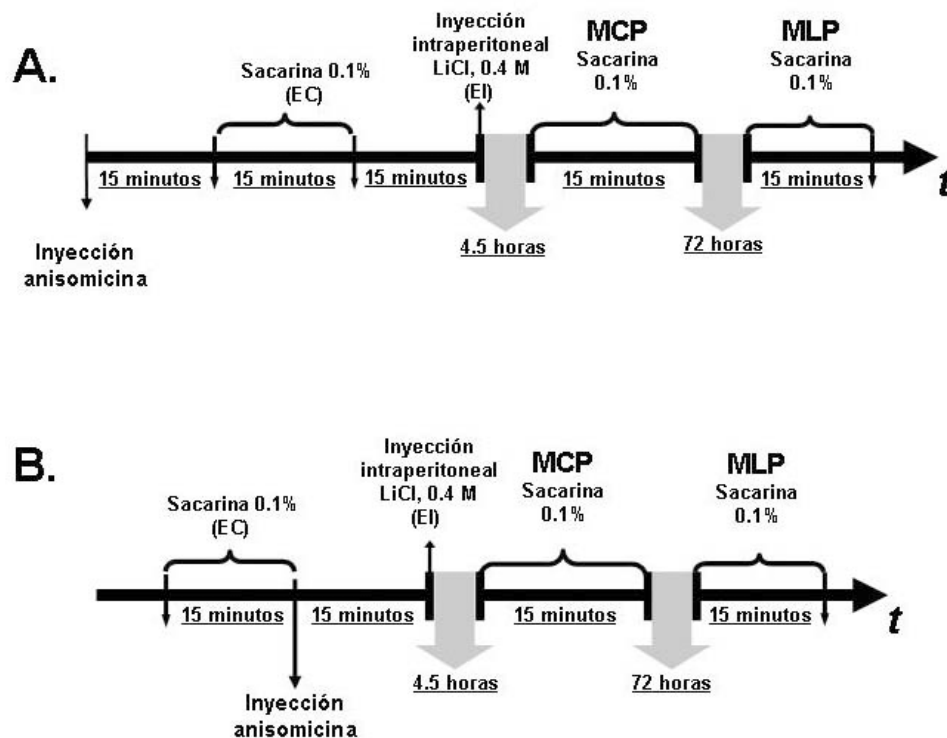
### 4.1. EXPERIMENTO 1. BLOQUEO DE LA SÍNTESIS DE PROTEÍNAS EN EL CONDICIONAMIENTO DE AVERSIÓN AL SABOR

Durante los 4 días siguientes a la privación los animales tuvieron acceso a pipetas con agua dos veces al día; el propósito de este doble consumo diario fue habituar a los animales al procedimiento conductual para evaluar posteriormente la MCP. En la mañana, tuvieron acceso durante 15 minutos a 10ml de agua, mismos que generalmente son ingeridos en su totalidad; 4.5hrs más tarde, pudieron acceder a 40ml de agua por 15 minutos. Estos últimos consumos, que habitualmente son inferiores a los 40ml disponibles, fueron registrados y su media constituyó la línea basal (LB) de consumo de agua.

El día de la adquisición, se le presentó a las ratas el estímulo gustativo, consistente en 10ml de una solución de sacarina sódica (Sigma, St. Louis, MO) al 0.1%; este sabor fungió como EC. 15 minutos después de les administró intraperitonealmente un inductor de malestar gástrico, LiCl (0.4M, 7.5 ml/kg, Baker, Phillipsburg, NJ); este estímulo fungió como EI. La MCP se evaluó a las 4.5hrs de administrado el EI, presentando a los animales 40ml de sacarina por 15 minutos. Durante los 3 días siguientes se restableció el consumo diario de agua, limitado a 40ml de agua por 15 minutos. La MLP se evaluó a las 72hrs posteriores a la adquisición, presentando 40ml de sacarina por 15 minutos.

Para investigar la participación de la síntesis de proteínas en el TMS aversivo, 30 animales recibieron la microinyección del fármaco 15 minutos antes del EC, divididos en dos grupos: uno de 15 ratas a las que se les administró anisomicina, y otro de 15 ratas tratado con vehículo; el procedimiento conductual usado se muestra en la Figura 4.1, A. Otros 32 animales recibieron la microinyección inmediatamente después del EC, divididos en dos grupos: uno de 16 ratas que recibieron anisomicina, y otro de 16 ratas que recibieron vehículo; el protocolo conductual empleado se muestra en la Figura 4.1, B. 5 animales intactos adicionales se emplearon como controles conductuales.

**FIGURA 4.1. PROTOCOLO EXPERIMENTAL PARA EL CONDICIONAMIENTO DE AVERSIÓN AL SABOR**



**Figura 4.1.** Representación del protocolo experimental empleado para estudiar la memoria aversiva **(A)** Inyección de anisomicina 15 minutos antes de la presentación de sacarina nueva (10ml, 0.1%); **(B)** inyección de anisomicina inmediatamente después de la presentación de sacarina nueva. En **(A)** y en **(B)** la prueba a corto plazo fue a las 4.5hrs de haber concluido el primer consumo de sacarina, presentándose 40ml de sacarina con la misma concentración que la usada en el aprendizaje. De forma análoga, en **(A)** y en **(B)** la prueba a largo plazo fue hecha a las 72hrs de haber finalizado el primer consumo de sacarina, presentándose 40ml de la misma concentración de sacarina empleada en el aprendizaje. Al final tanto de las pruebas a corto y a largo plazo se les proporcionó a los animales un bebedero con 40ml de agua para evitar la deshidratación, independientemente del consumo de sacarina en la prueba respectiva.

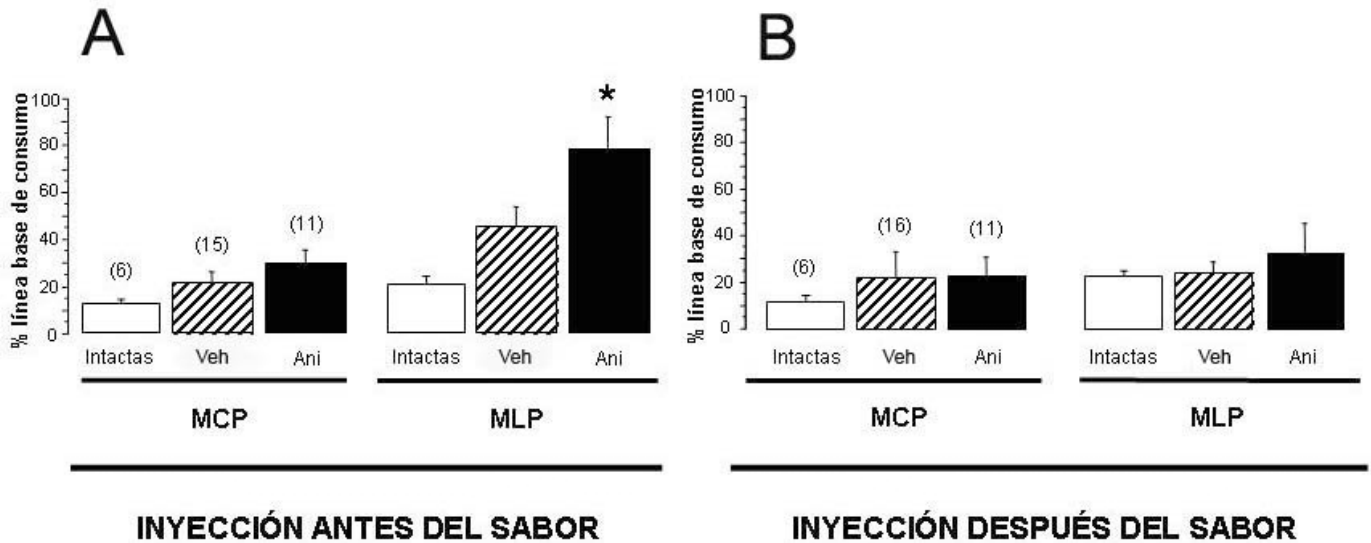
#### 4.1.1. RESULTADOS

Para el análisis estadístico se empleó un *análisis de varianza* (ANOVA) factorial, y un análisis *post-hoc* de Fisher para determinar la existencia de diferencias significativas entre los grupos. 9 animales fueron descartados del análisis por fallas técnicas durante el desarrollo del experimento. Los resultados se presentan en las Figuras 4.1 A y B, graficados en porcentajes de consumo con respecto a la LB (media + error estándar).

En la Figura 4.2, A se observa el efecto de la inyección de anisomicina en el mNAcc 15 minutos antes de la primera presentación del estímulo gustativo, en la MCP y en la MLP. El análisis de la ANOVA factorial reveló que no hay diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) en la LB de consumo de agua entre el grupo de ratas con inyección de anisomicina ( $n = 11$ ), el grupo control con inyección de vehículo ( $n = 15$ ) y el grupo de animales intactos ( $n = 6$ ) ( $F_{2,30} = 2.183$ ; datos no mostrados). Tampoco se encontraron diferencias entre los grupos en el consumo de sacarina en la MCP ( $F_{2,30} = 2.076$ ). Sin embargo, sí se hallaron diferencias entre los grupos en el consumo de sacarina en la MLP ( $F_{2,30} = 5.857$ ,  $p < 0.05$ ).

En la Figura 4.2, B se muestra el efecto de la inyección de anisomicina en el mNAcc inmediatamente después de la presentación del estímulo gustativo, en la MCP y en la MLP. El análisis estadístico no reveló diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) en la LB de consumo de agua entre el grupo de ratas con inyección de anisomicina ( $n = 11$ ), el grupo control con inyección de vehículo ( $n = 16$ ) y el grupo de animales intactos ( $n = 6$ ) ( $F_{2,29} = 2.081$ ; datos no mostrados). Tampoco se encontraron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre los grupos ni en la MCP ( $F_{2,29} = 0.188$ ) ni en la MLP ( $F_{2,29} = 0.362$ ).

**FIGURA 4.2. RESULTADOS OBTENIDOS CON LA INYECCIÓN DE ANISOMICINA EN EL MNACC ANTES O DESPUÉS DEL SABOR EN EL CONDICIONAMIENTO DE AVERSIÓN AL SABOR**



**Figura 4.2.** El bloqueo de la síntesis de proteínas en el mNAcc antes de la presentación del sabor bloquea la consolidación del TMS aversivo. Los datos se presentan en porcentajes con respecto a la LB (media + error estándar). La reducción en el consumo de sacarina con respecto a la línea base fue usada como indicador de la fuerza de la aversión **(A)** inyección hecha antes del EC; el fármaco afecta la MLP, pero no la MCP, lo cual sugiere un efecto del inhibidor de la síntesis de proteínas en la consolidación del TMS aversivo **(B)** inyección hecha después del EC; la inyección de la anisomicina no tiene efecto en el consumo ni en la MCP ni en la MLP. Veh: vehículo, Ani: anisomicina \* $p < 0.05$ , comparado contra el vehículo y los intactos (prueba *post-hoc* de Fisher).

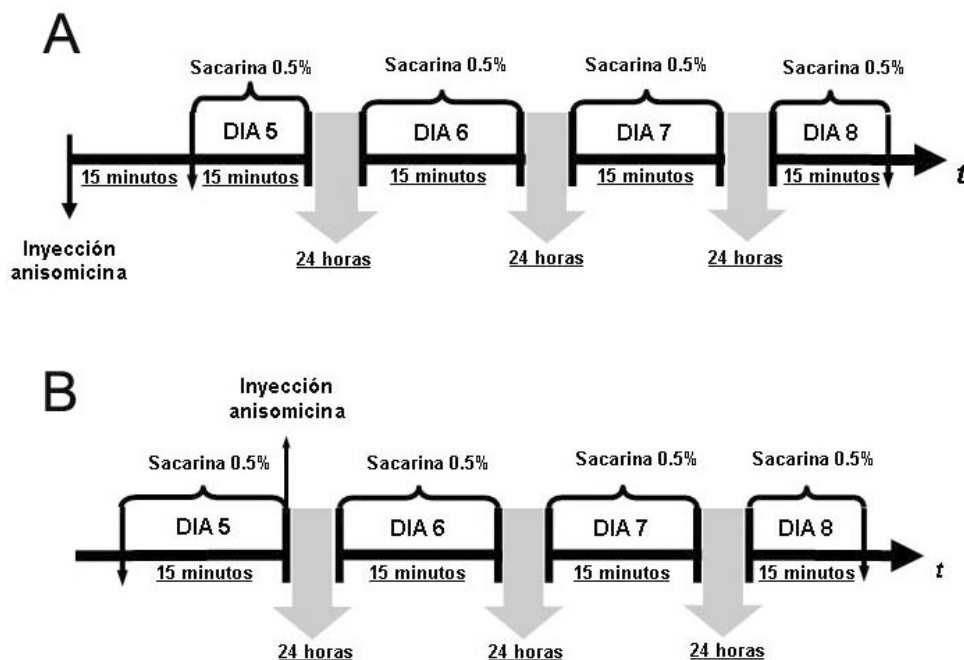
## **4.2. EXPERIMENTO 2. BLOQUEO DE LA SÍNTESIS DE PROTEÍNAS EN LA ATENUACIÓN DE LA NEOFOBIA.**

Los siguientes 4 días posteriores a la privación de agua, los animales tuvieron acceso diario a pipetas con 40ml de agua por 15 minutos; este consumo, habitualmente inferior a los 40ml disponibles, se registró y su media se consideró como LB.

El día 5 se les presentó a las ratas el estímulo gustativo novedoso, consistente en una solución de sacarina al 0.5%; los animales tuvieron acceso a 40ml de esta solución durante 15 minutos. Se registró este consumo como indicador de la novedad del sabor (neofobia), considerándose un consumo bajo con respecto a la LB como indicador de la percepción de la sacarina como sabor novedoso. Para prevenir la deshidratación de las ratas, se les permitió el acceso a 40ml de agua adicionales por 15 minutos al concluir el experimento, independientemente de su consumo previo de sacarina. Durante los siguientes 3 días se evaluó la AN, repitiendo la presentación de 40ml de sacarina por 15 minutos, seguida de 40ml de agua por 15 minutos.

Con el objeto de evaluar la participación de la síntesis de proteínas en el TMS seguro, 22 animales recibieron la inyección del fármaco 15 minutos antes de la sacarina, como se muestra en la Figura 4.3. Estos animales fueron divididos en dos grupos: uno de 11 ratas a las cuales se les administró anisomicina, y otro de 11 ratas a las cuales se les administró vehículo. Otros 24 animales recibieron la microinyección del inhibidor inmediatamente después del consumo de sacarina, como se muestra en la Figura 4.3. Estos animales se dividieron en dos grupos: uno de 12 ratas que recibieron anisomicina, y otro de 12 ratas que recibieron vehículo. Se emplearon 4 animales intactos adicionales como controles conductuales.



**FIGURA 4.3. PROTOCOLO CONDUCTUAL DE LA ATENUACIÓN DE LA NEOFOBIA**


**Figura 4.3.** Representación del protocolo experimental empleado en la atenuación de la neofobia. **(A)** Inyección de anisomicina hecha 15 minutos antes de la primera presentación de sacarina (40ml, 0.5%), **(B)** inyección de anisomicina hecha inmediatamente después del sabor nuevo. Se interpretó la magnitud en la reducción en el primer consumo de sacarina con respecto a la LB como indicador de la novedad del sabor (neofobia), mientras que el incremento progresivo en el consumo de sacarina en las pruebas hechas en los 3 días siguientes (días 6, 7 y 8) constituyó la atenuación de la neofobia. Al final de todas las presentaciones de sacarina (neofobia y AN) se les dio acceso a los animales a 40ml de agua por 20 minutos independientemente del consumo de sacarina, para evitar la deshidratación.

