



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE PSICOLOGÍA

**LA SÍNTESIS DE PROTEÍNAS EN LA CORTEZA INSULAR
ES NECESARIA PARA LA ACTUALIZACIÓN A LARGO
PLAZO DE LA MEMORIA GUSTATIVA DE EXTINCIÓN**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADO EN PSICOLOGÍA
P R E S E N T A :
SINUHÉ MUÑOZ SÁNCHEZ

DIRECTOR DE TESIS: DR. CARLOS DE JESÚS RODRÍGUEZ ORTIZ
REVISORA DE TESIS: DRA. MARTHA ESCOBAR RODRÍGUEZ



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Neurobiología del Aprendizaje y la Memoria, en el Departamento de Neurociencias del Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México, con el apoyo económico de CONACyT 60478.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por haber contribuido con mi formación académica.

Al Dr. Federico Bermúdez, por haberme brindado la oportunidad de trabajar en su laboratorio.

Al Dr. Carlos Rodríguez y la Mtra. en C. Paola De la Torre García por su valiosa asesoría, amistad y valiosos comentarios en el desarrollo de este trabajo.

A los sinodales: Dra. Martha Escobar Rodríguez, Mtro. Sotero Moreno Camacho, Dra. Alejandra Ruiz Contreras y Dr. Antonio Zainos Rosales; por sus enriquecedores comentarios y sugerencias al presente trabajo.

Al Dr. Luis Núñez por su valiosa amistad dentro y fuera del laboratorio.

Así mismo, agradezco a Oereste Carbajal y Adriana Morales, por su valioso apoyo técnico en este trabajo.

Al resto de mis compañeros de laboratorio Adrián, Kioko, Paulina, Luís Arreguín Vanesa, Roxana, Pascal, Luís Royero, Paloma, Israela, Julio, Azul y Pamela.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, Noemí y Alfredo por haberme apoyado siempre en mis decisiones profesionales.

A mis hermanos, Freddy y Javier.

A mi abuela María Félix

A mi familia, tío Huicho, Fabiola, Berenice, Itzel, Karen, Iqui Balám y Zaira.

Un AGRADECIMIENTO ESPECIAL para Alicia, por ser un elemento importante en mi vida, por tu cariño, amor y compañía.

A Lulú gracias por ser una gran amiga y confidente durante mis primeros semestres de la licenciatura.

A mis viejos camaradas del plantel 3 “Justo Sierra” Uriel, Mozo, Jorge y Carlos.

Al resto de mis compañeros y amigos del museo UNIVERSUM por su grata compañía en diferentes momentos.

“Si tu intención es describir la verdad, hazlo con sencillez y la elegancia déjasela al sastre.”

Albert Einstein (1879-1955)

Abreviaturas

ABL	Amígdala basolateral
ACe	Amígdala central
AL	Amígdala lateral
AN	Atenuación de la neofobia
AMPC	Monofosfato cíclico de adenosina
ARN	Ácido ribonucleico
ATP	Adenosin trifosfato
CAS	Condicionamiento de aversión a los sabores
CB1	Receptor canabinoide tipo 1
C/EBPβ	CCAAT enhancer binding protein β
CG	Corteza gustativa
CI	Corteza insular
CPm	Corteza prefrontal medial
EC	Estímulo condicionado
EI	Estímulo incondicionado
ERK 1-2	Extracellular signal regulated kinases
HL	Hipotálamo lateral
i.p.	Inyección intraperitoneal
MCP	Memoria a corto plazo
MLP	Memoria a largo plazo
NAcc	Núcleo Accumbens
NBM	Núcleo Magno Basalis Celullaris
NMDA	receptor tipo N-Metil-D-Aspartato de glutamato
NTS	Núcleo tracto solitario
PBN	Núcleo parabraquial
PKA	Proteína cinasa A
RC	Respuesta condicionada
TMS	Trazo de memoria del sabor

Vpm	Tálamo ventroposteromedial
Vpl	Tálamo ventroposterolateral
VTA	Área ventral tegmental

ÍNDICE

	Página
Abreviaturas	v
Índice de figuras	ix
Resumen	xi
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	2
2.1. La consolidación	2
2.2. Hipótesis de la reconsolidación	4
2.3. Fenómeno de extinción	7
2.4. Limitaciones de la hipótesis de la reconsolidación	11
2.5. La reconsolidación: proceso de actualización de la información a largo plazo	12
III. MEMORIA GUSTATIVA	17
3.1. Condicionamiento de aversión a los sabores	19
3.2. Relevos de la información en el sistema gustativo	21
3.2.1. Vías del procesamiento de información gustativa	21
3.2.2. Vías del procesamiento de información visceral	22
3.3. La corteza insular (CI): organización estructural	25
3.4. Amígdala: anatomía y funciones	28
3.5. Extinción gustativa	31
IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	32
4.1. Planteamiento del problema	32
4.2. Hipótesis	32
4.3. Objetivos Específicos	32
V. MÉTODO	34
5.1. Sujetos	34
5.2. Cirugía e implantación de cánulas	34

	Página
5.3	Fármacos 35
5.4	Microinyecciones 35
5.5	Histología 36
5.6	Procedimiento conductual 36
5.6.1	Condicionamiento de aversión a los sabores (CAS) 36
VI.	EXPERIMENTOS 37
6.1	Experimento 1. Efectos de la inhibición de la síntesis de proteínas en la CI y ABL durante la consolidación de la memoria de extinción 37
6.1.1	Protocolo de entrenamiento de extinción 37
6.1.2	Análisis de resultados 38
6.1.3	Resultados 38
6.2	Experimento 2. Efectos de la inhibición de la síntesis de proteínas en la actualización de nueva información en la CI 43
6.2.1	Protocolo de entrenamiento de extinción 43
6.2.2	Resultados 44
6.3	Experimento 3. Efectos de la inhibición de la síntesis de proteínas en la meseta de aprendizaje de extinción gustativa 46
6.3.1	Protocolo de entrenamiento de extinción 46
6.3.2	Resultados 47
VII.	DISCUSIÓN 49
7.1	Inhibición de la síntesis de proteínas después de la adquisición de la extinción en la CI y ABL 50
7.2	Inhibición de la síntesis de proteínas en condiciones de actualización en la CI, ABL y ACe 51
7.3.	Conclusiones 55
VIII.	REFERENCIAS 56