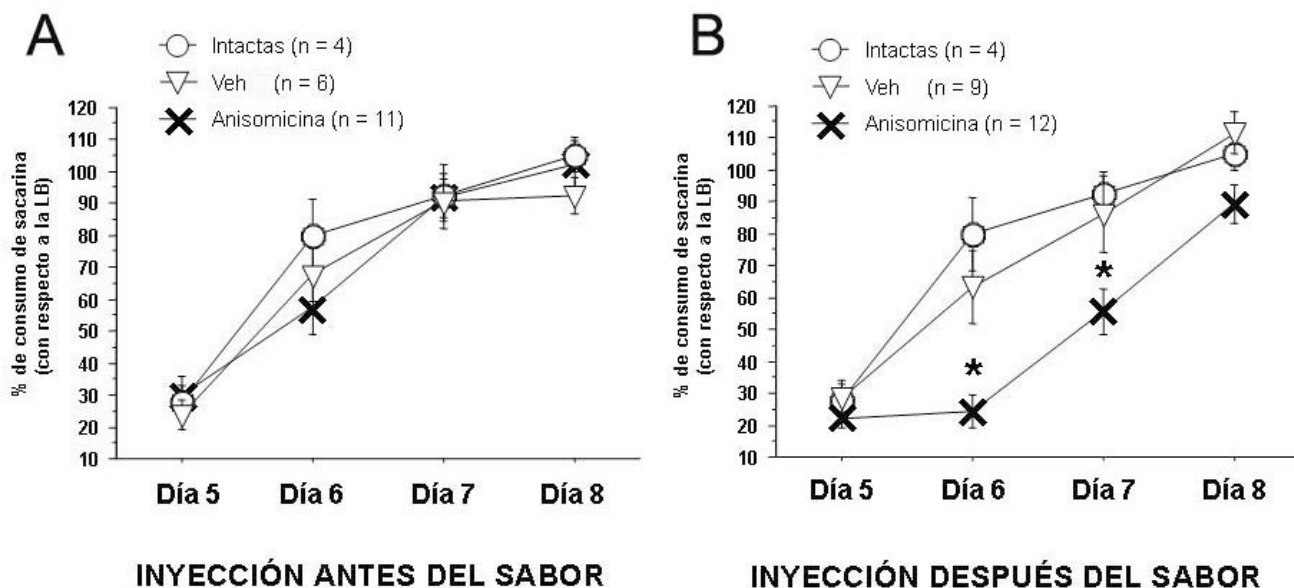
### 7.2.1. RESULTADOS

Para el análisis estadístico se empleó un *análisis de varianza* (ANOVA) factorial, y un análisis *post-hoc* de Fisher para determinar la existencia de diferencias significativas entre los grupos. Se descartaron del análisis 8 animales por problemas técnicos durante el desarrollo del experimento. Los datos se presentan en las Figuras 4.4 A y B en porcentajes de consumo de sacarina con respecto a la LB (media  $\pm$  error estándar).

En la Figura 4.4, A se observa el efecto de la inyección de anisomicina en el mNAcc 15 min antes de la primera presentación del estímulo gustativo, en la AN. El análisis de la ANOVA factorial reveló que no hay diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) en la LB de consumo de agua entre el grupo de ratas con inyección de anisomicina ( $n = 11$ ), el grupo control con inyección de vehículo ( $n = 6$ ) y el grupo de animales intactos ( $n = 4$ ) ( $F_{2,21} = 0.765$ ; datos no mostrados). Tampoco se encontraron diferencias ( $p > 0.05$ ) entre los grupos en el consumo de sacarina en la neofobia ( $F_{2,21} = 0.131$ ) ni en las pruebas de los días 5 ( $F_{2,21} = 1.115$ ), 6 ( $F_{2,21} = 0.017$ ), y 7 ( $F_{2,21} = 0.286$ ).

En la Figura 4.4, B se muestra el efecto de la inyección de anisomicina en el mNAcc inmediatamente después de la presentación del estímulo gustativo, en la AN. El análisis estadístico no reveló diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) en la LB de consumo de agua entre el grupo de ratas con inyección de anisomicina ( $n = 12$ ), el grupo control con inyección de vehículo ( $n = 9$ ) y el grupo de animales intactos ( $n = 6$ ) ( $F_{2,22} = 0.609$ ; datos no mostrados). Tampoco se encontraron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre los grupos en la neofobia ( $F_{2,22} = 0.726$ ). Sin embargo, sí se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en las pruebas del día 5 ( $F_{2,22} = 9.905$ ) y el día 6 ( $F_{2,22} = 4.371$ ) entre el grupo de anisomicina y los grupos de controles e intactos. En la prueba del día 7 no se encontraron diferencias entre los grupos ( $p > 0.05$ ,  $F_{2,22} = 3.610$ ).

**FIGURA 4.4. RESULTADOS OBTENIDOS CON LA INYECCIÓN DE ANISOMICINA EN EL MNACC ANTES O DESPUÉS DEL SABOR NUEVO EN LA ATENUACIÓN DE LA NEOFOBIA**



**Figura 4.4.** El bloqueo de la síntesis de proteínas en el mNAcc después del sabor novedoso altera la consolidación del TMS seguro. Los datos se presentan en porcentajes de consumo con respecto a la LB (media  $\pm$  error estándar). **(A)** inyección de anisomicina en el mNAcc hecha antes del sabor, no se observan cambios en el consumo de sacarina ni en la neofobia (día 5) ni su atenuación (días 6, 7 y 8) con respecto a los controles. **(B)** inyección de anisomicina en el mNAcc después del sabor; no se afecta la neofobia, pero se observa una reducción significativa en el consumo de sacarina del día 6 y el día 7 (AN) con respecto a los controles. Veh: vehículo, Ani: anisomicina \* $p < 0.05$ , comparado contra el vehículo (prueba *post-hoc* de Fisher).

### 4.3. INTRODUCCIÓN AL EXPERIMENTO 3.

En los experimentos anteriores se exploró el papel de la síntesis de proteínas en el mNAcc en la consolidación de la memoria gustativa tanto de aversión como de lo seguro.

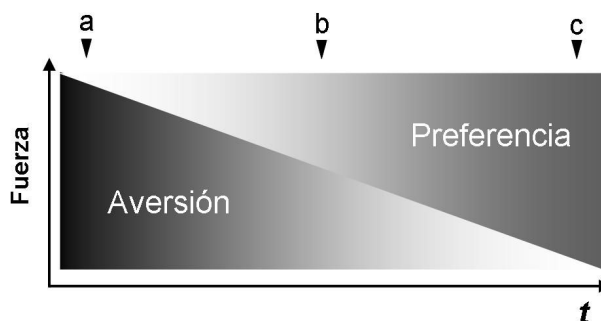
En el experimento 1, la inhibición de la síntesis de proteínas con el fármaco en el mNAcc antes, pero no después del estímulo gustativo, bloquea la consolidación de aversión al sabor. No se encontraron efectos en la MCP, lo cual sugiere que con el fármaco no se está interfiriendo con el aprendizaje de la tarea. Debido a que el animal es capaz de aprender que la sacarina es aversiva, resulta factible que sólo se esté inhibiendo una síntesis de proteínas que sea necesaria para consolidar la memoria del sabor sólo si éste ha de ser asociado con malestar. Esta síntesis de proteínas se da en un lapso de tiempo que no supera los 15 minutos, puesto que sólo el bloqueo antes de la percepción del sabor, pero no inmediatamente después de terminado el consumo, impide la consolidación.

En el experimento 2, la inhibición de la síntesis de proteínas en el mNAcc inmediatamente después del consumo del sabor nuevo, pero no 15 minutos antes, previene la consolidación de la seguridad del sabor, lo cual se refleja en la disrupción de la AN. Este efecto se manifiesta en el consumo reducido de sacarina en las pruebas de los días 5 y 6; si se desarrollara una AN sin intervenciones farmacológicas, se observaría un incremento progresivo en el consumo en todas las pruebas siguientes a la neofobia. No se observa ningún efecto en la neofobia como tal, lo cual sugiere que no se está interviniendo con la percepción del sabor, ni con su cualidad de ser nuevo. En este caso, aparentemente se está interfiriendo con una síntesis de proteínas que será necesaria para consolidar la memoria del sabor sólo si éste no es seguido de malestar gástrico. Esta síntesis de proteínas comienza alrededor de 15 minutos después de que el animal ha tenido el primer contacto con el sabor nuevo, y hasta el momento no se ha determinado en qué momento finaliza, puesto que no se realizaron inyecciones posteriores.

Gutiérrez y colaboradores (2003a) han propuesto que la percepción de un sabor desencadena la formación del trazo de memoria, e inicia un periodo transitorio de “asociabilidad” entre los estímulos. Si durante este periodo se presenta malestar gástrico, la asociación entre malestar y sabor se realiza, y se inicia el proceso de consolidación, que lleva en última instancia a un CAS. Por el contrario, si durante este periodo no llega el malestar, el proceso de consolidación de la seguridad del sabor inhibe la posibilidad de formar una asociación entre sabor y malestar (Gutiérrez et al., 2003a). Esta propuesta se esquematiza en la Figura 4.5, donde *a*, *b* y *c* representan la presencia de malestar gástrico. En *a* el animal desarrollará una

fuerza mayor que en *b* y, cuando ha terminado el período en el que es posible que se asocien el sabor y el malestar gástrico, el animal consolidará la seguridad del sabor nuevo, inhibiéndose la formación de una posible aversión, aún cuando el malestar pueda presentarse en *c* (Gutiérrez et al., 2003a).

**FIGURA 4.5. MODELO DE LA CONSOLIDACIÓN DEL TRAZO DE MEMORIA DEL SABOR PROPUESTO POR GUTIÉRREZ Y COLABORADORES**



**Figura 4.5.** Modelo propuesto por Gutiérrez y colaboradores (2003a), el cual sugiere que la aversión que se pueda desarrollar a un sabor está en función del tiempo. En la figura, *a*, *b* y *c* representan posibles presentaciones de malestar gástrico. Tras la percepción del sabor, se abre un periodo en el que es posible la asociación entre sabor y malestar si es que éste último se presenta (*a*); el paso del tiempo dificulta el establecimiento de la aversión (*b*) y, una vez terminado este periodo de "asociabilidad", la consolidación de la seguridad del sabor bloquea una posible formación de aversión si se presentara el malestar en tiempos posteriores (*c*). Modificado de Gutiérrez et al., 2003a.

El experimento 1 de esta tesis sugiere que la activación de la síntesis de proteínas en el mNAcc durante el aprendizaje está siendo crítica para la consolidación del trazo de memoria del sabor que será catalogado como aversivo. Por otro lado, el experimento 2 de esta tesis sugiere que la activación de la síntesis de proteínas en el mNAcc después de la presentación del sabor nuevo es importante para la consolidación del TMS seguro. Entonces, de acuerdo con la propuesta de Gutiérrez y colaboradores, la consolidación del TMS seguro en el mNAcc estaría inhibiendo la posible formación de la aversión; si esta consolidación es bloqueada mediante la inhibición de la síntesis de proteínas, será posible realizar un aprendizaje de aversión futuro con el mismo sabor, ya que no será reconocido como seguro. De acuerdo con lo hallado en el experimento 2, este bloqueo de síntesis proteica deberá realizarse inmediatamente después del consumo del sabor nuevo, puesto que es en este tiempo en el que se descubrió que en el mNAcc la síntesis de proteínas es esencial para la consolidación del TMS seguro. Una forma de comprobar estas suposiciones es a través de la inhibición latente del CAS.

La inhibición latente (IL) es un efecto conductual que se caracteriza por un retardo en el condicionamiento de un estímulo como consecuencia de una presentación previa no condicionada del estímulo en cuestión (Lubow y De La Casa, 2005); en otras palabras, la preexposición a un estímulo condicionado *A* que será asociado posteriormente con un estímulo incondicionado *B* provocará que el animal requiera más asociaciones entre *A* y *B* para que la respuesta condicionada a *A* se establezca.

La IL en el CAS se reportó por vez primera en 1967 (Revusky y Bedaf, 1967); se puede generar presentando el EC (sacarina) en al menos una ocasión previa a la asociación con el EI (malestar gástrico), e implica que un animal generará aversión preferentemente hacia un sabor nuevo en vez de hacerlo hacia un sabor familiar (Gutiérrez et al., 2003b). Esta preferencia de asociación de sabores nuevos sobre sabores familiares es debida a que en la preexposición a un sabor nuevo se fortalece el TMS seguro, inhibiendo el TMS aversivo (Gutiérrez et al., 2003b). Si se genera una asociación posterior entre el sabor y malestar gástrico, debido a que el TMS seguro se ha consolidado, se necesitarán más asociaciones entre sabor y malestar para poder generar el TMS aversivo, observándose el citado retardo en el condicionamiento.

Entonces, si en el mNAcc se inhibe la síntesis de proteínas antes de la preexposición al sabor en un protocolo de IL del CAS, esta intervención no tendrá efecto en el desarrollo de la IL. Esto sería debido a que esta activación de síntesis de proteínas es necesaria para la consolidación del CAS y, al no presentarse malestar gástrico en este primer consumo de sacarina, se fortalecería sin interrupciones el TMS seguro. Por el contrario, si se realiza el bloqueo de la síntesis de proteínas en el mNAcc después de la preexposición al sabor, este tratamiento bloquearía la IL del CAS, permitiendo un rápido aprendizaje de aversión, con una sola asociación entre sabor y malestar posterior a la preexposición. Esto se debería a que la consolidación del TMS seguro ha sido inhabilitada, por lo que esta consolidación no estaría presente para inhibir la posible formación de aversión. Para comprobar esta hipótesis, se realizó un tercer experimento, como se detalla a continuación.

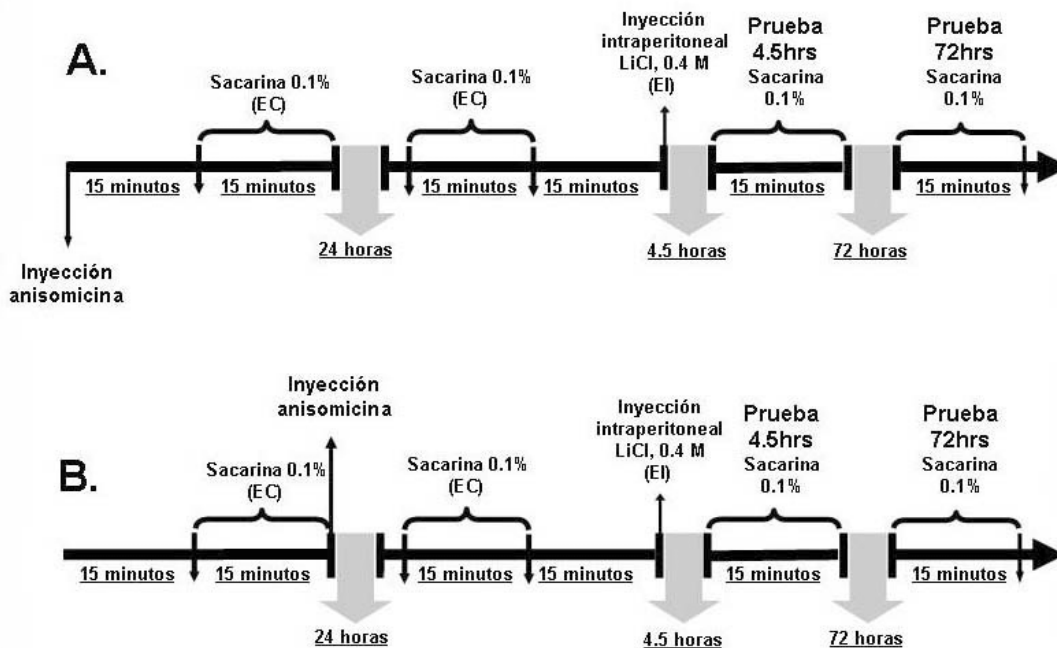
#### **4.4. EXPERIMENTO 3. BLOQUEO DE LA SÍNTESIS DE PROTEÍNAS EN LA INHIBICIÓN LATENTE DEL CONDICIONAMIENTO DE AVERSIÓN AL SABOR**

Los siguientes 4 días posteriores a la privación, los animales tuvieron acceso a 10ml de agua por 15 minutos, cantidad de agua que habitualmente es completamente ingerida; 4.5hrs después tuvieron nuevamente acceso al agua, esta vez a 40ml durante 15 minutos. Este segundo consumo se registró, y su media constituyó la LB.

El día de la preexposición al sabor (día 5) las ratas tuvieron acceso durante 15 minutos a una solución de sacarina (10ml, 0.1%) como EC. Transcurridos 15 minutos después de terminado este consumo se les proporcionó agua por 15 minutos (40ml). El día siguiente (día 6) se realizó un protocolo de CAS presentando durante 15 minutos sacarina (10ml, 0.1%). Transcurridos 15 minutos después de finalizado el consumo de sacarina se les administró intraperitonealmente a los animales el inductor de malestar gástrico (LiCl, 0.4M, 7.5 ml/kg, Baker, Phillipsburg, NJ). En este experimento se evaluó la aversión en el día 6 a las 4.5hrs de administrado el inductor de malestar, presentando a los animales nuevamente sacarina por 15 minutos (40ml, 0.1%), para establecer un consumo comparable a la MCP de la aversión generada con un protocolo normal de CAS. Durante los 3 días siguientes se restableció el consumo diario de agua, limitado a 40ml de agua por 15 minutos. Se realizó una segunda prueba a las 72hrs (3 días) posteriores al condicionamiento, presentando sacarina por 15 minutos (40ml, 0.1%), para establecer un consumo comparable a la MLP de la aversión generada con un protocolo normal de CAS.

El inhibidor de la síntesis de proteínas les fue administrado a 18 animales, 15 minutos antes de la preexposición al EC, siguiendo el protocolo esquematizado en la Figura 4.6, A. Estas ratas se dividieron en dos grupos: uno de 9 animales tratados con anisomicina, y otro de 9 animales tratados con vehículo. Otros 16 animales recibieron la microinyección del fármaco inmediatamente después de la preexposición al EC, siguiendo el procedimiento esquematizado en la Figura 4.6, B. Estos animales fueron divididos en dos grupos: uno de 8 ratas tratadas con anisomicina, y otro de 8 ratas tratadas con vehículo. Adicionalmente, 4 animales intactos se emplearon como controles conductuales.

**FIGURA 4.6. PROTOCOLO CONDUCTUAL DE LA INHIBICIÓN LATENTE DEL CONDICIONAMIENTO DE AVERSIÓN AL SABOR**



**Figura 4.6.** Protocolo experimental empleado para la inhibición latente del condicionamiento de aversión al sabor. (A) Inyección de anisomicina 15 minutos antes de la presentación de sacarina novedosa. (B) Inyección de anisomicina inmediatamente después de la presentación de sacarina novedosa. En (A) y en (B), el primer consumo de sacarina (10ml, 0.1%, 15 minutos de acceso al bebedero) constituyó la preexposición al sabor que fungió como EC. 24hrs después se presentó nuevamente sacarina (10ml, 0.1%, 15 minutos de acceso al bebedero) y, 15 minutos después de finalizado este consumo, se inyectó intraperitonealmente el inductor de malestar gástrico (EI; LiCl, 0.4M, 7.5 ml/kg). En (A) y en (B), 4.5hrs después de la aplicación del EI se realizó una prueba de aversión, en la que los animales tuvieron acceso durante 15 minutos a 40ml de sacarina. 72hrs (3 días) después de la primera prueba de aversión, una segunda prueba fue llevada a cabo, presentando 40ml sacarina por 15 minutos. Al final de ambas pruebas se les proporcionó a los animales acceso a 40ml de agua para evitar deshidratación, independientemente de su consumo de sacarina en la prueba respectiva.



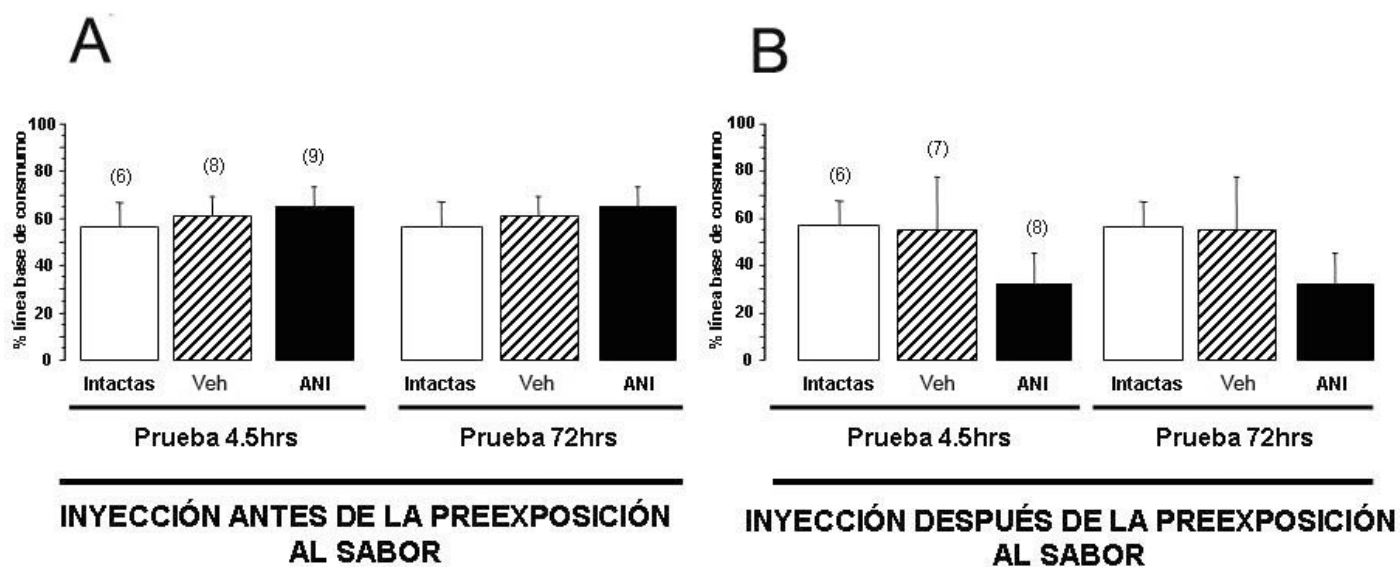
#### 4.4.1. RESULTADOS

Para el análisis estadístico se empleó un *análisis de varianza* (ANOVA) factorial, y un análisis *post-hoc* de Fisher para determinar la existencia de diferencias significativas entre los grupos. 2 animales fueron descartados del análisis por fallas técnicas durante el desarrollo del experimento. Los resultados se presentan en las Figuras 4.7 A y B, graficados en porcentajes de consumo con respecto a la LB (media + error estándar).

En la Figura 4.7, A se observa el efecto de la inyección de anisomicina en el mNAcc 15 minutos antes de la primera presentación (preexposición) del estímulo gustativo, en las pruebas a las 4.5hrs y a las 72hrs. El análisis de la ANOVA factorial reveló que no hay diferencias significativas ( $p>0.05$ ) en la LB de consumo de agua entre el grupo de ratas con inyección de anisomicina ( $n = 9$ ), el grupo control con inyección de vehículo ( $n = 8$ ) y el grupo de animales intactos ( $n = 6$ ) ( $F_{2,18} = 0.715$ ; datos no mostrados). Tampoco se encontraron diferencias significativas ( $p>0.05$ ) en el consumo de sacarina entre los grupos ni en la prueba a las 4.5hrs ( $F_{2,18} = 0.205$ ) ni en la prueba a las 72hrs ( $F_{2,18} = 0.205$ ).

En la Figura 4.7, B se muestra el efecto de la inyección de anisomicina en el mNAcc inmediatamente después de la presentación del estímulo gustativo (preexposición), en las pruebas a las 4.5hrs y a las 72hrs. El análisis estadístico no reveló diferencias significativas ( $p>0.05$ ) en la LB de consumo de agua entre el grupo de ratas con inyección de anisomicina ( $n = 8$ ), el grupo control con inyección de vehículo ( $n = 7$ ) y el grupo de animales intactos ( $n = 6$ ) ( $F_{2,16} = 2.784$ ; datos no mostrados). Tampoco se encontraron diferencias significativas ( $p>0.05$ ) entre los grupos ni en la prueba a las 4.5hrs ( $F_{2,16} = 0.626$ ) ni en la MLP ( $F_{2,29} = 0.626$ ).

**FIGURA 4.7. RESULTADOS OBTENIDOS CON LA INYECCIÓN DE ANISOMICINA EN EL MNACC ANTES O DESPUÉS DE LA PREEXPOSICIÓN AL SABOR EN LA INHIBICIÓN LATENTE DEL CONDICIONAMIENTO DE AVERSIÓN AL SABOR**



**Figura 4.7.** El bloqueo de la síntesis de proteínas en el mNAcc no altera el curso de la IL del CAS. Los datos se muestran en porcentajes con respecto a la línea base (media + error estándar). **(A)** Inyección de anisomicina hecha 15 minutos antes de la preexposición al EC; no se observan diferencias significativas en el consumo de sacarina entre los grupos, ni en la prueba a las 4.5hrs ni en la prueba a las 72hrs. **(B)** Inyección de anisomicina hecha inmediatamente después de la preexposición al EC; a pesar de existir una tendencia del grupo de anisomicina hacia un consumo reducido en las pruebas a las 4.5 y a las 72hrs, este efecto no alcanza la significancia estadística con respecto a los grupos de vehículo e intactos. Veh: vehículo, Ani: anisomicina.

## 5. DISCUSIÓN GENERAL Y CONCLUSIONES

La memoria gustativa es un mecanismo evolutivo importante ya que permite que los organismos discriminen entre toxinas y nutrientes; el aprendizaje derivado del encuentro con sabores nuevos da lugar a la formación de un TMS que, dependiendo de las consecuencias gástricas, será aversivo o seguro. Entre las estructuras que participan en el TMS recientemente se ha demostrado la intervención del mNAcc en la memoria gustativa a través de varios sistemas de neurotransmisión. El objetivo de esta tesis fue determinar si la síntesis de proteínas en el mNAcc es necesaria para la consolidación del TMS en sus modalidades, aversivo y seguro. En los experimentos realizados se encontró que la síntesis de proteínas en el mNAcc sí es necesaria para la consolidación del trazo de memoria tanto de la aversión al sabor como de la seguridad del mismo. Sin embargo, el requerimiento de esta síntesis proteica se da en momentos distintos para cada uno de estos procesos (aversión y seguridad del sabor), lo cual es indicio de un procesamiento diferencial por parte del mNAcc en el mantenimiento de ambos trazos de memoria en el largo plazo.

### 5.1. LA INHIBICIÓN DE LA SÍNTESIS DE PROTEÍNAS AFECTA LA CONSOLIDACIÓN DEL TMS AVERSIVO

En el experimento 1 del presente trabajo se inyectó el inhibidor de síntesis de proteínas anisomicina en el mNAcc en dos tiempos diferentes, antes o después de la presentación del sabor nuevo, en grupos diferentes para cada tiempo, realizándose una prueba a corto plazo (4.5hrs después del consumo de sabor nuevo) y una prueba a largo plazo (72hrs después del consumo del sabor nuevo) en ambos grupos de animales. Se encontró que el bloqueo farmacológico de la síntesis de proteínas reduce el consumo de sacarina en la prueba a largo plazo sólo cuando dicho bloqueo es realizado antes de la primera presentación de la sacarina; sin embargo, este bloqueo de la síntesis de proteínas no tiene efecto en el consumo en la prueba a corto plazo. En contraste, cuando la inhibición de la síntesis de proteínas es realizada inmediatamente después del consumo del sabor nuevo, la inyección del inhibidor de síntesis de proteínas no tiene efecto ni en la prueba a corto plazo ni en la prueba a largo plazo.

Existe una gran cantidad de trabajos en los que la inhibición de la síntesis de proteínas bloquea la MLP, sin tener efecto alguno en la MCP. Por ejemplo, la inhibición de la síntesis de proteínas bloquea la MLP sin alterar la MCP en tareas como el laberinto con forma de Y en

ratones (Flexner et al., 1963; Barondes y Cohen, 1966), prevención pasiva en peces (Agranoff y Klinger, 1964; Agranoff et al., 1965) y en ratas (Quevedo et al., 1999; Vianna et al., 2006), aprendizaje de aversión al sabor en ratas (Rosenblum et al., 1993; Bahar et al., 2003) y en pollos (Rose, 1995), entre muchas otras tareas. En estos estudios se observa que con el bloqueo de la síntesis proteica se elimina la MLP, mientras que la MCP no se afecta, lo cual indica que la consolidación de la memoria es dependiente de la síntesis de proteínas, mientras que la MCP no depende de este proceso (Davis y Squire, 1984; Dudai 2004). Los resultados del experimento 1 de esta tesis apoyan la idea de que la consolidación de la memoria depende de la síntesis proteica, ya que la anisomicina en el mNAcc bloquea la MLP de la aversión al sabor, mientras que la MCP se mantiene intacta. Debido a que en la prueba a corto plazo la memoria no se ve afectada, es posible inferir que la anisomicina no interfiere con el aprendizaje del CAS; esto significa que con la administración del fármaco no se está obstaculizando ni la codificación de ninguno de los dos estímulos que participan en esta memoria (estímulo gustativo y malestar gástrico), ni la asociación entre ambos (es decir, el aprendizaje).

Existen reportes previos en los que se ha demostrado que la síntesis de proteínas es necesaria para la consolidación de la aversión al sabor. Rosenblum y colaboradores (1993) inyectaron dos veces anisomicina en los mismos animales en la CI, 15 minutos antes del sabor e inmediatamente después de la aplicación de LiCl en un protocolo de CAS, encontrando que la consolidación de la aversión se ve afectada con la inyección del inhibidor de síntesis de proteínas (Rosenblum et al., 1993). Asimismo, Bahar y colaboradores (2003) inyectaron anisomicina en la ABL 20 minutos antes del aprendizaje del CAS, encontrando que la droga bloquea la consolidación de la aversión al sabor (Bahar et al., 2003). Los datos encontrados en esta tesis son consistentes con esta evidencia, en el sentido de que la inhibición de la síntesis de proteínas en el mNAcc afecta la consolidación del TMS aversivo, aunque es preciso destacar algunas observaciones. En primer lugar, en el estudio de Rosenblum y colaboradores (1993) se hizo una doble inyección del fármaco antes y después del aprendizaje *en los mismos animales*, por lo que es muy probable que la inhibición de la síntesis de proteínas esté afectando a todo el proceso de formación de la memoria de aversión. En contraste, en esta tesis se inyectó la droga antes o después *del sabor*, en *grupos distintos de animales*, por lo que el tratamiento farmacológico no estuvo dirigido a afectar todo el proceso de formación de la memoria, sino sólo a la codificación del estímulo gustativo. Los resultados de esta tesis son más concordantes con lo encontrado por Bahar y colaboradores (2003), en el sentido de que la inhibición de la síntesis de proteínas realizada antes del aprendizaje bloquea la consolidación de la aversión al sabor. Sin embargo, el grupo de Bahar no administró el inhibidor de síntesis de proteínas después del sabor nuevo, por lo que sigue existiendo la posibilidad de que en su estudio se esté afectando todo el proceso de formación de la memoria. Por lo tanto, el experimento 1 de esta tesis apoya

los hallazgos de los grupos de Rosenblum y Bahar en el sentido de que la síntesis de proteínas es necesaria para la consolidación de la aversión al sabor; sin embargo, las diferencias metodológicas entre los estudios de estos autores y el experimento 1 de esta tesis sugieren que las manipulaciones farmacológicas hechas por los grupos de Rosenblum y Bahar afectan todo el proceso de formación de la memoria, mientras que el empleo de la anisomicina en esta tesis estuvo dirigido sólo a la codificación del estímulo gustativo.

El hecho de que se hayan obtenido efectos disruptivos en la consolidación de la memoria antes, pero no después del sabor, no es enteramente concordante con lo reportado por la mayoría de la literatura. Algunos autores consideran que sólo el bloqueo de la síntesis de proteínas después del aprendizaje puede interferir con la consolidación, debido a que es más probable que la inyección de los fármacos después del aprendizaje no tenga efectos sobre el mismo, sino sólo sobre la consolidación (Davis y Squire, 1984). Sin embargo, existe evidencia de que la inhibición de la síntesis de proteínas antes del aprendizaje también puede bloquear el proceso de consolidación. Por ejemplo, Grecksch y Matthies (1980) inyectaron anisomicina en el hipocampo de ratas 10 minutos antes del aprendizaje de una tarea de discriminación de brillo<sup>1</sup>, encontrando que el fármaco elimina la MLP (Grecksch y Matthies, 1980). De forma análoga, Freeman y colaboradores (1995) inyectan anisomicina 30 minutos antes del aprendizaje de una tarea de prevención pasiva, encontrando que este tratamiento farmacológico interrumpe la formación de la MLP (Freeman, et al., 1995). Estos dos estudios, junto con otros en los que se encuentran efectos disruptivos en la MLP con inyecciones antes del aprendizaje, son resumidos en la Tabla 5.1. Los resultados de esta tesis son consistentes con los hallazgos de los grupos de Grecksch y de Freeman, y con otros estudios de la Tabla 8.1, que indican que el bloqueo de la síntesis de proteínas antes del aprendizaje puede interferir con la consolidación de la memoria.

---

<sup>1</sup> Versión del laberinto en forma de Y en el que uno de los brazos del aparato está iluminado, mientras que el otro permanece oscuro. Cuando el animal entra al laberinto, recibe una descarga eléctrica en las patas; para evitar esta descarga, el animal debe entrar al brazo iluminado. Si entra al brazo oscuro recibe otra descarga eléctrica en las patas. Se considera una respuesta correcta que el animal corra directamente tras recibir la primera descarga en las patas (Grecksch y Matthies, 1980).