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
2.1	Representación esquemática del fenómeno amnesia dependiente de clave retomado recientemente con el nombre de reconsolidación.	6
2.2	Esquema que muestra un condicionamiento previo y .la extinción en su fase de adquisición	8
2.3	Efecto del inhibidor de síntesis de proteínas en el proceso de extinción del condicionamiento de aversión a los sabores y la reconsolidación del EC-EI.	11
2.4	Efectos de la inyección de anisomicina en la corteza insular.	14
3.1	Trazos de memoria del sabor.	18
3.2	Esquema sintetizado del procedimiento conductual de condicionamiento de aversión a los sabores.	20
3.3	Principales relevos de la información gustativa y visceral en el cerebro de la rata.	24
3.4	La corteza insular en el humano se encuentra localizada profundamente en la superficie lateral del cerebro, dentro del surco lateral.	27
3.5	Representación de las capas de la corteza insular en rata.	28
3.6	Sección coronal del cerebro de rata en la que se muestra la localización de la amígdala.	30
6.1	Protocolo del experimento 1.	37
6.2	Conducta de extinción.	40

Figura	Página
6.3 La inhibición de la síntesis de proteínas en la CI evita la consolidación de la extinción.	41
6.4 La inhibición de la síntesis de proteínas en la ABL no tiene efecto en la consolidación de la extinción.	42
6.5 Protocolo del experimento 2.	43
6.6 La inhibición de la síntesis de proteínas en la CI evita la integración de nueva información y además afecta la memoria previamente consolidada.	45
6.7 Protocolo del experimento 3.	46
6.8 La inhibición de la síntesis de proteínas en la CI no tiene efecto en la memoria de extinción cuando se ha llegado a meseta.	48

RESUMEN

La consolidación es el proceso por el cual la memoria se almacena a largo plazo, mediante la síntesis de proteínas. Sin embargo, existe evidencia que sugiere que una información ya consolidada es susceptible de ser alterada después de su evocación. Este proceso se llama reconsolidación. Recientemente se ha propuesto que la reconsolidación no es un segundo proceso de consolidación inducido por la evocación de la memoria, sino un proceso de actualización de la memoria a largo plazo que requiere de la síntesis de proteínas. Para evaluar esta hipótesis se utilizó un modelo de extinción de una memoria de aversión gustativa. La extinción corresponde a una disminución en la frecuencia o intensidad de una respuesta condicionada (RC) debido a presentaciones consecutivas del estímulo condicionado (EC) en ausencia del estímulo incondicionado (EI). En este trabajo se entrenaron a grupos independientes de ratas en la tarea de condicionamiento de aversión a los sabores (CAS) por dos días y se les inyectó anisomicina (un inhibidor de la síntesis de proteínas) o solución vehículo en la corteza insular (CI) o en la amígdala basolateral (ABL) inmediatamente después del primer día de entrenamiento de extinción. La prueba se realizó 24 horas después de las microinyecciones. Con este experimento se verificó la necesidad de la síntesis de proteínas en la CI (pero no así en la ABL) para el almacenamiento a largo plazo de la memoria de extinción. Después se realizaron inyecciones de anisomicina o solución vehículo en la CI en el tercer (condición de actualización) o sexto día de entrenamiento de extinción (condición donde no existe actualización). Conjuntamente, estos experimentos demostraron que la CI es requerida para la incorporación de nueva información a un trazo de memoria previamente consolidado mediante la síntesis de proteínas. Los resultados son de importancia porque hasta la fecha no se había reportado que la memoria de extinción a largo plazo atravesara por un proceso similar al de reconsolidación y menos aún, que este proceso fuera dependiente de la actualización de la memoria.

I. INTRODUCCIÓN

Los seres humanos, así como el resto de los animales, responden a las exigencias del medio y se adaptan a él. Estas habilidades son el resultado de los procesos que permiten a los animales adquirir y almacenar la información que reciben continuamente. Dichos procesos son el aprendizaje y la memoria (Dudai, 1993). El aprendizaje se define como la capacidad de adquirir conocimiento y comúnmente da como resultado cambios en la conducta. Al proceso por el cual es almacenado y recuperado ese conocimiento a lo largo del tiempo se le denomina memoria (Kandel *et al.*, 2000). Las experiencias nos cambian; nuestra interacción con nuestro medio ambiente puede modificar nuestra conducta. Nuestra experiencia previa y la capacidad de aprender nos permiten hallar comida cuando tenemos hambre, calor cuando tenemos frío y compañía cuando estamos solos. La falta de memoria implica la pérdida de contacto con uno mismo, con su vida histórica y con la de los demás. El estudio del aprendizaje y la memoria ha sido, desde hace mucho tiempo, un tema de la psicología y de otras disciplinas; ámbitos que han permitido el análisis conductual tanto en humanos como en distintos modelos animales. Gracias a esto se ha establecido que la memoria abarca tres fases (Kesner y Rogers, 2004) descritas a continuación:

- A. Adquisición o Codificación. Considerada como la entrada de nueva información para ser procesada (Kesner y Rogers, 2004).
- B. Consolidación. Es la transformación de la información de corto plazo a largo plazo, mediante la síntesis de proteínas (McGaugh, 2000).
- C. Evocación. Es la expresión de conductas por la experiencia, involucra la recuperación de la información almacenada (Baddeley, 1999).

En la actualidad se ha propuesto que la información almacenada, genera cambios estructurales y funcionales en ciertas regiones del cerebro. A esto se le ha llamado trazo de memoria (Tronson y Taylor, 2007). Los trazos de memoria representan el sustrato biológico para la formación de una memoria.

II. ANTECEDENTES

2.1 La consolidación

El estudio formal y sistemático de la memoria inició con los estudios realizados por el alemán Hermann Ebbinghaus durante el siglo XIX. Este investigador completó una serie de experimentos utilizando materiales verbales conocidos como las sílabas sin sentido. En su obra “Über das Gedächtnis” (Acerca de la memoria), propuso la primera clasificación de memoria con base a su duración (Hotershall, 1999). Años más tarde, William James formalizó en su obra “Principios de Psicología” esta clasificación e hizo la distinción entre dos tipos de memorias: memorias primarias y memorias secundarias (Prado y Quirarte, 1998). En la actualidad se hace referencia a dos tipos de memoria análogos a los propuestos por James; la memoria de corto plazo (MCP), cuando es de duración corta (segundos u horas) y, la memoria de largo plazo (MLP) si su duración es mayor, por ejemplo días, meses o hasta años (Dudai, 1993). La información adquirida existe primero en una forma lábil, susceptible a la interrupción; después se estabiliza y perdura en el tiempo en forma de MLP. La MLP se estabiliza mediante un proceso conocido como consolidación. Este término fue acuñado por los alemanes Müller y Pilzecker en una serie de trabajos experimentales a principios del siglo XX (citados en Dudai, 2004).

De acuerdo con la hipótesis de la consolidación, la información almacenada se estabiliza en un trazo de memoria y éste se fortalece a través del tiempo. Se ha demostrado experimentalmente que, distintos tratamientos (como los choques electroconvulsivos o la inhibición de la síntesis de proteínas) pueden interrumpir este proceso. Los primeros estudios de este tipo fueron reportados a finales de los años cuarenta por Duncan. Él reportó que la aplicación de choques electroconvulsivos después del entrenamiento producen un deterioro en la memoria. Sin embargo, cuando el mismo tratamiento fue aplicado en puntos progresivamente más distantes en el tiempo al entrenamiento, los animales mostraron una reducción significativa y gradual en el deterioro de la memoria (Duncan, 1949).

En las siguientes décadas, estos resultados fomentaron el desarrollo de múltiples estudios que demostraron que la administración farmacológica de inhibidores de la síntesis de proteínas después del entrenamiento ocasiona que la MLP se vea afectada (Flexner *et al.*, 1965). En contraste, la MCP no presenta ningún deterioro con el mismo tratamiento por ejemplo, la administración de acetocicloheximida (inhibidor de síntesis de proteínas) 5 horas antes del entrenamiento en una tarea de laberinto “T”. Los animales aprendieron que podían evitar una descarga eléctrica si se trasladaban a un brazo específico del laberinto. Cuando la prueba se realizó 3 horas después del entrenamiento, no se observó un deterioro en la MCP. Sin embargo, cuando la prueba fue realizada en horas posteriores o incluso días después, la memoria a largo plazo estaba severamente afectada (Barondes y Cohen, 1967). Como conclusión de estos trabajos, se estableció que la consolidación es el período durante el cual nuevas proteínas son sintetizadas en las neuronas para almacenar la información adquirida (McGaugh, 2000).

La hipótesis de la consolidación de la memoria es hasta ahora la visión más aceptada para explicar el almacenamiento de información a largo plazo. El proceso celular detrás de una MCP implica sólo la activación de cascadas de transducción, es decir un proceso por el cual una célula transforma una señal extracelular en una respuesta celular. Para la conversión a MLP, las señales de transducción llegan hasta al núcleo celular, en donde se produce el proceso de transcripción¹. Posteriormente otro proceso llamado traducción² del ARN, finalmente lleva a la síntesis de nuevas proteínas, la cual transforma alteraciones temporales de la transmisión sináptica en modificaciones persistentes de la arquitectura sináptica. A esto se le conoce con el nombre de consolidación celular o sináptica (Dudai, 2004).

¹ Transcripción El proceso por el cual se sintetiza una secuencia de ARN utilizando como molde el ADN (Alberts *et al.*, 2002)

² Traducción. Proceso que utiliza como molde una secuencia de ARN mensajero para sintetizar proteínas esto tienen lugar en los ribosomas (Alberts *et al.*, 2002).

2.2 Hipótesis de la Reconsolidación

Estudios a finales de la década de los sesenta plantearon que una memoria previamente consolidada se encuentra nuevamente en un estado lábil tras ser evocada (Nader, 2003). A la necesidad de volver a consolidar una memoria se le ha llamado recientemente reconsolidación (Sara, 2000). El primer estudio sobre este proceso fue realizado por Misanin *et al.* (1968), quienes entrenaron a varios grupos de ratas en una variante de la tarea de condicionamiento del miedo.³ Las ratas fueron habituadas a beber de una botella en la cámara en donde después se llevó a cabo el entrenamiento (asociación tono-choque eléctrico). En la prueba se presentó nuevamente el tono; una reducción importante en el número de lengüetazos a la botella durante la presentación del tono fue la variable que se utilizó como reflejo de memoria.

En este experimento se aplicó un tratamiento de choques electroconvulsivos para inducir amnesia. A un grupo se le aplicó el tratamiento inmediatamente después del entrenamiento y se observó deterioro en su desempeño de largo plazo (el efecto esperado sobre la consolidación). Otro grupo fue entrenado y un día después se evocó la memoria (cuando ésta ya había sido consolidada) presentando el tono nuevamente. Inmediatamente después de la evocación se aplicaron los choques electroconvulsivos. Sorpresivamente, el resultado fue también un deterioro en la memoria de largo plazo. Este fenómeno fue llamado amnesia dependiente de clave (cue-dependent amnesia). Un control importante en este estudio fue un grupo de animales al que se entrenó y un día después se le aplicó los choques electroconvulsivos en la ausencia de evocación. A diferencia del grupo anterior, estos animales no tuvieron deterioro de la memoria de largo plazo (Misanin *et al.*, 1968). Años más tarde el mismo grupo de investigación, replicó el mismo efecto en distintos tipos de memorias (Lewis *et al.*, 1973).

³ El animal es colocado en una cámara donde tras escuchar un tono (estímulo condicionado) recibe una descarga eléctrica en las patas (estímulo incondicionado). Después de varias asociaciones entre estos dos estímulos se da como resultado la respuesta condicionada. La respuesta condicionada se manifiesta cuando se presenta el tono en la cámara; el animal despliega una conducta de inmovilidad (freezing). El porcentaje del tiempo en que el animal permanece inmóvil durante la presentación del tono se utiliza como índice de memoria.

Con base en estos resultados, el grupo de Lewis sugirió un modelo que plantea que, en el fenómeno de amnesia dependiente de clave, la memoria evocada regresa a un estado lábil similar a la recién adquirida, teniendo la memoria dos estados: activa (susceptible a ser alterada) e inactiva (no susceptible a ser alterada) (Lewis, 1979). El fenómeno amnesia dependiente de clave fue retomado recientemente con el nombre de reconsolidación (Nader, 2003).

Los reportes experimentales acerca del fenómeno de reconsolidación son escasos durante las dos décadas siguientes. Sin embargo, a finales de los noventa, los trabajos de Susan Sara y colaboradores retomaron el interés por el tema. Ellos entrenaron ratas en una tarea de laberinto radial de ocho brazos e inyectaron MK801 (un antagonista de los receptores NMDA de glutamato) vía intraperitoneal (i.p.) después de la evocación y observaron que se deterioró la memoria cuando la midieron a las 24 horas de la evocación (Przybylski y Susan, 1997). El mismo grupo reportó, en el mismo modelo de memoria, que la aplicación i.p. de propranolol (un antagonista de receptores β adrenérgicos) produce un efecto similar cuando es inyectado después de la evocación de la memoria (Przybylski *et al.*, 1999).