**TABLA 5.1. TEMPORALIDAD DE LA SÍNTESIS DE PROTEÍNAS EN LA CONSOLIDACIÓN, EN OTRAS TAREAS Y ESTRUCTURAS**

Tratamiento	Tarea	Estructura	Primer periodo de efectos sobre la consolidación	Primer periodo de efectos sobre la consolidación	Referencia
Doble inyección de anisomicina de la forma siguiente:  <u>Grupo 1:</u> 10min antes y 80min después del entrenamiento  <u>Grupo2:</u> 45min y 2hrs 45min después del entrenamiento  <u>Grupo 3:</u> 4 y 6hrs después del entrenamiento.	Discriminación de brillo en ratas	Hipocampo	Efectos en el grupo 1 (10min antes y 80min después del aprendizaje)	Efectos en el grupo 3 (4 y 6hrs después del aprendizaje)	Grecksch y Matthies, 1980.
Inyección de anisomicina 30min antes y en varios tiempos entre 30min y 6hrs (30, 45, 60, 75min, 2, 3, 4, 4.5, 5, 5.5, y 6hrs) después del entrenamiento	Prevención pasiva en pollos.	Parte intermedia del hiperestriado ventral medial <sup>2</sup>	Efectos con las inyecciones hechas 30min antes y 30, 45, 60 y 75min después del aprendizaje	Efectos con las inyecciones hechas 4, 4.5 y 5hrs después del aprendizaje	Freeman et al., 1995.
Inyección de anisomicina 15min antes y 0, 3 y 6hrs después del entrenamiento	Prevención pasiva en ratas.	Hipocampo	Efectos con la inyección hecha 15min antes del aprendizaje	Efectos con la inyección hecha 3hrs después del aprendizaje	Quevedo et al., 1999
Inyección de anisomicina 1hr y 5min antes y 30min, 1, 2, 3, y 4hrs después del entrenamiento	Categorización visual en pollos <sup>3</sup>	Parte intermedia del hiperestriado ventral medial	Efectos con las inyecciones hechas 5min antes y 30min después del aprendizaje	Efectos con las inyecciones hechas 3 y 4hrs después del aprendizaje	Tiunova et al., 1998
Inyección de los inhibidores de la síntesis de mRNA, 5,6 dicloro-1-β-D-ribofuranosilbenzimidazol (DRB) y α-amanitina 15min e inmediatamente antes y 1, 2, 3, 4.5, 6, 7.5 y 9hrs después del entrenamiento	Prevención pasiva en ratas	Hipocampo	Efectos con las inyecciones hechas 15min antes e inmediatamente después del aprendizaje	Efectos con las inyecciones hechas 2, 3, 4.5, y 6hrs después del aprendizaje	Igaz et al., 2002

**Tabla 5.1.** Trabajos en los que se observa que la inhibición de la síntesis de proteínas antes del aprendizaje es capaz de interferir con la consolidación de la memoria. Además, se observa también que existen dos periodos críticos de síntesis de proteínas para la consolidación de algunas memorias. En estos estudios se inyectan inhibidores de la síntesis de proteínas en varios tiempos antes, durante y después del aprendizaje, en grupos separados para cada tiempo, y se mide la ejecución en la tarea a las 24hrs (prueba a largo plazo). Las ventanas de tiempo de síntesis de proteínas se determinan observando cuáles de las inyecciones hechas en cada tiempo afectan la ejecución en la prueba a largo plazo, y cuáles no tienen efecto alguno sobre la MLP.

<sup>2</sup> La parte intermedia del hiperestriado ventral medial (*intermediate medial hyperstriatum ventrale*) es un área del cerebro de los pollos considerada como el análogo al cuerpo estriado mamífero, y que se ha relacionado en forma importante con la impronta, además de ser una región del cerebro de estos animales que ha demostrado ser importante para el aprendizaje de varias tareas, y en la que se han detectado eventos moleculares importantes relacionados con la plasticidad sináptica, tales como actividad glutamatérgica aumentada como consecuencia del aprendizaje, activación de receptores NMDA, entrada masiva de Ca<sup>2+</sup> en la postsinapsis, activación de cinasas, etc. (Rose, 2000).

<sup>3</sup> Tarea en la que el animal debe aprender a discriminar entre comida tirada en el piso y cuentas de diferentes colores y tamaños fijas al mismo. Se considera el número de picotazos por sesión dirigidos a la comida como aciertos, y el número de picotazos dirigidos a las cuentas como errores (Tiunova et al., 1998).

Sin embargo, también aquí es necesario hacer una observación. En los estudios de la Tabla 5.1 la administración de los fármacos fue hecha antes del aprendizaje. El CAS presenta varias ventajas metodológicas sobre otros modelos de memoria, entre ellas que se puede separar por varias horas la presentación del sabor y el malestar, de forma que se tiene un control temporal total sobre el momento en el que aparecen dichos estímulos, y que se puede medir la MCP sin interferir con la evaluación de la MLP (Welzl et al., 2001). En contraste, los estudios resumidos en la Tabla 5.1 usan aprendizajes asociativos en los cuales no se tiene un control sobre la presencia de los estímulos como en el CAS; esto implica que los inhibidores de la síntesis de proteínas pueden estar afectando todo el proceso de formación de la memoria. En este aspecto, el CAS permite saber con mayor precisión con cual se los elementos involucrados en la formación de la memoria se está interfiriendo con la inyección del fármaco. En el caso de los resultados reportados en esta tesis, el CAS permite saber que la administración de anisomicina bloquea sólo las proteínas críticas para la estabilización del sabor aversivo, y que con la droga no se interfiere con el aprendizaje de la tarea.

Por lo tanto, los resultados del experimento 1 de esta tesis apoyan la idea de que la síntesis de proteínas es necesaria para la consolidación de la memoria. En la literatura existe evidencia que indica que la inhibición de síntesis de proteínas antes del aprendizaje también puede afectar la consolidación; los resultados de esta tesis apoyan estos hallazgos. Más aún, los datos de esta tesis son consistentes con otros reportes previos que indican que la consolidación de la aversión al sabor también necesita síntesis proteica en estructuras como la CI y la ABL. Sin embargo, en esta tesis sólo se afecta la síntesis de proteínas en el mNAcc requerida para la consolidación del TMS que será asociado con malestar, sin interferir con el proceso de formación del aprendizaje como tal. La síntesis de proteínas necesaria para la consolidación del TMS aversivo en el mNAcc se genera en un lapso de tiempo no mayor a 15 minutos, puesto que la administración de anisomicina después del consumo del sabor nuevo no tiene efectos ni en MCP ni en MLP.

## **5.2. LA INHIBICIÓN DE LA SÍNTESIS DE PROTEÍNAS AFECTA LA CONSOLIDACIÓN DEL TMS SEGURO**

En el experimento 2 de esta tesis se inyectó el inhibidor de síntesis de proteínas anisomicina en el mNAcc en dos tiempos distintos, antes o después del estímulo gustativo, en grupos diferentes para cada tiempo, y se evaluó el efecto de estas inyecciones en la AN; es decir, en la memoria de la seguridad del sabor. La inyección del fármaco 15 minutos antes del estímulo gustativo nuevo no tuvo efecto en la AN, medida en los 3 días siguientes a la

presentación de este sabor. Por el contrario, la inyección del inhibidor de síntesis de proteínas inmediatamente después del consumo de la sacarina novedosa sí tiene efectos en la AN, concretamente en los 2 días siguientes a la primera presentación de sacarina.

Existe una gran cantidad de evidencia que indica que la inhibición de la síntesis de proteínas después del aprendizaje bloquea la consolidación de la memoria (Davis y Squire, 1984; Dudai, 2004). Por ejemplo, la inhibición de la síntesis de proteínas, en tiempos que van de los 0 a los 80 minutos después del aprendizaje, bloquea la consolidación en tareas como la prevención pasiva en pollos (Freeman et al., 1995), en peces (Agranoff y Klinger, 1964; Agranoff et al., 1965) y en ratas (Quevedo et al., 1999), la categorización visual en pollos (Tiunova et al., 1998), la memoria de reconocimiento de objetos en ratas (Rossato et al., 2007), y el laberinto en forma de Y de ratones (Flexner et al., 1963), entre muchos otros. Más aún, se ha visto que la administración de anisomicina en el NAcc después del aprendizaje bloquea la consolidación de la memoria en una tarea instrumental (Hernandez et al., 2002) y en la memoria maternal (ver nota 14; Li y Fleming, 2003). Los resultados del experimento 2 de esta tesis son consistentes con estos hallazgos, en el sentido de que la inhibición de la síntesis de proteínas después del aprendizaje bloquea la consolidación de la memoria. Además, los datos de esta tesis apoyan lo encontrado por los grupos de Hernandez y Li, en el sentido de que la inhibición de la síntesis de proteínas en el NAcc después del aprendizaje es necesaria para la consolidación de la memoria.

Se ha descrito anteriormente que la síntesis de proteínas es necesaria para la consolidación de la seguridad de un sabor. En este sentido, Rodríguez-Ortiz y colaboradores (2005) inyectaron anisomicina en la CI inmediatamente después de presentar sacarina novedosa, encontrando que en la prueba a las 24hrs se ve afectado el reconocimiento del sabor como seguro; es decir, la inhibición de la síntesis de proteínas está afectando la consolidación de la memoria (Rodríguez-Ortiz et al., 2005). En este sentido, los resultados encontrados en esta tesis son consistentes con estos hallazgos, en el sentido de que la síntesis de proteínas es necesaria para la consolidación del TMS seguro.

Es importante destacar que en el experimento 2 de esta tesis sólo la inyección de anisomicina en el mNAcc inmediatamente después, mas no antes del estímulo gustativo, bloquea la consolidación de la memoria. Al respecto, existen estudios en los cuales se han hecho inyecciones de un inhibidor de la síntesis de proteínas antes o después del aprendizaje, encontrándose efectos en la consolidación sólo con la inyección después, pero no con la inyección antes. Por ejemplo, Robinson y Franklin (2007) inyectaron anisomicina en la CeA inmediatamente antes o inmediatamente después de un condicionamiento de preferencia a un



lugar<sup>4</sup> con morfina, encontrando que sólo la inyección de anisomicina inmediatamente después del condicionamiento altera la consolidación de la memoria (Robinson y Franklin, 2007). En forma similar, Inda y colaboradores (2005) inyectaron subcutáneamente anisomicina 30 minutos antes o 30 minutos después de las sesiones de entrenamiento en un condicionamiento del reflejo palpebral<sup>5</sup> en ratones, encontrando que sólo la inyección después, pero no antes, de cada una de las 8 sesiones de entrenamiento, interfiere con la consolidación de la memoria (medida 10 días después) (Inda et al., 2005). Los resultados del experimento 2 de esta tesis son consistentes con los trabajos de Robinson y Franklin y el grupo de Inda, en el sentido de que la inhibición de la síntesis de proteínas después, pero no antes del entrenamiento puede bloquear la consolidación de la memoria. Es importante mencionar que en los estudios de Robinson y Franklin y el grupo de Inda no se evaluó la MCP, por lo que no es posible descartar una posible interferencia con esta memoria, más que con la consolidación. Similarmente, en el experimento 2 de esta tesis no se investigó la MCP por razones metodológicas. La AN, a diferencia del CAS, es un modelo para el cual no se ha descrito hasta el momento un protocolo adecuado para medir MCP sin causar interferencia con la MLP; es decir, la sola presentación de sacarina después del primer consumo de este sabor contribuye a la AN sin importar si este segundo consumo es realizado pocas horas o 24hrs después de la respuesta neofóbica. Es por ello que la posibilidad de que se esté interfiriendo con la MCP del aprendizaje de lo seguro no puede ser desechada.

También es importante apuntar que la posibilidad de que la anisomicina esté generando aversión no puede ser descartada. Es decir, en un protocolo de AN, el segundo consumo de sacarina es mayor con respecto al primero; este aumento en el consumo se interpreta como atenuación de la novedad del estímulo gustativo, o mejor dicho, como un aprendizaje del animal de que es seguro consumir ese sabor, puesto que el mismo no tuvo consecuencias adversas la primera vez que lo ingirió. Si se inyecta un fármaco, y dicho fármaco ocasiona que este segundo consumo sea igual o menor a la respuesta neofóbica, puede estar sucediendo que el fármaco, en vez de interferir con la codificación del sabor como seguro, esté ocasionando que se forme una aversión al mismo; en otras palabras, se podría estar ocasionando un CAS, al estar fungiendo el fármaco en cuestión como EI, lo cual produciría que el segundo consumo del sabor sea más bajo que el primero. En el experimento 2 de esta tesis se encuentra que la

---

<sup>4</sup> Tarea muy empleada en el estudio de la adicción, consistente en una caja con tres compartimentos, uno central y dos laterales. Cada compartimiento lateral tiene piso y paredes de colores y texturas diferentes a los del otro compartimiento. Se le inyecta una droga al animal (p.Ej., cocaína, morfina), e inmediatamente después se le inserta en uno de los compartimentos laterales por algunos minutos. El compartimiento lateral contrario es asociado con salina. La prueba consiste en colocar al animal en el compartimiento central, y medir el tiempo que pasa en uno u otro compartimiento lateral. Generalmente el animal pasará más tiempo en aquel compartimiento que fue asociado con la droga (Robinson y Franklin, 2007).

<sup>5</sup> En este estudio se condicionó el reflejo palpebral de los ratones empleando como EC un pulso eléctrico cuadrado de 50µs, y como EI un pulso de 500µs. Se registró el electromiograma del músculo *orbicularis oculi*, mismo que inerva al párpado. En las pruebas se midió tanto la actividad del músculo *orbicularis oculi* como la latencia en obtener la respuesta condicionada tras presentar el EC (Inda et al., 2005).

administración de anisomicina en el mNAcc produce un decremento en el segundo y tercer consumo de sacarina a niveles análogos a los de la primera presentación del sabor, por lo que en este caso tampoco se puede descartar por completo que la anisomicina esté funcionando como EI. Al respecto, Rosenblum y colaboradores (1993) hicieron un protocolo de CAS, pero administrando anisomicina en la CI (en la misma concentración que la usada en esta tesis) en vez de LiCl, encontrando que los animales no generan aversión a la sacarina empleada como estímulo gustativo, en la prueba a largo plazo (Rosenblum et al., 1993). Por lo tanto, si bien no es posible descartar por completo la posibilidad de que en esta tesis la anisomicina esté ocasionando aversión, la literatura sugiere que bien podría no ser el caso.

### **5.3. MECANISMOS MOLECULARES POSIBLEMENTE INVOLUCRADOS EN LA CONSOLIDACIÓN DEL TMS EN EL mNAcc**

Existe abundante evidencia de que la memoria es mantenida en el sistema nervioso a través de cambios en la estructura de los contactos sinápticos de las neuronas (ver sección 1.3.2). Esta plasticidad debe ser iniciada en respuesta a la actividad, dependiente del aprendizaje, de la postsinapsis. Esto implica que la señal inicial postsináptica, dada por los neurotransmisores en el espacio sináptico, debe ser comunicada por otras moléculas intracelulares a los mecanismos responsables de los cambios directamente relacionados con la reestructuración de la sinapsis, entre ellos la síntesis de proteínas (Squire y Kandel, 1999; Abel y Lattal, 2001).

#### *Glutamato*

Se ha demostrado que uno de los eventos moleculares importantes que llevan a la plasticidad sináptica dependiente del aprendizaje es la activación de los receptores tipo NMDA (Ramírez-Amaya, 2007). Por ejemplo, la actividad de los receptores NMDA es esencial para la formación de PLP en el hipocampo (Ramírez-Amaya, 2007) y en otras estructuras (Wang et al., 2006), y el bloqueo de estos receptores impide que se lleven a cabo los cambios sinápticos estructurales promovidos por la PLP en el hipocampo (Ramírez-Amaya, 2007).

En la memoria gustativa, se ha observado en la CI que el bloqueo de este tipo de receptores con AP-5 antes del aprendizaje de la aversión al sabor afecta negativamente la MLP, pero deja intacta la MCP (Ferreira, et al., 2002). Sin embargo, en el TMS seguro, el bloqueo de los receptores tipo NMDA en la corteza gustativa antes de la sacarina novedosa no afecta ni la neofobia ni su atenuación (Gutiérrez et al., 2003b). En el mNAcc, el bloqueo de los receptores NMDA sólo antes del aprendizaje del CAS tiene efectos disruptivo sobre la MLP, dejando intacta

la MCP (Ramírez-Lugo, et al., 2006). Sin embargo, en esta misma estructura, los receptores NMDA parecen no estar teniendo tampoco un papel relevante en la formación de la memoria del sabor seguro, puesto que el bloqueo de estos receptores ni antes ni después de la presentación de la sacarina novedosa tiene efecto en la AN (Ramírez-Lugo et al., 2006). Los datos obtenidos en esta tesis parecen tener cierta consistencia con los resultados de Ramírez-Lugo y colaboradores en el TMS aversivo, puesto que el bloqueo antes del aprendizaje en el mNAcc tanto de la síntesis de proteínas como de los receptores NMDA afecta la formación del aprendizaje de aversión. Sin embargo, el bloqueo los receptores NMDA no afecta el TMS seguro; por el contrario, la inhibición de la síntesis de proteínas sí tiene efectos disruptivos en la formación de la memoria de lo seguro. Por lo tanto, probablemente la actividad de los receptores NMDA está relacionada con la plasticidad sináptica en el mNAcc necesaria para la consolidación de la memoria de aversión; probablemente la actividad de estos receptores no es crítica en la consolidación del TMS seguro.

### *Acetilcolina*

El sistema colinérgico también está relacionado con la plasticidad sináptica y la memoria (Power et al., 2003). Por ejemplo, se sabe que la organización de la corteza visual es dependiente de la estimulación visual, y que esta reorganización cortical es dependiente, a su vez, de la actividad de los receptores muscarínicos (Gu, 2003). También está ampliamente demostrado que, en la enfermedad de Alzheimer, que se caracteriza por severas pérdidas de funciones cognitivas como la memoria, existe una neurodegeneración importante del núcleo basal de Meynert (el análogo de este núcleo en la rata es el NBM), principal fuente de la acetilcolina cortical (Miranda et al., 2003). Asimismo, el bloqueo de los receptores muscarínicos con escopolamina en la ABL bloquea la consolidación de la memoria en la prevención pasiva (Power et al., 2003).

En la memoria gustativa, el bloqueo de los receptores muscarínicos en la corteza gustativa antes, pero no después, del aprendizaje del CAS bloquea la consolidación de la memoria de aversión (Gutiérrez et al., 2003a). Por el contrario, el bloqueo de los receptores muscarínicos con escopolamina en la CI antes o después de la presentación de sacarina novedosa afecta la consolidación de la seguridad del sabor (Ferreira, et al., 2002; Gutiérrez et al., 2003a). Más aún, estudios de microdiálisis revelan que la liberación de acetilcolina en la corteza gustativa en respuesta a la presentación de sacarina es mayor cuando el sabor es nuevo en comparación con la acetilcolina liberada cuando el sabor ya es familiar; esta liberación en relación con la sacarina novedosa decae tras sucesivas presentaciones del sabor hasta alcanzar los niveles que genera un sabor familiar (Miranda, et al., 2000). En el mNAcc, el bloqueo de los

receptores muscarínicos con escopolamina antes del aprendizaje del CAS interfiere con la MCP y la MLP de la aversión al sabor (Ramírez-Lugo et al., 2006), y el bloqueo de estos receptores antes (Ramírez-Lugo et al., 2006) o después (Ramírez-Lugo, datos no publicados) de la presentación de la sacarina novedosa también interfiere con la consolidación de la seguridad del sabor. En esta tesis se encontró que la inhibición de la síntesis de proteínas en el mNAcc antes del aprendizaje del CAS bloquea la MLP del TMS aversivo; este resultado es análogo a lo encontrado por Ramírez-Lugo, en el sentido de que el tratamiento farmacológico después del sabor nuevo afecta la consolidación del TMS seguro. Sin embargo, Ramírez-Lugo y colaboradores también encontraron efectos con la escopolamina antes del sabor nuevo, lo cual podría indicar que la acetilcolina en el mNAcc sirve una función similar a aquella que desempeña en la CI: participar de forma importante en la señalización de la seguridad de un sabor. Podría suceder que, entre los eventos moleculares desencadenados por esta señalización colinérgica en el mNAcc, se cuente la síntesis de proteínas, en un periodo de tiempo no determinado aún.

### ERK

Las proteínas cinasas reguladas extracelularmente (*extracellular-signal regulated protein kinases*, ERK) son dos MAPK's<sup>6</sup> muy semejantes, conocidas genéricamente sólo como ERK, que comparten el 85% de su secuencia de aminoácidos, y a las cuales se les conoce como ERK-1 (o p44, por su peso molecular de 44 kDa) y ERK-2 (p42); ambas están estrechamente relacionadas con la regulación de la meiosis y mitosis y otras funciones post-mitóticas en células diferenciadas (Boulton y Cobb, 1991). La actividad de estas cinasas está muy relacionada con la plasticidad sináptica y la memoria (Adams y Sweatt, 2002). Por ejemplo, se ha visto que la inhibición de ERK en el área CA1 del hipocampo interfiere con el establecimiento de la PLP tardía, y que la actividad de ERK es requerida para la PLP tardía en estructuras como la amígdala y la CI (Adams y Sweatt, 2002). También se sabe que la activación de ERK-2 se incrementa en el hipocampo de ratas como consecuencia del entrenamiento en condicionamientos de miedo a un tono y a un contexto (Atkins et al., 1998). Más aún, se sabe que la actividad de ERK es necesaria para la formación de memorias como la memoria espacial, de reconocimiento de objetos, prevención pasiva, y de aversión al sabor (Giovannini, 2006). Estos datos apoyan el papel de ERK en la plasticidad y la memoria.

Se ha visto que la actividad de ERK está influida por los receptores muscarínicos y NMDA. Por ejemplo, la aplicación en neuronas en cultivo de un antagonista de los receptores

---

<sup>6</sup> Proteínas cinasas activadas por mitógenos (*mitogen-activated protein kinases*, MAPK), ; cinasas ampliamente expresadas en el cerebro de mamíferos, y relacionadas con mitosis y meiosis, entre muchas otras funciones (Boulton y Cobb, 1991).

NMDA disminuyó el nivel de actividad basal de ERK-2 (Chandler et al., 2001), y la estimulación de los receptores NMDA en el área CA1 del hipocampo aumenta la expresión de ERK-2 (Adams y Sweatt, 2002). Asimismo, la administración subcutánea del antagonista de los receptores NMDA fenciclidina produjo un aumento significativo en la actividad de ERK-1 y 2 en el cerebelo de ratas (Kyosseva et al., 2001). Estos datos apuntan a que la actividad de los receptores NMDA podría estar regulando la actividad de ERK.

También hay evidencia que sugiere que la actividad de los receptores muscarínicos podría estar regulando la activación de ERK-1 y 2. Por ejemplo, se sabe que la actividad de los receptores muscarínicos, a través de proteínas-G<sub>q</sub>, modula la activación de ERK en cortes de hipocampo de ratones (Berkeley y Levey, 2003). También está reportado que la activación de ERK en la corteza prefrontal e hipocampo de ratas es un evento desencadenado por la activación de los receptores muscarínicos después del aprendizaje de una tarea de prevención pasiva (Giovannini, 2006). Estos datos sugieren que la activación de ERK es modulada por los receptores muscarínicos, y que esta vía podría estar involucrada en el aprendizaje y la memoria.

En la memoria gustativa, Berman y colaboradores (1998) le presentaron a ratas un sabor nuevo que no fue seguido de malestar gástrico, y, analizaron los niveles de las formas activadas de ERK-1 y 2 en la corteza gustativa. Estos autores encontraron que la activación de ERK-1 y 2 aumenta significativamente durante los primeros 30 minutos posteriores al consumo del sabor nuevo. Este grupo también aplicó un inhibidor de ERK en la CI antes del aprendizaje del CAS, encontrando que este fármaco produjo una interferencia en la MLP, pero dejando intacta la MCP (Berman et al., 1998). Este estudio sugiere que la actividad de ERK es necesaria para la consolidación de la memoria gustativa en la CI.

Existen reportes de que la actividad de ERK es importante en la plasticidad y la memoria en el NAcc. Por ejemplo, se ha visto que aumenta la forma activada de ERK en el LNAcc como consecuencia del aprendizaje de un condicionamiento de preferencia a un lugar con cocaína, y que la administración de un inhibidor de ERK en esta estructura interfiere con la consolidación de la memoria (Miller y Marshall, 2005). Análogamente, Alvarez-Jaimes y colaboradores (2005) entrenaron ratas en un tarea de aprendizaje espacial de búsqueda de comida<sup>7</sup>, encontrando que aumentan las formas fosforiladas de ERK-1 y 2 hasta 5 minutos después del entrenamiento (Alvarez-Jaimes et al., 2005). Estos datos sugieren que en el NAcc la actividad de ERK es importante en la formación de la memoria; sin embargo, dado que no se ha explorado el papel de

---

<sup>7</sup> En esta tarea se introduce al animal en una cámara con 16 agujeros en el piso de la misma, 4 de los cuales están rellenos con comida. El animal debe aprender en los ensayos cuáles agujeros tienen comida y cuáles están vacíos (Alvarez-Jaimes et al., 2005).

ERK en esta estructura en la memoria gustativa, futuros experimentos podrían confirmar o rechazar este hipotético papel de ERK en el NAcc.

ERK es una cinasa que activa a otras proteínas directamente relacionadas con la expresión génica. Entre estas moléculas activadas por ERK están factores de transcripción como CREB y c-Fos (Adams y Sweatt, 2002). CREB (*cAMP-response element binding protein*) es un factor de transcripción muy involucrado con plasticidad y memoria, desde invertebrados hasta mamíferos (Adams y Sweatt, 2002), y que también juega un papel importante en la memoria de aversión al sabor en la CI (Desmedt et al., 2003). También está reportado que la actividad de CREB es importante en el NAcc para la consolidación de un condicionamiento de preferencia a un lugar con cocaína (Kuo et al., 2007). Esta evidencia apoyaría un hipotético papel en el mNAcc de CREB como uno de los elementos que conducen la señal de ERK u otras cinasas hasta la maquinaria celular necesaria para la síntesis de proteínas subyacente a la consolidación del TMS. Sin embargo, futuros experimentos podrían confirmar o rechazar este papel de CREB. Adicionalmente, se sabe que CREB promueve la transcripción de varios genes, incluyendo genes de expresión temprana, como c-Fos y zif268, mismos que han sido involucrados en plasticidad y memoria, en el NAcc y en otras estructuras (Adams y Sweatt, 2002).

#### *Síntesis local de proteínas y genes de expresión temprana*

En el experimento 1 de esta tesis, la aplicación del inhibidor inmediatamente después de que ha sido presentado el estímulo condicionado no tiene efectos disruptivos en la MLP, pero sí 15 minutos antes; por lo tanto, las proteínas necesarias para la consolidación del TMS que será asociado con el malestar gástrico se están sintetizando en un período de tiempo muy corto, de alrededor de 15 minutos. Por su transitoriedad, esta síntesis de proteínas relacionada con el aprendizaje de aversión hace pensar en una síntesis local de proteínas en dendritas. Al respecto, existe evidencia que indica que las neuronas llevan a cabo traducción local en sus ramificaciones dendríticas. Por ejemplo, se ha detectado la presencia de polirribosomas, de mRNA y de factores de traducción<sup>8</sup> en dendritas; se ha verificado la incorporación de aminoácidos marcados radiactivamente en proteínas tomadas de fracciones bioquímicas enriquecidas con sinapsis; se ha observado la localización de membranas análogas al retículo endoplásmico rugoso en dendritas, etc. (Sutton y Schuman, 2006). Existe evidencia de que esta traducción neuronal local es importante en la plasticidad sináptica, interactuando con otros mecanismos responsables de la remodelación de la sinapsis; por ejemplo, se ha visto que la activación de los receptores metabotrópicos de glutamato promueve la traducción local en dendritas, origina una forma de

---

<sup>8</sup> Enzimas que regulan la síntesis de proteínas a nivel de traducción (Jiménez y Merchant, 2003).

DLP que requiere traducción dendrítica, y produce un alargamiento, dependiente de síntesis de proteínas, de las espinas dendríticas (Sutton y Schuman, 2006); la aplicación de inhibidores de la síntesis de proteínas bloquea la formación de DLP en el área CA1 del hipocampo, aún cuando se han removido los somas neuronales de las células piramidales pre- y postsinápticas; el transporte del mRNA de CaMKII a las dendritas es necesario para la formación de la PLP tardía; la generación de PLP provoca migración de mRNA de dendritas a espinas dendríticas, etc. (Klann y Dever, 2004; Sutton y Schuman, 2006). Por lo tanto, la evidencia demuestra que las dendritas son capaces de elaborar proteínas prescindiendo de la maquinaria celular presente en el soma (Sutton y Schuman, 2006; Blitzer et al., 2005; Klann y Dever, 2004).

Existe evidencia que sugiere que la síntesis de proteínas local juega un papel importante en la consolidación de la memoria. Por ejemplo, Miller y colaboradores (2002) mutaron en ratones el gen que codifica la proteína de CaMKII $\alpha$ <sup>9</sup>, de forma que esta mutación restringiera la localización del mRNA de CaMKII $\alpha$  al soma, y no a las dendritas, sin impedir la síntesis en el soma de la proteína (Millar et al., 2002). Estos autores encontraron que la mutación redujo drásticamente la presencia de la proteína en la postsinapsis, bloquea la fase tardía de la PLP hipocampal, e interfiere con la consolidación de la memoria en el laberinto de agua de Morris<sup>10</sup>, el condicionamiento de miedo a un tono o a un contexto, y la memoria de reconocimiento de objetos (Miller et al., 2002). Este estudio sugiere que la traducción en dendritas juega un papel importante en la consolidación de la memoria.

En relación con la memoria gustativa, se ha visto en la corteza gustativa que la consolidación de la aversión a un sabor incrementa la activación en la sinapsis de un factor de traducción, el *factor eucarótico de elongación 2* (eEF-2), así como también se incrementa la expresión de CaMKII en la sinapsis; estos datos sugieren que la consolidación de la memoria gustativa involucra una síntesis local de proteínas (Belelovsky, et al., 2005). Por lo tanto, uno de los eventos moleculares que podrían estar mediando la plasticidad en el mNAcc para la consolidación del TMS es la síntesis de proteínas en dendritas.

---

<sup>9</sup> Proteína cinasa con gran presencia en el cerebro. Su actividad depende de que interactúe con complejos de Ca<sup>2+</sup>/calmodulina (la calmodulina es una proteína pequeña que tiene cuatro sitios de unión a Ca<sup>2+</sup>, y es la principal sensora de Ca<sup>2+</sup> en la neurona). Una vez activa, CaMKII tiene la propiedad de autofosforilar sus subunidades, siendo innecesaria su constante estimulación para permanecer activa. Esta característica la hace una cinasa muy relacionada con la plasticidad sináptica, puesto que permite el mantenimiento de la señal generada en la sinapsis aun cuando esta señal ya no está presente (Yamauchi, 2005).

<sup>10</sup> Tarea en la que el animal es insertado en un contenedor con agua, el cual posee una plataforma de escape, misma que se ubica bajo el nivel del agua. El animal debe nadar hasta topar con la plataforma, y escapar así del agua. En las pruebas, el animal se sirve de claves espaciales ubicadas fuera del contenedor para poder orientarse, y ubicar la plataforma con rapidez (Squire y Kandel, 1999).

Entre las proteínas que podrían ser necesarias para la consolidación del TMS aversivo en el mNAcc se encuentran los transcritos de algunos genes de expresión temprana. Los genes de expresión temprana son una clase de genes que se activan rápida y transitoriamente en respuesta a la activación neuronal (Davis et al., 2003). Debido a que los genes de expresión temprana son activados por cascadas de señalización en las que están involucradas proteínas cinasas y, a su vez, las proteínas a que dan origen estos genes interactúan ya sea con otros genes (genes de expresión temprana *reguladores*) o con proteínas en las sinapsis (genes de expresión temprana *efectores*) para inducir modificaciones persistentes en la célula, se cree que la activación de los genes de expresión temprana puede constituir uno de los mecanismos “iniciadores” que subyacen al mantenimiento de la plasticidad sináptica y al almacenamiento de la MLP (Davis et al., 2003).

Dos de los genes de expresión temprana que más se han estudiado en la plasticidad sináptica son c-Fos y zif268<sup>11</sup> (Davis, 2003); ambos parecen ser necesarios para la consolidación de la memoria, puesto que la inactivación de cualquiera de ellos tiene efectos disruptivos en la MLP (Davis et al., 2003). En la memoria gustativa, la reexposición al EC después del aprendizaje del CAS da lugar a un aumento de la expresión de c-Fos y zif268, en estructuras relacionadas con la codificación de esta memoria, como la ABL, el NPB y el NAcc (Yamamoto, 2007). Interesantemente, se ha reportado que la administración de anfetaminas y cocaína produce activación en el NAcc de c-Fos (Graybiel, 1993; Samaha et al., 2004; Hope et al., 1992) y zif268 (Graybiel, 1993; Hope et al., 1992); asimismo, ambas drogas generan PLP en las neuronas espinosas medianas en el NAcc (Hyman et al., 2006). Esto indica que el NAcc tiene la capacidad para modificar sus sinapsis en respuesta a cierta estimulación, por lo que estos mecanismos de plasticidad podrían también servir a la consolidación de la memoria. En este sentido, se ha demostrado que con la reexposición al sabor después del aprendizaje del CAS aumenta la expresión de zif268 en el NAcc (Yamamoto, 2007) y de c-Fos en el mNAcc (Ferreira et al., 2006). Esta evidencia sugiere que los genes de expresión temprana están participando en la formación de la memoria y su estabilización en el largo plazo, y específicamente que dos de estos genes, c-Fos y zif268, podrían estar participando en el mNAcc en la consolidación del TMS.