En el año 2000, Nader y colaboradores demostraron que una memoria previamente estabilizada al ser evocada es susceptible a la inhibición de la síntesis de proteínas. Estos investigadores entrenaron ratas a asociar un tono y un choque eléctrico en la tarea de condicionamiento al miedo y realizaron una sesión de evocación 24 horas después del entrenamiento. A diferencia del trabajo previo de Misanin, se tomó como índice de memoria el tiempo de inmovilidad de los animales. Inmediatamente después de la evocación se inyectó anisomicina (un inhibidor de la síntesis de proteínas) en el núcleo basolateral de la amígdala. En estos animales se observó un deterioro en la conducta de inmovilidad al realizar una segunda evocación a las 24 horas. Este efecto incluso se observó 14 días después del entrenamiento. Estos datos han promovido una gran cantidad de estudios posteriores entorno al estudio del proceso de reconsolidación, aportando la mayoría evidencia a favor de este proceso general en diferentes especies incluyendo seres humanos (Walker *et al.*, 2003). De tal forma que la reconsolidación es

un proceso en el cual las memorias evocadas regresan a un estado de vulnerabilidad similar al de las recién adquiridas. Tal reactivación también induce la transcripción de *novo* (Strekalova *et al.*, 2003) y la inhibición de la síntesis de proteínas dentro de una ventana corta de tiempo después de la reactivación deteriora la memoria consolidada previamente (Debiec *et al.*, Milekic y Alberini, 2002; Taubenfeld *et al.*, 2001). Así, la reactivación de la memoria induce un segundo proceso de consolidación, que se ha nombrado reconsolidación. Véase en la figura 2.1

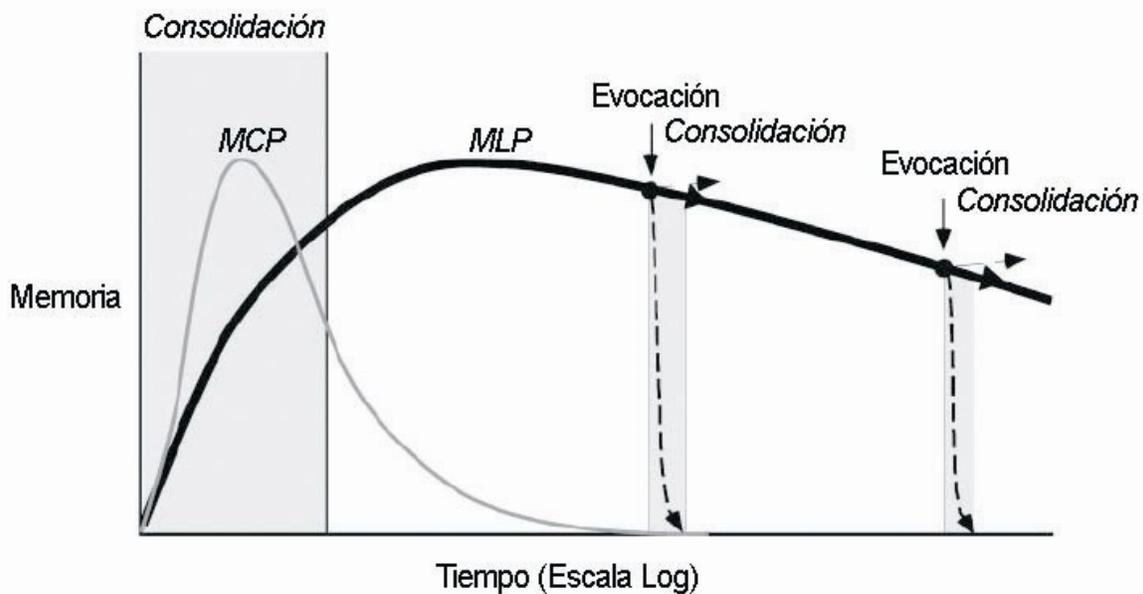


Figura 2.1 Representación esquemática del fenómeno amnesia dependiente de clave retomado recientemente con el nombre de reconsolidación (Nader, 2003). El proceso de consolidación permite estabilizar a las memorias recientemente adquiridas durante el transcurso del tiempo. La memoria a corto plazo (MCP) es transformada en memoria a largo plazo (MLP). La hipótesis de la reconsolidación plantea que memorias consolidadas al ser evocadas regresan a un estado lábil similar a las de las recién adquiridas. Modificado de Dudai, 2004.

2.3 El Fenómeno de extinción

Algunos de los estudios experimentales que abordan el proceso de reconsolidación han revelado que memorias consolidadas no son susceptibles a la interrupción después de su evocación (Cammarota *et al*, 2004). Sin embargo, estudios recientes demuestran que variables como el aumento en el número de entrenamientos y la duración de la evocación son aspectos relacionados con la susceptibilidad de las memorias a ser afectadas después de su activación (evocación) (Pedreira y Maldonado, 2003; Suzuki, *et al.*, 2004). Para estos estudios, se utilizó un fenómeno que en paradigmas del aprendizaje asociativo se conoce como extinción.

El término de extinción proviene de Ivan P. Pavlov quien observó una disminución acelerada de la respuesta condicionada (RC) en sus perros cuando presentaba el estímulo condicionado (EC, tono) sin el estímulo incondicionado (EI, comida), explicando esta extinción como un proceso que se establecía entre el EC y la ausencia del EI. Planteó que la extinción era un tipo de aprendizaje acerca de la inhibición de la respuesta ante el EC. (Domjan, 2003). La extinción experimental es un procedimiento que se realiza después del condicionamiento (asociación EC-EI). En la extinción se presenta sólo al estímulo condicionado en repetidas ocasiones sin asociarlo con el estímulo incondicionado. Como resultado se obtiene una asociación entre el estímulo condicionado y la ausencia del estímulo incondicionado (noEI) (Bouton, 2004). Conductualmente, en la extinción se observa la disminución de la respuesta condicionada. Por ejemplo, en el caso del condicionamiento al miedo, la respuesta condicionada es el tiempo que pasa el animal inmóvil del tiempo total que se presenta el tono; en la extinción, los animales dejan de estar inmóviles cuando se presenta el tono. El fenómeno de extinción queda ilustrado en la figura 2.2.

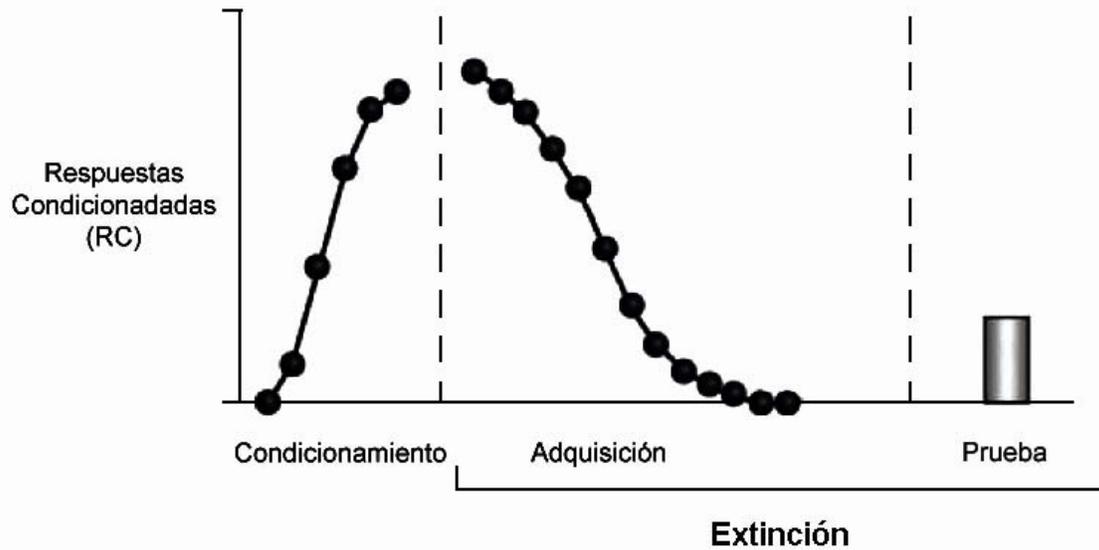


Figura 2.2 Esquema que muestra un condicionamiento previo y la extinción en su fase de adquisición. La intensidad de la RC (respuesta condicionada) disminuye como consecuencia de repetidas presentaciones del EC sin asociación al EI. La prueba ocurre en algún momento del tiempo mediante la presentación del EC y se observa como bajos niveles de la RC (Barra) (Modificado de Quirk y Mueller, 2008).

Durante la evocación de una memoria de condicionamiento (EC-EI) previamente consolidada se suele presentar exclusivamente al estímulo condicionado (EC) para activar a la memoria. Por consiguiente, el trazo de memoria EC-EI compite con el trazo EC-noEI por el control del comportamiento. Esta competencia ha sido explorada por Pedreira y Maldonado (2003) usando como modelo de estudio cangrejos que son entrenados en una tarea de memoria contextual. Cuando los cangrejos son colocados en un contexto particular se les hace pasar un objeto metálico arriba de la cabeza lo que provoca una conducta de escape. Cuando el estímulo se presenta en varias ocasiones, los animales cambian su conducta y ahora permanecen inmóviles ante la presentación del objeto (respuesta condicionada). El contexto es asociado con la presentación del objeto metálico y el tiempo de inmovilidad es usado como índice de memoria. A estos animales condicionados se les puede provocar extinción colocándolos en el contexto de entrenamiento sin el objeto. Pedreira y Maldonado condicionaron a cuatro grupos de cangrejos y en una sesión de evocación realizada 24 horas después, inyectaron un inhibidor de la síntesis de

proteínas (cicloheximida). La evocación consistió en colocar a los cangrejos en el contexto del entrenamiento. Dos grupos permanecieron en el contexto por 5 minutos y los otros por 60 minutos; después se inyectó, antes de realizar la conducta y de manera sistémica, el inhibidor de síntesis de proteínas o solución vehículo. Durante esta sesión se observó una diferencia importante entre los grupos, los sujetos inyectados con solución vehículo y expuestos por 5 minutos al contexto de entrenamiento no tuvieron extinción cuando se realizó la prueba 24 horas después. Sin embargo, el grupo expuesto por 5 minutos e inyectado con cicloheximida presentó un mal desempeño (los cangrejos no se inmovilizaron), esto es, se afectó la reconsolidación del condicionamiento. Por el contrario, los cangrejos inyectados con vehículo y expuestos por 60 minutos extinguieron la respuesta de inmovilidad (en la prueba no permanecieron inmóviles). Por el otro lado, el grupo con inhibidor y 60 minutos de exposición presentó un deterioro en esta conducta de extinción (en la prueba permanecieron inmóviles), en estos animales se interrumpió el proceso de consolidación de la extinción.

Estos datos fueron replicados por Eisenberg *et al.* (2003) en el mismo año en una tarea de condicionamiento de aversión a los sabores (CAS). En esta tarea un sabor nuevo es asociado con malestar gástrico. La respuesta generada por la aversión al sabor se refleja en una disminución del consumo de ese mismo sabor en una posterior presentación. Como en esta segunda presentación del sabor es asociado con el malestar, en una tercera presentación, los animales incrementan su consumo, es decir, extinguen la respuesta de aversión. Las ratas que fueron entrenadas en la tarea de aversión al sabor, se les inyectó con anisomicina (inhibidor de síntesis de proteínas) en la corteza insular inmediatamente después de consumir el sabor; como resultado no mostraron extinción en la siguiente presentación del sabor. Por el contrario, si se somete a las ratas a un protocolo de aversión en dos sesiones consecutivas, cuando se les presenta el sabor en una tercera y cuarta ocasión estos animales no extinguen la aversión. Bajo este protocolo, la inhibición de síntesis de proteínas en la tercera presentación produce una disminución en la conducta de aversión en la cuarta presentación. A diferencia del caso anterior, sólo en este protocolo el condicionamiento es más fuerte y susceptible a la reconsolidación; proceso que quedó al descubierto cuando se inyectó anisomicina y se observó un incremento en el consumo

en la prueba realizada días después (Figura 2.3). A partir de estos resultados, se sugiere que cuando la extinción es iniciada en la evocación, los tratamientos afectan la consolidación de la extinción. Por el otro lado, en ausencia de extinción, los tratamientos deterioran la reconsolidación del condicionamiento.

El trabajo de Suzuki *et al.* (2004), con estudios de condicionamiento al miedo en una variante de la tarea de asociación a un contexto, ofrece evidencia importante de que una presentación prolongada del estímulo condicionado durante la evocación conduce a la extinción y una exposición corta lleva a la reconsolidación. En el reporte de Suzuki *et al.* los animales fueron colocados en una cámara en donde recibieron varias descargas eléctricas en las patas. Como resultado se creó la asociación entre la cámara y los choques eléctricos y la respuesta de inmovilidad (freezing) se manifestó cuando los animales fueron nuevamente colocados en el contexto de entrenamiento en el siguiente día (evocación). En un experimento se observó que una exposición corta al contexto de entrenamiento (3 minutos) durante la evocación produjo reconsolidación en el condicionamiento y éste puede ser afectado por la inhibición de la síntesis de proteínas. En cambio, si el tiempo de exposición al contexto es prolongado (30 minutos) durante la evocación, éste conduce a la extinción, y su consolidación puede ser afectada por la inhibición de síntesis de proteínas.