Por lo tanto, la síntesis de proteínas es un evento que lleva a la plasticidad sináptica, pero que involucra la actividad previa de otras moléculas, mismas que son quienes transducen la actividad postsináptica en un cambio en la expresión génica. La evidencia indica que los receptores NMDA de glutamato y muscarínicos de acetilcolina están implicados en la plasticidad

---

<sup>11</sup> También llamado Egr-1, es un gen que codifica un factor de transcripción del mismo nombre, abundantemente expresado en la corteza y en estructuras subcorticales como el hipocampo, el estriado y el NAcc. Su actividad está implicada en la memoria y su consolidación, en particular a través de la interacción de este gen con Egr-2 y 3 (Davis et al., 2003)



sináptica en varias estructuras y en la formación de varias memorias, incluyendo la memoria gustativa en la CI. Se ha descrito que la actividad de ambos receptores también es importante tanto para el TMS aversivo como para el TMS seguro en el mNAcc, por lo que es posible que la estimulación de estos receptores sea uno de los primeros pasos que lleven a la plasticidad necesaria para la consolidación de estas memorias. Más aún, cabe la posibilidad de que en el mNAcc, análogamente a lo observado en la corteza gustativa, la actividad colinérgica sea de especial relevancia para ambos trazos de memoria, mientras que la actividad glutamatérgica esté más implicada en la consolidación del TMS aversivo. Por otro lado, la estimulación de estos receptores incide en la activación de otras proteínas cinasas encargadas de movilizar la maquinaria molecular necesaria para la síntesis de proteínas. ERK es una cinasa que resulta ser una buena candidata, entre muchas otras opciones, para cumplir esta función, puesto que su papel en la plasticidad y en la formación de varias memorias está bien establecido. La evidencia indica que ERK es activada tanto por los receptores NMDA como por los receptores muscarínicos. Asimismo, hay evidencia de que su actividad en la CI es importante para la consolidación de la memoria gustativa. La evidencia también indica que la actividad de ERK está implicada en el NAcc en la plasticidad sináptica y en la memoria de varios aprendizajes, lo cual sugiere que esta cinasa podría estar participando también de forma importante en la plasticidad necesaria en el mNAcc, a través de la actividad glutamatérgica y/o colinérgica, para la consolidación de ambos trazos de memoria gustativa. Entre las moléculas que son activadas por ERK, a través de factores de transcripción como CREB, se encuentran algunos genes de expresión temprana, como c-Fos y zif268. Estos dos genes están relacionados con la plasticidad en varias estructuras y con varias memorias, incluyendo la memoria gustativa en estructuras como la ABL y el NPB. También se ha verificado la participación de c-Fos y de zif268 en la memoria gustativa en el mNAcc, por lo que ambos genes podrían ser uno de los últimos pasos que llevan a la síntesis de proteínas subyacente a la consolidación del TMS. Ahora bien, esta síntesis de proteínas puede ser nuclear o dendrítica, de acuerdo con lo reportado en la literatura. Recientemente se ha descrito que esta síntesis local de proteínas es importante en la consolidación de algunas memorias, incluyendo la memoria gustativa en la CI. Debido a esta importancia de la síntesis de proteínas local en la consolidación, es posible que en el mNAcc se esté llevando a cabo una síntesis local de proteínas necesaria para la consolidación de ambos trazos de memoria del sabor.

### **5.3. POSIBLES EFECTOS INESPECÍFICOS DEL FÁRMACO**

Se empleó anisomicina de entre varios inhibidores disponibles de síntesis de proteínas pues esta droga ofrece varias ventajas sobre otros fármacos. Por ejemplo, la puromicina y la cicloheximida generan alteración de la actividad eléctrica de las neuronas, alteraciones en la actividad enzimática y en procesos metabólicos en el cerebro (distintos a la síntesis de

proteínas), alteraciones locomotoras, y alta mortalidad, efectos que no se observan tras la administración de anisomicina (Bull et al., 1976; Davis y Squire, 1984). Además, se sabe que la inhibición de la síntesis de proteínas de la anisomicina es superior al 90%, requisito necesario para observar efectos amnésicos (Davis y Squire, 1984; Rosenblum et al., 1993; Bull et al., 1976; Grollman, 1967; Iordanov et al., 1997).

Hay evidencia que indica que la anisomicina es un activador de dos MAPK: p38 y JNK (Routtenberg y Rekart, 2005; Iordanov et al., 1997), mas no de ERK 1 y ERK 2 (Cano et al., 1994). Se sabe que la vía de p38 se activa cuando se genera DLP (Ito-Ishida et al., 2006) y contribuye al establecimiento de ciertas formas de plasticidad sináptica (Thomas y Huganir, 2004). Sin embargo, Berman y colaboradores (1998) encontraron que p38 no interviene en la consolidación del TMS en la corteza gustativa (Berman et al., 1998). Estos autores también encontraron que la cascada de JNK se activa en la CI como consecuencia de la formación del TMS (Berman et al., 1998). Por lo tanto, si bien en esta tesis no se exploró la posibilidad de que la anisomicina esté afectando la formación de la memoria gustativa a través de la activación de p38 o JNK, la evidencia sugiere, por un lado que p38 no está involucrada en la memoria gustativa y, por otro lado, que JNK promueve la formación de la memoria gustativa, por lo que si se potencia la actividad de esta vía, el resultado debería favorecer la memoria de la tarea, y no propiciar efectos disruptivos en la misma. Si en los resultados de esta tesis la anisomicina estuviera potenciando la actividad de JNK, debería observarse una mejoría en la memoria gustativa; sin embargo, se observa el efecto contrario con la administración de anisomicina, por lo que probablemente la incidencia de este fármaco en la vía de JNK no es responsable de los efectos observados en la memoria.

Existe evidencia de que la anisomicina inhibe la síntesis de monoaminas como la DA, la norepinefrina y la serotonina (Schweri y Carr, 1982; Davis y Squire, 1984). En este sentido, se sabe que la DA juega un papel importante en el NAcc en la formación del TMS aversivo (Fenu et al., 2001). Por lo tanto, no es completamente posible descartar algún efecto de la anisomicina sobre el sistema dopaminérgico en los experimentos reportados en esta tesis. Sin embargo, cuando se han administrado fármacos que imitan la acción de la anisomicina sobre la síntesis monoaminérgica sin producir bloqueo de síntesis proteica, no se han encontrado efectos amnésicos. Por ejemplo, cuando se inyecta sistémicamente  $\alpha$ -metil-paratirosina (AMPT), un inhibidor de la tirosina-hidroxilasa<sup>12</sup>, en una concentración suficiente para reproducir los efectos sobre la síntesis catecolaminérgica de la anisomicina, no se observan efectos amnésicos en comparación con animales inyectados con anisomicina (Flood et al., 1986). Hacen falta

---

<sup>12</sup> Enzima involucrada en la conversión del precursor tirosina en DA y norepinefrina (Siegel et al., 1999).

experimentos que puedan confirmar si la inhibición de síntesis monoaminérgica es determinante en los efectos amnésicos de la anisomicina.

#### **5.4. TEMPORALIDAD DE LA SÍNTESIS DE PROTEÍNAS EN EL mNAcc PARA LA CONSOLIDACIÓN DE LA MEMORIA GUSTATIVA.**

Los resultados de los experimentos 1 y 2 apuntan a que la consolidación del TMS aversivo y del TMS seguro depende de la síntesis de proteínas en el mNAcc, pero en momentos distintos: el primer periodo de síntesis de proteínas servirá para la consolidación del TMS aversivo, y es iniciada al menos en el momento en el que es percibido el estímulo gustativo, y termina antes de 15 minutos transcurridos después de este primer contacto con el sabor. La segunda síntesis de proteínas servirá para la consolidación del TMS seguro, se inicia al menos 15 minutos después de percibido el sabor, y hasta el momento no se ha determinado en qué tiempo finaliza. Sobre este último punto es importante mencionar que en esta tesis no se exploró hasta qué momento es necesaria esta síntesis de proteínas para la consolidación del TMS seguro, puesto que no se inyectó en el mNAcc anisomicina en tiempos posteriores a los reportados en los resultados de los experimentos.

Entonces, en esta tesis se han encontrado dos periodos distintos de síntesis de proteínas en la misma estructura para la consolidación de la memoria gustativa. Al respecto, existen en la literatura algunos reportes de trabajos en los que se han encontrado dos periodos de síntesis de proteínas para la consolidación de la memoria. En estos estudios, resumidos en la Tabla 8.1, se realizan inyecciones de algún inhibidor de la síntesis de proteínas en varios tiempos alrededor y después del aprendizaje, en grupos diferentes de animales para cada tiempo explorado, y se mide el desempeño en la ejecución de la tarea 24hrs posteriores al aprendizaje, en todos los casos de la tabla. Los periodos de síntesis de proteínas que son críticos para la consolidación de la memoria son determinados analizando qué grupo de animales tiene una ejecución deficiente en la prueba de largo plazo. Los hallazgos de estos estudios muestran que, para las memorias investigadas, existe un primer periodo crítico de síntesis de proteínas para la consolidación que puede ser bloqueado farmacológicamente entre 30 minutos antes y hasta 80 minutos después del aprendizaje, aproximadamente, dependiendo de la tarea y estructura evaluadas. Los trabajos de la tabla también muestran que existe un segundo periodo crítico de síntesis de proteínas para la consolidación de la memoria, mismo que puede ser bloqueado farmacológicamente entre 3 y 6hrs después del aprendizaje, para las tareas y estructuras consideradas. Los resultados obtenidos en los experimentos 1 y 2 de esta tesis, a primera vista, parecen apoyar este patrón de dos periodos de síntesis de proteínas

importantes para la consolidación. Sin embargo, los estudios de la tabla y los reportados en esta tesis son situaciones distintas.

En los estudios de la tabla se trabaja con aprendizajes asociativos en los cuales no se tiene un control tan riguroso como en el CAS sobre el momento en el que aparecen los estímulos a ser asociados, debido a que en esos estudios se deben presentar los estímulos muy cerca en el tiempo uno del otro para que el aprendizaje se lleve a cabo. Por el contrario, en el caso de la memoria gustativa, se pueden presentar los estímulos condicionado e incondicionado con horas de separación, lo cual permite discriminar farmacológicamente de manera más precisa los mecanismos involucrados en la codificación tanto de los estímulos mismos como de la asociación de ambos (Welzl et al., 2001). Debido a que las inyecciones de anisomicina se hicieron en el mNAcc antes o después del sabor, y a que no se afectó ni la MCP del CAS en ningún caso, es posible sugerir que no se está afectando el aprendizaje. Más aún es posible proponer que el tratamiento farmacológico está incidiendo sólo sobre la síntesis de proteínas necesaria para la consolidación de la información gustativa que será catalogada como aversiva o segura.

También es importante mencionar que en los trabajos de la tabla se emplean tareas en las que el apareamiento de los estímulos siempre resulta en la misma respuesta condicionada, por ejemplo, la evitación del choque eléctrico en el caso de la prevención pasiva (Izquierdo et al., 1999). Por el contrario, en la memoria gustativa, la presencia o ausencia de estímulo aversivo lleva a dos situaciones distintas, aversión o preferencia; adicionalmente la evidencia muestra que, en varias estructuras cerebrales, la formación de una u otra memoria gustativa involucra mecanismos moleculares que, si bien no son enteramente diferentes entre sí, sí podrían estar actuando en momentos distintos para la estabilización de uno u otro trazo de memoria, como son los casos del sistema colinérgico y el sistema glutamatérgico. Por lo tanto, mientras que en los estudios de la tabla se presentan dos periodos de síntesis de proteínas para la consolidación de la misma memoria, los resultados de los experimentos 1 y 2 de esta tesis sugieren que el mNAcc se genera un periodo de síntesis de proteínas para eventos distintos que, aunque conductual y molecularmente están relacionados, son esencialmente distintos.

Según Gutiérrez y colaboradores (2003a), si un animal ingiere un sabor nuevo, y a este consumo no le siguen consecuencias gástricas adversas, se generará el TMS seguro, cuyos mecanismos de consolidación inhibirán la posible formación de aversión a ese sabor si en alguna presentación posterior es seguido de malestar gástrico (Gutiérrez et al., 2003a). Asimismo, estos autores plantean que si al consumo de un sabor nuevo le sigue malestar gástrico, se da inicio a la formación del TMS, cuya consolidación inhibe que el animal aprenda en el futuro que ese

mismo sabor es seguro si en alguna presentación posterior del mismo no es seguido de malestar (Gutiérrez et al., 2003a). Para explorar si es que en el mNAcc se está llevando a cabo un mecanismo similar al descrito por el grupo de Gutiérrez, se hizo un tercer experimento, empleando el efecto sobre el condicionamiento conocido como inhibición latente, y el cual consiste en introducir una preexposición al que será EC antes asociarlo con el EI, dando como resultado un retardo en el condicionamiento del estímulo en cuestión (Lubow y De La Casa, 2005). En el CAS, la preexposición al sabor tiene como resultado la necesidad de incrementar el número de asociaciones para lograr el condicionamiento de aversión al estímulo gustativo presentado (Revusky y Bedarf, 1967). Este efecto parece cumplir con el planteamiento de Gutiérrez, en el sentido de que la preexposición al sabor nuevo daría pie a la activación de los mecanismos de consolidación del TMS seguro, los cuales serían los responsables de dificultar la generación de una futura aversión al sabor.

Si en el mNAcc se está generando un mecanismo parecido al descrito por Gutiérrez y colaboradores, la inhibición de la síntesis de proteínas en el mNAcc antes de la preexposición al sabor en un protocolo de IL del CAS no alteraría el desarrollo de la IL. Esto sería debido a que esta activación de síntesis de proteínas es necesaria para la consolidación del CAS y, al no presentarse malestar gástrico en este primer consumo de sacarina, se fortalecería sin interrupciones el TMS seguro. Por otro lado, el bloqueo de la síntesis de proteínas en el mNAcc después de la preexposición al sabor no permitiría la IL del CAS, haciendo posible un rápido aprendizaje de aversión con una sola asociación posterior a la preexposición entre sabor y malestar. Esto se debería a que la consolidación del TMS seguro ha sido inhabilitada, por lo que esta consolidación no estaría presente para inhibir la posible formación de aversión. Para probar esta hipótesis se realizó un tercer experimento, en el cual se les presentó a los animales sacarina 24 horas antes del aprendizaje del CAS, inyectando anisomicina en el mNAcc antes o después de esta preexposición. Se efectuaron pruebas de aversión a las 4.5 horas y a las 72 horas, con el fin de contar con un consumo comparable a aquellos de MCP y MLP, respectivamente, obtenidos con el aprendizaje simple del CAS.

En el experimento 3 se encontró que el bloqueo de la síntesis de proteínas no tiene efecto significativo sobre la IL con la inyección de anisomicina en el mNAcc antes o después de la preexposición a la sacarina; sin embargo, en la Figura 4.7 se observa una tendencia con la inyección después de la preexposición. Esta tendencia parecería apoyar la hipótesis planteada anteriormente, en el sentido de que el bloqueo de la síntesis de proteínas en el mNAcc justo después del primer consumo de sacarina bloquearía el efecto inhibitorio sobre la aversión por parte de la consolidación del TMS seguro. Sin embargo, debido a que el efecto no es significativo, no se puede tomar con carácter concluyente.

Se ha reportado anteriormente el efecto de la inhibición de la síntesis de proteínas en la IL del CAS. Rosenblum y colaboradores (1993) inyectaron anisomicina en la corteza gustativa 15 minutos antes de la preexposición al sabor (sacarina); 3 días después llevaron a cabo el aprendizaje del CAS con LiCl como EI. La prueba de aversión fue realizada 3 días después del condicionamiento, encontrando que el bloqueo de la síntesis de proteínas eliminó el efecto de la preexposición al sabor; es decir, los animales tratados con anisomicina desarrollan una aversión análoga a la desarrollada por los animales que no tuvieron preexposición al sabor antes del aprendizaje del CAS (Rosenblum et al., 1993). Este resultado es consistente con el planteamiento de Gutiérrez y colaboradores, en el sentido de que el bloqueo de la consolidación del TMS seguro permite la generación de aversión al sabor a pesar de haberse realizado la preexposición al mismo, sugiriendo que efectivamente, la formación del TMS seguro inhibe la formación del TMS aversivo (Rosenblum et al., 1993). Análogamente, los resultados del experimento 3 de esta tesis, tomados con la debida reserva por no alcanzar la significancia estadística, parecieran apoyar los hallazgos de Rosenblum y colaboradores, en el sentido de que la inhibición de la consolidación del TMS seguro anula el efecto conductual de la preexposición al sabor sobre el aprendizaje de aversión al mismo. En un sentido más amplio, los datos del experimento 3 de esta tesis parecen ser consistentes con la hipótesis de Gutiérrez y colaboradores, en el sentido de que la inhibición del TMS seguro permite el desarrollo del TMS aversivo, como es visible en la posibilidad de los animales de aprender del CAS en un solo ensayo.