De estos estudios se concluyó que la intensidad del trazo de memoria y la duración de la evocación (Pedreira y Maldonado, 2003; Suzuki *et al.*, 2004) están directamente relacionados con la susceptibilidad de la memoria a ser afectada después de su reactivación (evocación). Además de que esto ha sugerido también que el proceso de reconsolidación y de extinción pueden ser distinguidos como procesos independientes y hasta contrapuestos (Tronson y Taylor, 2007).

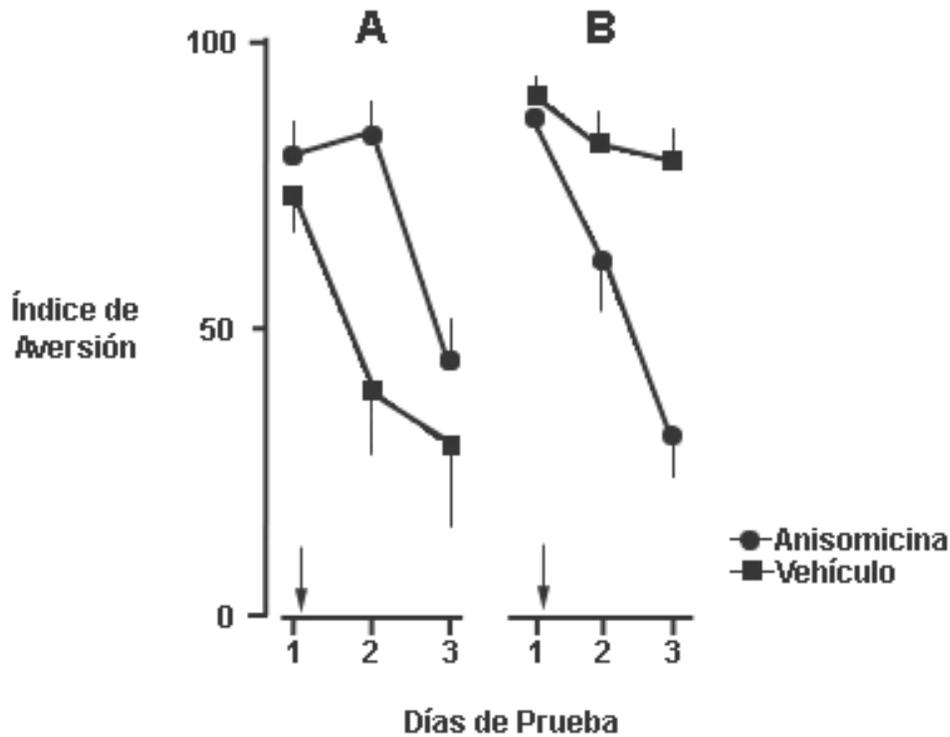


Figura 2.3 Efecto del inhibidor de síntesis de proteínas en el proceso de extinción del condicionamiento de aversión a los sabores y la reconsolidación del EC-EI. (A) En animales que recibieron una sola sesión de entrenamiento con microinyecciones de anisomicina (flecha) inmediatamente después del EC en la corteza insular (círculos negros) se interrumpió la extinción de aversión al sabor a diferencia de animales con solución vehículo (cuadrados negros) que presentan extinción. (B) Animales entrenados dos sesiones consecutivas e inyectados con solución vehículo (flecha) inmediatamente después del EC en la corteza insular presentan aversión al sabor a diferencia del grupo anisomicina (círculos negros) en el cual se interrumpió la reconsolidación del EC-EI. Índice de aversión al sabor definido como $\text{mL agua} / (\text{mL agua} + \text{mL sabor}) \times 100$ (Modificado de Eisenberg *et al.*, 2003).

2.4 Limitaciones de la hipótesis de la reconsolidación

El proceso de reconsolidación permite la estabilización de la memoria previamente estable posterior a su evocación, lo cual da pie a pensar que la reconsolidación es un proceso de recapitulación de la consolidación. Sin embargo, se han encontrado diferencias en los mecanismos moleculares involucrados en la consolidación y la reconsolidación, así como en las

estructuras que los llevan a cabo. En este sentido, Taubenfeld *et al.* (2001) reportaron que se requiere del factor de transcripción C/EBP β ⁴ en el hipocampo para la consolidación de la memoria de inhibición pasiva, pero no en la reconsolidación de la misma. Una serie de experimentos sugieren que la síntesis de proteínas en la amígdala central es requerida para la consolidación pero no para la reconsolidación de la tarea de condicionamiento de aversión a los sabores (Bahar *et al.*, 2004). Estas evidencias sugieren que la reconsolidación no se trata de una recapitulación de la consolidación, pero no responden cuál es el papel funcional de este proceso, que aún continua en controversia.

2.5 La reconsolidación: proceso de actualización de la información a largo plazo

Durante la reconsolidación, las memorias previamente consolidadas se estabilizan después de ser evocadas (Tronson y Taylor, 2007). Recientes reportes sugieren que esta estabilización es parte de un proceso de consolidación de actualización que se da después de la evocación y que permite la integración de información a un trazo de memoria de largo plazo (Rodríguez–Ortiz *et al.*, 2005, 2008; Morris *et al.*, 2006; Hupbach *et al.*, 2007). En una tarea de memoria gustativa, la atenuación a la neofobia (AN), los animales presentan un bajo consumo de un sabor nuevo (neofobia), esto implica que una vez que el organismo se familiariza con el sabor, la neofobia se atenúa y comienza a consumir más de ese sabor, revelando así, cierta preferencia por él (Domjan, 1976). Bajo este protocolo, la inhibición de la síntesis de proteínas en la corteza insular produce un efecto parcial sobre la memoria previamente consolidada tras su evocación (figura 2.4). Este efecto se mantiene hasta el punto de meseta conductual, esto es, cuando el animal ha alcanzado su desempeño máximo. Después de la meseta conductual no se puede afectar la memoria tras su evocación. Estos datos sugieren que la memoria ya no es vulnerable porque está ya consolidada y en este punto no existe información actualizada que necesite ser integrada, y por lo tanto consolidada. Asimismo, si después de la meseta conductual se adquiere información actualizada sobre el mismo estímulo (el sabor) se requiere nuevamente de la consolidación mediante la síntesis de proteínas. Estos resultados indican que la reconsolidación es más bien una

⁴ Siglas del inglés. (CCAAT enhancer binding protein β)

consolidación de actualización que se da después de la evocación y que permite la integración de información a un trazo de memoria de largo plazo (Rodríguez–Ortiz *et al.*, 2005).