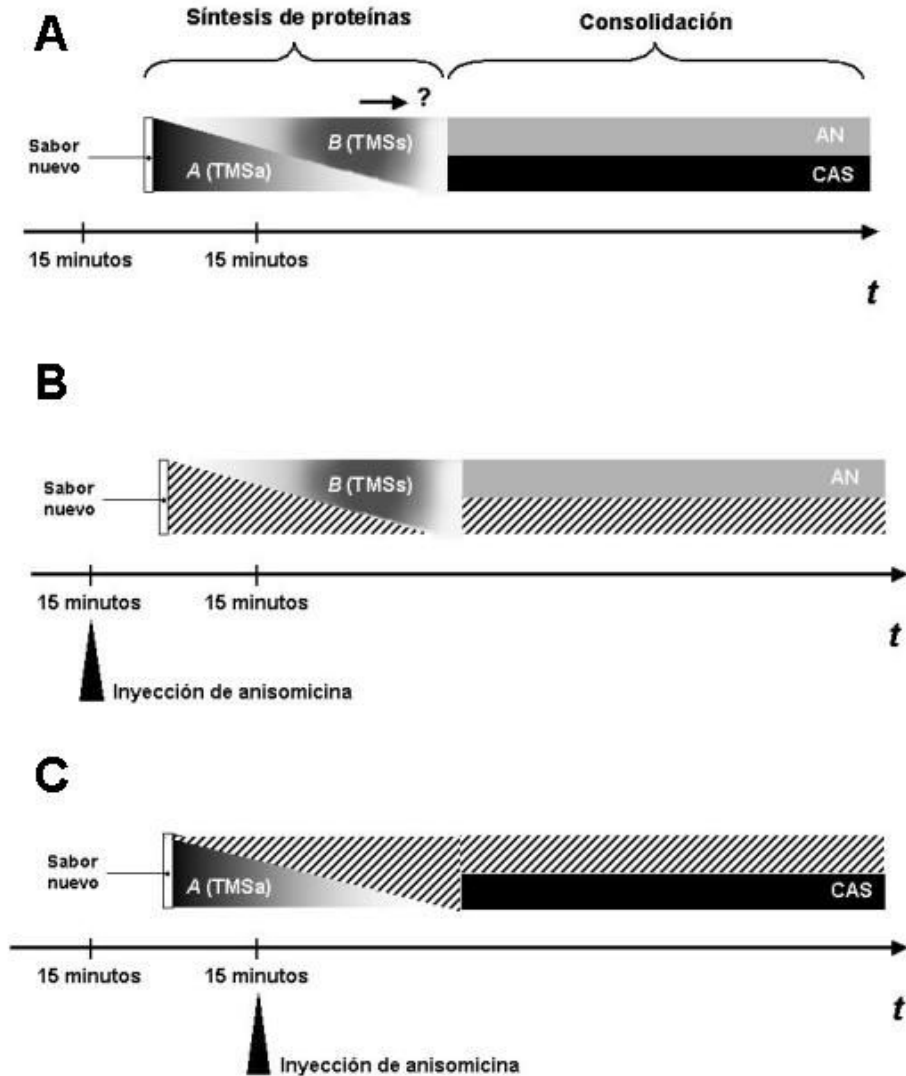
Por lo tanto, el mNAcc da lugar a la síntesis de nuevas proteínas para la consolidación del TMS de forma diferencial para cada una de las modalidades de este trazo de memoria. Cuando el animal prueba un sabor nuevo, se forma un trazo de memoria en paralelo en estructuras tales como la amígdala, el hipotálamo, la corteza gustativa, y el mNAcc. En el mNAcc el sabor nuevo da inicio a una activación de síntesis de proteínas necesarias para la consolidación del TMS aversivo si es que se presentara malestar gástrico, representadas en la Figura 5.1, A con el triángulo con letra A; esta síntesis de proteínas se genera en un lapso que no supera los 15 minutos tras el primer contacto con el sabor y, si llegan consecuencias adversas tras el su consumo, la consolidación del TMS aversivo (barra negra de la Figura 5.1, A) dificultará el posible establecimiento de un TMS seguro al mismo sabor. Por el contrario, cuando se prueba un sabor nuevo, al cual no le siguen consecuencias adversas, se inicia en el mNAcc una activación de síntesis de proteínas que serán necesarias para la consolidación del TMS seguro, esquematizadas en la Figura 5.1, A con el triángulo con la letra B. Esta activación de síntesis de proteínas comienza en un lapso no menor a 15 minutos posteriores al primer contacto con el sabor nuevo, y su duración hasta el momento no se conoce (flecha con signo de

interrogación de la Figura 5.1, A). Una vez consolidado este TMS seguro (barra gris de la Figura 5.1, A) se requerirán más asociaciones entre el sabor en cuestión y el malestar gástrico para la generación de un posible TMS aversivo hacia el mismo sabor.

En la Figura 5.1, B se muestra el efecto de la inhibición de la síntesis de proteínas en el mNAcc en la consolidación del TMS aversivo. La inyección de este fármaco bloquea la formación de las proteínas necesarias para la consolidación de este trazo de memoria, pero sin afectar al aprendizaje de la aversión, como se evidencia en la ausencia de efectos disruptivos sobre la MCP del CAS. Una vez bloqueada esta activación de síntesis de proteínas, no se consolida el TMS aversivo, por lo que no hay una inhibición para el posible aprendizaje de la seguridad del sabor en el caso de que éste llegara sin ser seguido de malestar. Entonces, se podría consolidar el TMS seguro puesto que no existe una “competencia” del TMS aversivo ya consolidado. Finalmente, en la Figura 5.1, C se muestra el efecto de la inhibición de la síntesis de proteínas en el mNAcc en la consolidación del TMS seguro. La administración de la anisomicina bloquea la síntesis de proteínas necesaria para la consolidación del TMS seguro, sin afectar el reconocimiento de la novedad del estímulo gustativo, como se evidencia en la ausencia de efectos disruptivos en la respuesta neofóbica al sabor. Una vez inhibida esta activación de síntesis proteica, podrá desarrollarse la aversión al sabor, puesto que no se reconocerá en una segunda presentación como seguro. Entonces, se podrá consolidar el TMS aversivo, debido a que no existe la “competencia” del TMS seguro ya consolidado.

Es importante subrayar que ambas activaciones de síntesis de proteínas se llevan a cabo de forma diferencial, siendo que una se desarrolla muy poco tiempo después del primer contacto con el sabor nuevo, estará dirigida a la consolidación de la aversión si llega malestar post-ingesta, y finaliza en un lapso que no supera los 15 minutos después de este primer contacto con el sabor. Por otro lado, al menos 15 minutos después del primer contacto con el sabor nuevo, inicia otra activación de síntesis de proteínas, que estará dirigida a la consolidación de la seguridad del sabor si el malestar gástrico no se presentara, y hasta ahora no se conoce en qué momento finaliza.

**FIGURA 5.1. MODELO PROPUESTO DE LA PARTICIPACIÓN DEL mNAcc EN LA CONSOLIDACIÓN DE LA MEMORIA GUSTATIVA.**



**Figura 5.1.** Modelo propuesto de la participación del mNAcc, a través de la síntesis de proteínas, en la consolidación de la memoria gustativa. **(A)** En el mNAcc se activa diferencialmente la síntesis de proteínas, tras primer contacto con el sabor nuevo, para la consolidación de las dos modalidades del TMS. La primera activación de síntesis de proteínas, marcada con la letra A, es iniciada por el sabor nuevo, será importante para la consolidación del TMS aversivo (TMSa), y su duración no supera los 15 minutos posteriores al primer contacto con el sabor. Por el contrario, la segunda activación de síntesis de proteínas, marcada con la letra B, será importante para la consolidación del TMS seguro, y comienza al menos 15 minutos después del primer contacto con el sabor nuevo; hasta ahora no se ha determinado en qué momento finaliza (signo de interrogación). El establecimiento de alguno de los dos depende de la presencia o ausencia de malestar gástrico, resultando en CAS o AN. **(B)** La inhibición de la síntesis de proteínas en el mNAcc 15 minutos antes del sabor nuevo bloquea la formación de las proteínas necesarias para la consolidación del TMS aversivo aún cuando se presente malestar gástrico, por lo que sería posible reconocer al sabor como seguro en un segundo encuentro con el mismo. Aquí sólo se afecta la consolidación, no el aprendizaje (ver texto) **(C)** La inhibición de la síntesis de proteínas 15 minutos después del primer contacto con el sabor nuevo bloquea la formación de las proteínas necesarias para la consolidación del TMS seguro, por lo que sería posible generar aversión a ese sabor si es que es seguido de malestar en una segunda exposición a este sabor.



## 5.5. CONCLUSIONES

En el mNAcc tiene lugar una síntesis de proteínas necesaria en la consolidación de los TMS seguro y aversivo, y esta síntesis proteica es activada diferencialmente en diferentes tiempos posteriores al primer contacto con el sabor nuevo, en función del trazo de memoria (seguro o aversivo) que se forme. El mNAcc genera en un lapso muy breve tras el primer contacto con el sabor una activación de síntesis de proteínas que son críticas para la consolidación del TMS aversivo, mas no para el aprendizaje del mismo. También genera el mNAcc otro periodo de activación de síntesis de proteínas, posterior pero muy cercano en el tiempo al primero, que es crítico para la consolidación del TMS seguro. La consolidación de uno de los trazos de memoria en el mNAcc inhibe la formación del otro, efecto que se pierde cuando se inhibe la formación de las proteínas necesarias para la consolidación del trazo de memoria a ser consolidado.

## 6. REFERENCIAS

- Abel, T.**, Lattal, K.M. (2001). Molecular mechanisms of memory acquisition, consolidation and retrieval. *Curr Opin Neurobiol.*, 11(2):180-7
- Adams, J.P.**, Sweatt, J.D. (2002). Molecular psychology: roles for the ERK MAP kinase cascade in memory. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 42: 135-163
- Agnew, W.S.** (1984). Voltage-regulated sodium channel molecules. *Ann Rev Physiol*, 46:517-530.
- Agranoff, B.W.**, Klinger, P.D. (1964). Puromycin effect on memory fixation in the goldfish. *Science*, 146:952-3.
- Agranoff, B.W.**, Davis, R.E., Brink, J.J. (1965). Memory fixation in the goldfish. *PNAS*, 54(3):788-93.
- Alberini, C.M.**, Milekic, M.H., Tronel, S. (2006). Mechanisms of memory stabilization and de-stabilization. *Cell Mol Life Sci*, 63: 999-1008.
- 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.
- Alvarez-Jaimes, L.**, Feliciano-Rivera, M., Centeno-González, M., Maldonado-Vlaar, S. (2005). Contributions of the mitogen-activated protein kinase and protein kinase C cascades in spatial learning and memory mediated by the nucleus accumbens. *J Pharmacol Exp Ther*, 314(3): 1144-1157.
- Atkins, C.M.**, Selcher, J.C., Petraitis, J.J., Trzaskos, J.M., Sweatt, J.D. (1998). The MAPK cascade is required for mammalian associative learning. *Nat Neurosci*, 1: 602-609.
- Baddeley, A.** (1999). Memoria humana: teoría y práctica. *McGraw Hill Interamericana*, Madrid.
- Bahar, A.**, Samuel, A., Hazvi, S., 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.**, Cohen, H.D. (1966). Puromycin effect on successive phases of memory storage. *Science*, 151(710):594-5

- Bear, M.F.** (1996). A synaptic basis for memory storage in the cerebral cortex. *PNAS*, 93(24): 13453-13459.
- Belelovsky, K.**, Elkobi, A., Kaphzan, H., Nairn, A.C., Rosenblum, K. (2005). A molecular switch for translational control in taste memory consolidation. *Eur J Neurosci*, 22: 2560-2568.
- Berkeley, J.L.**, Levey, A.I. (2003). Cell-specific extracellular-signal regulated protein kinase activation by multiple G protein-coupled receptor families in the hippocampus. *Mol Pharmacol*, 63(1): 128-135.
- Berman, D.E.**, Hazvi, S., Rosenblum, K., Seger, R., Dudai, Y. (1998). Specific and differential activation of mitogen-activated protein kinase cascades by unfamiliar taste in the insular cortex of the behaving rat. *J Neurosci*, 18(23):10037-10044.
- Bermúdez-Rattoni, F.** (1986), La integración neural de los hábitos alimenticios. *Bol Estud Med Biol*, 34(1-4):43-50
- Bermúdez-Rattoni, F.** (2004). Molecular mechanisms of taste-recognition memory. *Nat Rev Neurosci*, 5(3):209-17
- Bermúdez-Rattoni, F.**, Ramírez-Lugo, L., Gutiérrez, R., Miranda, M.I. (2004). Molecular signals into the insular cortex and amygdala during aversive gustatory memory formation. *Cell Molec Neurobiol*, 24(1): 25-35.
- Bliss, T.V.**, Collingridge, G.L. (1993). A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature*, 361(6407): 31-39.
- Blitzer, R.D.**, Iyengar, R., Landau, E.M. (2005). Postsynaptic signaling networks: cellular cogwheels underlying long-term plasticity. *Biol Psychiatry*, 57: 113-119.
- Boulton T.G.**, Cobb, M.H. (1991). Identification of multiple extracellular signal-regulated kinases (ERKs) with antipeptide antibodies. *Cell Regul*, 2(5): 357-371.
- Bull, R.**, Ferrera, E., Orrego, F. (1976). Effect of anisomycin on brain protein synthesis and passive avoidance learning in newborn chickens. *J Neurobiol*, 7(1): 37-49.

- Buresova, O., Bures, J.** (1980). The effect of anesthesia on acquisition and extinction of conditioned taste aversion. *Behav Biol*, 20: 41-50.
- Cano, E., Hazzalin, C.A., Mahadevan, L.C.** (1994). Anisomycin-activated proteins p44 and p55 but not mitogen-activated protein kinases ERK-1 and -2 are implicated in the induction of c-fos and c-jun. *Mol Cell Biol*, 14(11): 7352-7362.
- Chance, P.** (1999). Learning and behavior. Brooks/Cole Pub. Co., Pacific Grove.
- Chandler, L.J., Sutton, G., Nandakumar, R.D., Norwood, D.** (2001). N-Methyl D-Aspartate receptor-mediated bidirectional control of extracellular signal-regulated kinase activity in cortical neuronal cultures. *J Biol Chem*, 276(4): 2627-2636.
- Cooper, S.J.** (2005). Donald O. Hebb's synapse and learning rule: a history and commentary. *Neurosci Biobehav Rev*, 28: 851-874.
- Davis, H. P., Squire, L. R.** (1984). Protein synthesis and memory: a review. *Psychol Bull*, 96, 518-559
- Davis, S., Bozon, B., Laroche, S.** (2003). How necessary is the activation of the immediate early gene *zif 268* in synaptic plasticity and memory?. *Behav Brain Res*, 142: 17-30.
- Desmedt, A., Hazvi, S., Dudai, Y.** (2003). Different 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(14): 6102-6110.
- Dudai, Y.** (2004). The neurobiology of consolidations, or, how stable is the engram? *Annu Rev Psychol* 55, 51-86.
- Escobar, M.L., Derrick, B.** (2007) Long-term potentiation and depression as putative mechanisms for memory formation, en Bermúdez-Rattoni, F. (2007). Neural plasticity and memory: from genes to brain imaging, (pp. 15-46), Taylor & Francis Group: Florida.
- Fenu, S., Bassareo, V., Di Chiara, G.** (2001). A role for dopamine D1 receptors of the nucleus accumbens shell in conditioned taste aversion. *J Neurosci*, 21(17): 6897-6904.

- Fenu, S.**, Spina, L., Rivas, E., Longoni, R., Di Chiara, G. (2006). Morphine-conditioned single-trial place preference: role of nucleu accumbens shell dopamine receptors in acquisition, but not expression. *Psychopharmacology*, 187: 143-153.
- Ferreira, G.**, Gutiérrez, R., De La Cruz, V., Bermúdez-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.**, Ferry, B., Meurisse, M., Lévy, F. (2006). Forebrain structures specifically activated by conditioned taste aversion. *Behav Neurosci*, 120(4):952-62
- Flexner, J.B.**, Flexner, L.B., Stellar, E. (1963). Memory in mice is affected by intracerebral puromycin. *Science*, 141:57-9.
- Flood, J.F.**, Smith, G.E., Bennett, E.L., Alberti, M.H., Orme, A.E., Jarvik, M.E. (1986). Neurochemical and behavioral effects of catecholamine and protein synthesis inhibitors in mice. *Pharmacol Biochem Behav*, 24(3):631-45.
- Freeman, F.M.**, Rose, S.P.R., Scholey, A.B. (1995). Two time windows of anisomycin-induced amnesia for passive avoidance training in the day-old chick. *Neurobiol Learn Mem*, 63: 291-295.
- Giovannini, M.G.** (2006). The role of extracellular signal-regulated kinase pathway in memory encoding. *Rev Neurosci*, 17(6): 619-634.
- Graybiel, A.M.** (2003). Acute effects of psychomotor stimulant drugs on gene expression on the striatum. *NIDA Res Monogr*, 125: 72-81
- Grecksch, G.**, Matthies, H. (1980). Two sensitive periods for the amnesic effect of anismoycin. *Pharmacol Biochem Behav*, 12(5): 663-665.
- Grollman, A.P.** (1967). Inhibitors of protein biosynthesis. II. Mode of action of anisomycin. *J Biol Chem*, Jul 10; 242(13):3226-33
- Gu, Q.** (2003). Contribution of acetylcholine to visual cortex plasticity. *Neurobiol Learn Mem*, 80(3): 291-301.

- Gutiérrez, R.**, Rodríguez-Ortiz, C.J., De La Cruz, V., Núñez-Jaramillo, L., Bermúdez-Rattoni, F. (2003a). Cholinergic dependence of taste memory formation: evidence of two distinct processes. *Neurobiol Learn Mem*, Nov; 80(3):323-31.
- Gutiérrez, R.**, Téllez, L.A., Bermúdez-Rattoni, F. (2003b). Blockade of cortical muscarinic but not NMDA receptors prevents a novel taste from becoming familiar. *Eur J Neurosci*, 17: 1556-1562.
- Gruest, N.**, Richer, P., Hars, B. (2004). Memory consolidation and reconsolidation in the rat pup require protein synthesis. *J Neurosci*, 24(46): 10488-10492.
- Hernandez, P.J.**, Sadeghian, K., Kelley, A.E. (2002). Early consolidation of instrumental learning requires protein synthesis in the nucleus accumbens. *Nature Neuroscience*, 5(12): 1327-1331.
- Hope, B.**, Kosofsky, B., Hyman, S.E., Nestler, E.J. (1992). Regulation of immediate early gene expression and AP-1 binding in the rat nucleus accumbens by chronic cocaine. *PNAS*, 89: 5764-5768.
- Hyman, S.E.**, Malenka, R.C., Nestler, E.J. (2006). Neural mechanisms of addiction: the role of reward-related learning and memory. *Annu Rev Neurosci*, 29: 565-598.
- Igaz, L.M.**, Vianna, M.R.M., Medina, J.H., Izquierdo, I. (2002). Two time periods of hippocampal mRNA synthesis are required for memory consolidation of fear-motivated learning. *J Neurosci*, 22 (15): 6781-6789.
- Inda, M.C.**, Delgado-García, J.M., Carrión, A.M. (2005). Acquisition, consolidation, reconsolidation and extinction of eyelid conditioning responses require de novo protein synthesis. *J Neurosci*, 25(8): 2070-2080.
- Iordanov, M.S.**, Pribnow, D., Magun, J.L., Dinh, T.H., Pearson, J.A., Chen, S. L.Y., Magun, B.E. (1997). Ribotoxic stress response: activation of the stress-activated protein kinase JNK1 by inhibitors of the peptidyl transferase reaction and by sequence-specific RNA damage to the  $\alpha$ -sarcin/ricin loop in the 28S rRNA. *Mol Cell Biol*, 17(6): 3373-3381.
- Ito-Ishida, A.**, Kakegawa, W., Yuzaki, M. (2006). ERK 1/2 but not p38 MAP kinase is essential for the long term depression in mouse cerebellar slices. *Eur J Neurosci*, 24: 1617-1622.

- Izquierdo, I.,** Medina, J.H., Vianna, M.R.M., Izquierdo, L.A., Barros, D.M. (1999). Separate mechanisms for short- and long-term memory. *Behav Brain Res*, Aug;103(1):1-11
- Jiménez, L.F.,** Merchant, H. (2003). Biología celular y molecular. *Prentice Hall*: México.
- Kelley, A.E.** (2004) Ventral striatal control of appetitive motivation: role of ingestive behavior and reward-related learning. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, Jan; 27(8):765-76.
- Klann, E.,** Dever, T.E. (2004). Biochemical mechanisms for translational regulation in synaptic plasticity. *Nat Rev Neurosci*, 5: 931-942.
- Kuo, Y.M.,** Liang, K.C., Chen H.H., Cherng, C.G., Lee, H.T., Lin, Y., Huang, A.M., Liao, R.M., Yu, L. (2007). Cocaine but not methamphetamine-associated memory requires de novo protein synthesis. *Neurobiol Learn Mem*, 87: 93-100.
- Kyosseva, S.V.,** Owens, S.M., Elbein, A.D., Karson C.N. (2001). Differential and region-specific activation of mitogen-activated protein kinases following chronic administration of phencyclidine in rat brain. *Neuropsychopharmacology*, 24(3): 267-277
- Li, M.,** Fleming A.S. (2003). Differential involvement of nucleus accumbens shell and core subregions in maternal memory in postpartum female rats. *Behav Neurosci*, Jun; 117(3):426-45.
- López-Antúnez, L.** (1979). Anatomía funcional del sistema nervioso. *Limusa*: México.
- Lubow, R.E.,** De La Casa, L.G. (2005). There is a time and a place for everything: bidirectional modulations of latent inhibition by time-induced context differentiation. *Psychonomic Bulletin & Review*, 12(5): 806-821.
- Lynch, M.A.** (2004). Long-term potentiation and memory. *Physiol Rev*, 84: 87-136.
- Malenka, R.C.,** Bear, M.F. (2004). LTP and LTD: an embarrassment of riches. *Neuron*, 44: 5-21.
- Maren, S.,** Ferrario, C.R., Corcoran, K.A., Desmond, T.J., Frey, K.A. (2003). Protein synthesis in the amygdala but not in the auditory thalamus, is required for consolidation of Pavlovian fear conditioning in rats. *Eur J Neurosci.*, 18(11): 3080-3088.

- Mark, G.P.**, Blander D.S., Hoebel, B.G. (1991) A conditioned stimulus decreases extracellular dopamine in the nucleus accumbens after the development of a learned taste aversion. *Brain Res*, 551: 308-310.
- Mark, G.P.**, Weinberg, J.B., Rada, P.V., Hoebel, B.G. (1995) Extracellular acetylcholine is increased in the nucleus accumbens following the presentation of an aversively conditioned taste stimulus. *Brain Res*, 688: 184-188.
- Martin, S.J.**, Grimwood, J.D., Morris, R.G.M. (2000). Synaptic plasticity and memory: an evaluation of the hypothesis. *Annu Rev Neurosci*, 23:649-711.
- McGaugh, J.L.**, Izquierdo, I. (2000). The contribution of pharmacology to research on the mechanisms of memory formation. *Trends Pharmacol Sci*, 21, 208-210.
- Meiri, N.**, Rosenblum, K. (1998). Lateral ventricle injection of the protein synthesis inhibitor anisomycin impairs long-term memory in a spatial learning task. *Brain Res.*, 789(1): 48-55.
- Mileusnic, R.**, Lancashire, C.L., Rose, S.P.R. (2005). Recalling an aversive experience by day-old chicks is not dependent on somatic protein synthesis. *Learn Mem*, 12: 615-619.
- Miller, C.A.**, Marshall, J.F. (2005). Molecular substrates for retrieval and reconsolidation of cocaine-associated contextual memory. *Neuron*, 47: 873-884.
- Miranda, M.I.**, Ramírez-Lugo, I., Bermúdez-Rattoni, F. (2000). Cholinergic activity is related to the novelty of the stimulus. *Brain Res*, 882: 230-235.
- Miranda, M.I.**, Ferreira, G., Ramírez-Lugo, L., Bermúdez-Rattoni, F. (2002). Glutamatergic activity in the amygdala signals visceral inputs during taste memory formation. *PNAS*, 99(17):11417-22.
- Miranda, M.I.**, Ferreira, G., Ramírez-Lugo, L., Bermúdez-Rattoni, F. (2003). Role of cholinergic system on the construction of memory: taste memory encoding. *Neurobiol Learn Mem*, 80: 211-222.
- Paxinos G.**, Watson, C. (1986). The rat brain in stereotaxic coordinates. (3rd ed.), *Academic Press*, San Diego.



- Pezze, M.A.**, Heidbreder, C.A., Feldon, J., Murphy, C.A. (2001). Selective responding of nucleus accumbens core and shell dopamine to aversively conditioned contextual and discrete stimuli. *Neuroscience*, 108(1): 91-102.
- Pothuizen, H.H.J.**, Jongen-Rêlo, A.L., Feldon, J., Yee, B.K. (2006). Latent inhibition of conditioned taste aversion is not disrupted, but can be enhanced, by selective nucleus accumbens shell lesions in rats. *Neurosci*, 137: 1119-1130.
- Power, A.E.**, Vazdarjanova, A., McGaugh, J.L. (2003). Muscarinic cholinergic influences in memory consolidation. *Neurobiol Learn Mem*, 80: 178-193.
- Quevedo, J.**, Vianna, M.R.M., Roesler, R., de-Paris, F., Izquierdo, I., Rose, S.P.R. (1999). Two time Windows of anisomycin-induced amnesia for inhibitory avoidance training in rats: protection from amnesia by pretraining but not pre-exposure to the task apparatus. *Learn Mem*, 6(6): 600-607.
- 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.
- Ramírez-Lugo, L.**, Zavala-Vega, S., Bermúdez-Rattoni, F. (2006). NMDA and muscarinic receptors of the nucleus accumbens have differential effects on taste memory formation. *Learn Mem*, Jan-Feb;13(1):45-51.
- Ramírez-Lugo, L.**, Núñez-Jaramillo, L., Bermúdez-Rattoni, F. (2007). Taste memory formation: role of nucleus accumbens. *Chem Senses*, Jan;32(1):93-7.
- Revusky, S. H.**, Bedarf, E.W. (1967). Association of illness with prior ingestion of novel foods. *Science*, 155: 219-220.
- Robinson, M.J.F.**, Franklin, K.B.J. (2007). Effects of anisomycin on consolidation and reconsolidation of a morphine-conditioned place preference. *Behav Brain Res*, 178: 146-153.
- Rodríguez-Ortiz, C.J.**, De La Cruz V., Gutiérrez, R., Bermúdez-Rattoni, F. (2005). Protein synthesis underlies post-retrieval memory consolidation to a restricted degree only when updated information is obtained. *Learn Mem*, 12(5): 533-537.

- Rose, S.P.R.** (1995). Time-dependent biochemical and cellular processes in memory formation. En McGaugh, J.L., Bermúdez-Rattoni, F., Prado-Alcalá, R.A. (1995). Plasticity in the central nervous system. Learning and memory. (pp. 171-184), *Lawrence Erlbaum Associates*: New Jersey.
- Rose, S.P.R.** (2000). God's organism? The chick as a model system for memory studies. *Learn mem*, 7(1): 1-17.
- Rosenblum, K.**, Meiri, N., Dudai, Y. (1993). Taste memory: the role of protein synthesis in gustatory cortex. *Behav Neural Biol*, Jan; 59(1):49-56.
- Rossato, J.I.**, Bevilacqua, L.R. Myskiw, J.C., Medina, J.H., Izquierdo, I., Cammarota, M. (2007). On the role of hippocampal protein synthesis in the consolidation and reconsolidation of object recognition memory. *Learn Mem*, 14(1): 36-46.
- Samaha, A.N.**, Mallet, N., Ferguson, S.M., Gonon, F., Robinson, T.E. (2004). The rate of cocaine administration alters gene regulation and behavioral plasticity: implication for addiction. *J Neurosci*, 24(28): 6362-6370.
- Salu'skaya, N.B.**, Mardsen, C.A. (1997). Glutamate levels in the nucleus accumbens in a conditioned emotional response. *Neurosci Behav Physiol*, 27(5): 548-551.
- Schafe, G.E.**, Nadel, N.V., Sullivan, G.M., Harris, A., LeDoux, J.E. (1999). Memory consolidation for contextual and auditory fear conditioning is dependent on protein synthesis, PKA and MAP kinase. *Learn Mem*, 6(2): 97-110.
- Schweri, M.M.**, Carr, L.A. (1982). The effects of anisomycin and cycloheximide on monoamine synthesis in a brain synaptosome preparation. *J Neural Transm*, 54(1-2):41-50.
- Schwienbacher, I.**, Fendt, M., Richardson, R., Schnitzler, H.U. (2004). Temporary inactivation of the nucleus accumbens disrupts acquisition and expression of fear-potentiated startle in rats. *Brain Res*, 1027: 81-93.
- Setlow, B.** (1997). The nucleus accumbens and learning and memory. *J Neurosci Res*, 49(5): 512-521.
- 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.

- Squire, L.R.**, Kandel, E.R., (1999). Memory: from mind to molecules. *Scientific American Library*, Nueva York.
- Spina, L.**, Fenu, S., Longoni, r., Rivas, E., Di Chiara, G. (2006). Nicotine-conditioned single-trial place preference: selective role of nucleus accumbens shell dopamine D1 receptors in acquisition. *Psychopharmacology*, 184: 447-455.
- Sutton, M.A.**, Schuman, E.M. (2006). Dendritic protein synthesis, synaptic plasticity, and memory. *Cell*, 127: 49-58
- Tambyah, P.A.**, Hui, K.P., Gopalakrishnakone, P., Chin, N.K., Chan, T.B. (1994). Central-nervous-system effects of tetrodotoxin poisoning. *Lancet*, 343(8896): 538-539.
- Tiunova, A.A.**, Anokhin, K.V., Rose, S.P.R. (1998). Two critical periods of protein and glycoprotein synthesis in memory consolidation for visual categorization learning in chicks. *Learn Mem*, 4: 401-410.
- Touzani, K.**, Puthanveettil, S.V., Kandel, E.R. (2007). Consolidation of learning strategies during spatial working memory task requires protein synthesis in the prefrontal cortex. *PNAS*, 104(13): 5632-5637.
- Tronson, N.C.**, Taylor, J.R. (2007). Molecular mechanisms of memory reconsolidation. *Nat Rev Neurosci*, 8: 262-275.
- Vianna, M.R.M.**, Szapiro, G., McGaugh, J.L., Medina, J.H., Izquierdo, I. (2006). Retrieval of memory for fear-motivated training initiates extinction requiring protein synthesis in the rat hippocampus. *PNAS*, 98(21): 12251-12254.
- Wan, X.**, Peoples, L.L. (2006). Firing patterns of accumbal neurons during a pavlovian-conditioned approach task. *J Neurophysiol*, 96: 652-660.
- Wang, H.**, Yinghe, H., Tsien, J.Z. (2006) Molecular and systems mechanisms of memory consolidation and storage. *Prog Neurobiol*, 79: 123-35
- Welzl, H.**, D'Adamo, P., Lipp, H.P. (2001). Conditioned taste aversion as a learning and memory paradigm. *Behav Brain Res*, 125 (1-2): 205-213

- 
- Wolf, M.E.** (2002). Addiction: making the connection between behavioral changes and neuronal plasticity in specific pathways. *Mol Interv*, 2(3): 146-157.
- Yamamoto, T., Shimura, t., Sako, N., Yasoshima, Y., Sakai, N.** (1994). Neural substrates for conditioned taste aversion in the rat. *Behav Brain Res*, 65: 123-137.
- Yamamoto, T.** (2007). Brain regions responsible for the expression of conditioned taste aversion in rats. *Chem Senses*, 32: 105-109.
- Yamauchi, T.** (2005). Neuronal Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase II – discovery, progress in a quarter of century, and perspective: implication for learning and memory. *Biol. Pharm. Bull.*, 28 (8): 1342-1354.
- Zahm, D.S.** (1999). Functional-anatomical implications of the nucleus accumbens core and shell subterritories. *Ann N Y Acad Sci*, 877:113-28.
- Zahm, D.S.** (2000). An integrative neuroanatomical perspective on some subcortical substrates of adaptive responding with emphasis in the nucleus accumbens. *Neurosci Biobehav Rev*, 24 (1):85-105.