Otro estudio utilizó el laberinto acuático de Morris, en donde los animales aprenden la localización de una plataforma de escape dentro de una tina llena con agua. La plataforma no es visible dentro de la tina y se requiere del uso de claves espaciales dentro del cuarto para encontrar la plataforma de salida. Al igual que en la tarea de memoria gustativa, se requiere de varios ensayos para alcanzar un máximo desempeño en la tarea. Ratas medianamente entrenadas (3 días de entrenamiento) con inhibición de la síntesis de proteínas en el hipocampo (inyecciones de anisomicina) durante la evocación presentaron una deficiencia en la memoria consolidada. En comparación, ratas bien entrenadas (5 días de entrenamiento) a las que se les inyectó anisomicina durante la evocación no presentaron este deterioro (Rodríguez-Ortiz *et al.*, 2008).

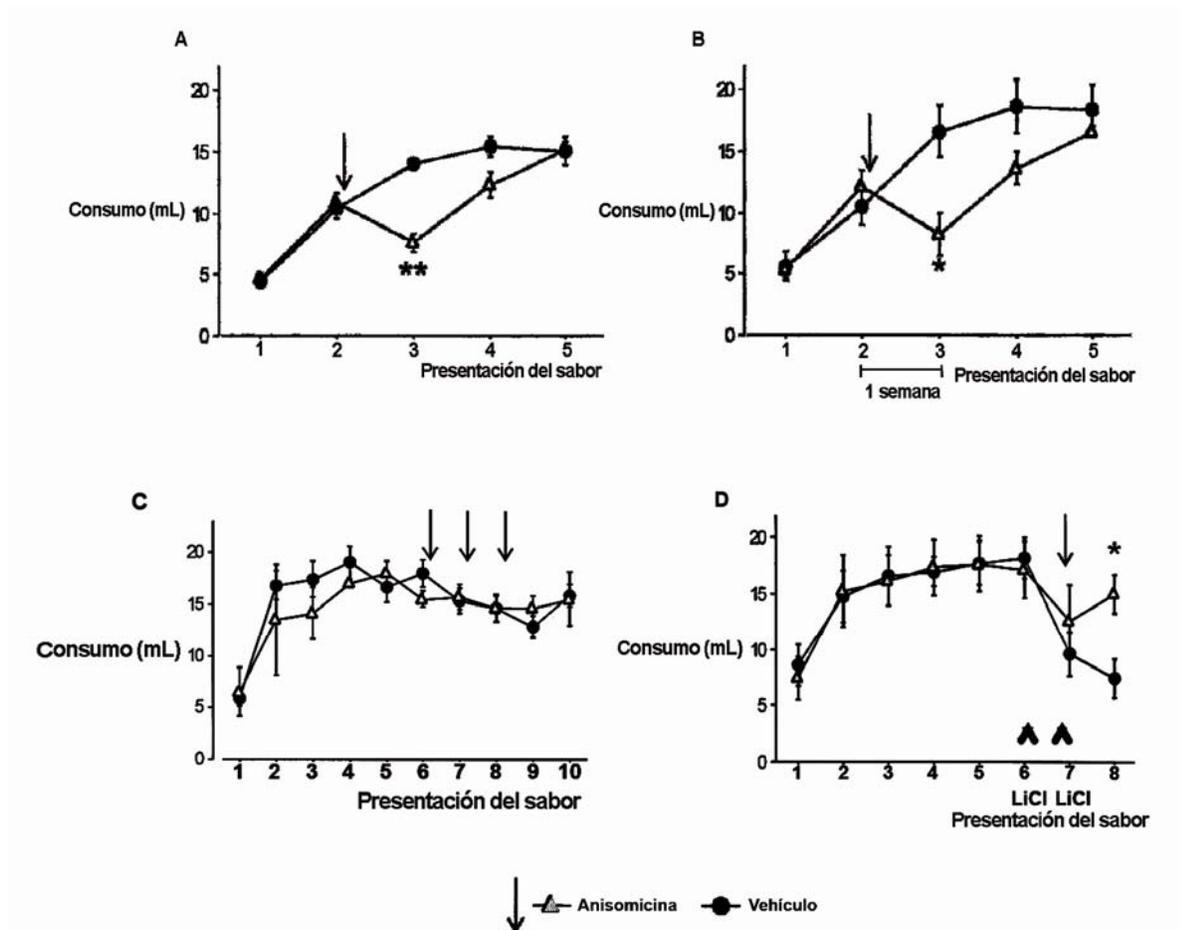


Figura 2.4 Efectos de la inyección de anisomicina en la corteza insular. (A) Con inyecciones inmediatamente después de la segunda presentación de un sabor se afectó parcialmente la memoria previamente consolidada (baja en el consumo con respecto al consumo anterior, triángulos) (** $p < 0.01$). (B) La inhibición de la síntesis de proteínas interrumpe parcialmente la memoria consolidada con una demora de una semana. (* $p < 0.05$) (C) Las inyecciones de anisomicina no interrumpen la memoria en la asíntota de la tarea, a pesar de realizarlas por tres días consecutivos. (D) Efecto de la inhibición de la síntesis de proteínas en condiciones donde se integra nueva información sobre el estímulo gustativo (* $p < 0.05$). Las flechas indican inyección de anisomicina o vehículo en la corteza insular. Puntas de flechas indican inyección i.p. de cloruro de litio (LiCl) (Modificado de Rodríguez Ortiz *et al.*, 2005)

En otro estudio realizado por Morris y colaboradores (2006) se entrenó a ratas en un laberinto acuático. Para obtener condiciones de actualización las ratas fueron entrenadas por 6 días con la plataforma colocada en diferentes posiciones cada día. 72 horas después del último entrenamiento se realizó la evocación e inyección de anisomicina en el hipocampo con la plataforma colocada en la misma posición que el último día de entrenamiento. Bajo estas condiciones se observó un deterioro de la memoria en el día de la prueba. En cambio, cuando la localización de la plataforma fue constante durante los 6 días de entrenamiento, las inyecciones intrahipocampales después de la evocación no causaron un deterioro en la memoria espacial.

Experimentos realizados por Hupbach *et al.* (2007) demostraron en humanos que la integración de nueva información permite la modificación de memorias consolidadas. En estos experimentos se le solicitó a 2 grupos de participantes aprender 2 diferentes listas de objetos en distintos días. En el día del entrenamiento se presentó la primera lista de objetos a todos los sujetos (día 1). En el día 2, al grupo con evocación se le preguntó del procedimiento de entrenamiento pero se les detuvo cuando comenzaron a recordar algunos objetos de la primera lista. A diferencia, el grupo sin evocación no se le preguntó acerca del procedimiento de entrenamiento. En la misma sesión se les presentó una segunda lista de objetos a ambos grupos. En el día de la prueba (día 3) se solicitó a los participantes que recordaran la primera lista y se observó que el número de objetos recordados de la primera lista no era diferente entre los grupos. Sin embargo, se observó que el grupo con evocación mezclaba los objetos de la lista 1 con los de la segunda lista (intrusiones). En cambio, los participantes del grupo sin evocación presentaron pocas intrusiones. Este experimento comprueba que la reactivación de una memoria consolidada para una primera lista es modificada por la presentación de una segunda lista con nueva información. En otro experimento del mismo estudio se realizó el mismo procedimiento de entrenamiento, con la diferencia de que en el día de la prueba se pidió a los participantes que recordaran los objetos de la segunda lista. Los resultados mostraron que el grupo con evocación presentó pocas intrusiones de objetos de la primera lista en el día de la prueba. La evocación no afectó la consolidación de la memoria de la segunda lista. Como conclusión de este trabajo se

sugiere que durante el proceso de reconsolidación, la reactivación de una memoria consolidada es susceptible a ser modificada lo que permite incorporar nueva información.

Estas evidencias son consistentes con la noción de que la reconsolidación es más bien, un proceso donde la memoria previamente consolidada puede ser actualizada. Sin embargo, un reporte en el año 2005 indica que la reconsolidación y la integración de nueva información son procesos distintos. Tronel *et al.* (2005) condicionaron a ratas utilizando una luz y un lugar como estímulos condicionados y un choque eléctrico como estímulo incondicionado. En el día de evocación se les colocó en un nuevo lugar (un tercer EC) y la luz fue presentada sin la asociación de choque eléctrico. Esto genera una nueva asociación entre el primer condicionamiento y el tercer EC, fenómeno conocido como condicionamiento de segundo orden. Ellos demostraron que el factor de transcripción⁵ C/EBP β (CCAAT enhancer binding protein β) es requerido en el hipocampo para la MLP del segundo condicionamiento. Sin embargo, si en la fase de evocación los mismos estímulos condicionados son presentados como en la adquisición, el C/EBP β es requerido en la amígdala para el mantenimiento de la MLP. La conclusión de este trabajo es que integrar nueva información sucede sin desestabilizar una memoria evocada. Es importante señalar que las diferencias moleculares encontradas por Tronel y colaboradores apoyan la noción de que la integración de información diferente (condicionamiento de segundo orden) no es lo mismo que el reforzamiento de un aprendizaje previo (evocación con los mismos EC presentados en la adquisición), pero no sustentan que la reconsolidación no sea un proceso para actualizar la memoria, esto es, la integración de diferente información (otro contexto llamado por ellos como incorporar nueva información) o del mismo tipo de información (llamado por ellos reconsolidación) no forzosamente deben de requerir de los mismos mecanismos moleculares en las mismas regiones. Como ya se mencionó, estos datos apuntan nuevamente a que la reconsolidación es parte de un proceso de actualización que permite que, durante la evocación, se incorpore información nueva a un trazo de memoria.

⁵ Factores de transcripción son proteínas que trabajan conjuntamente con otras proteínas en la regulación de la transcripción génica (Alberts *et al.*, 2002)

III. LA MEMORIA GUSTATIVA

La obtención de nutrientes es una de las actividades más importantes para los seres vivos y el organismo le dedica gran cantidad de tiempo y energía para conseguirlos, almacenarlos y consumirlos. Esta actividad se complica no solamente por la necesidad de localizarlos y recolectarlos o atraparlos, sino también por la existencia en la naturaleza de sustancias tóxicas que se encuentran en ocasiones mezcladas con ellos. Esto genera que los animales tengan la tendencia de consumir sólo aquellos alimentos que conocen, asegurándose así de consumir únicamente aquellos que no les han causado intoxicación (Rozin, 1977). Esto es realizado por sistemas sensoriales altamente especializados como el olfato y el gusto, los cuales detectan características químicas como la concentración y la temperatura de los que dependen la cualidad de un sabor (dulce, salado, amargo y ácido) (Smith y St John, 1999).

En el caso de los alimentos, cuando un animal se encuentra con un sabor nuevo titubea en comerlo, esto se refleja en un consumo reducido del mismo, a lo que se le llama respuesta neofóbica; a partir de ese momento y con base en las consecuencias que conlleve el consumo de ese sabor, se pueden formar dos tipos de memoria gustativa, una memoria segura o una memoria de aversión (Gutiérrez *et al.*, 2003a). Ambas memorias se determinan con base a las consecuencias postingestionales tras el consumo del alimento; una de las respuestas más observadas en muchas especies es la de evitar la ingesta de alimentos nocivos. Si los animales consumen el sabor novedoso y éste es acompañado de malestar gastrointestinal, el animal rechaza el alimento la próxima vez que sea presentado debido a que el animal asoció el malestar con el sabor del alimento ingerido, generando una aversión de larga duración; a esto se le conoce como condicionamiento de aversión a los sabores (CAS). El CAS es un paradigma de aprendizaje asociativo que consiste en la asociación de un estímulo gustativo (estímulo condicionado, EC) con las consecuencias negativas tras su consumo (estímulo incondicionado, EI). En el ámbito experimental, el malestar se produce mediante la administración de agentes como el cloruro de litio (García *et al.*, 1955; Bures *et al.*, 1998). En contraste se encuentra la atenuación de la neofobia (AN) (Domjan, 1976), tarea en la cual el animal aprende que el sabor es seguro (Kalat *et al.*, 1973; Gutiérrez *et al.*, 2003a). Estos dos tipos de memoria gustativa, memoria segura y

memoria de aversión, dependen de una representación neuronal del sabor, que puede ser procesada en paralelo en diversas regiones cerebrales cambiando su dirección hacia seguro o de aversión, dependiendo de las consecuencias que tuvo el consumo de un sabor. A esta representación neuronal se le ha llamado trazo de memoria del sabor (TMS) (Bermúdez-Rattoni, 2004), tal como se muestra en la figura 3.1.

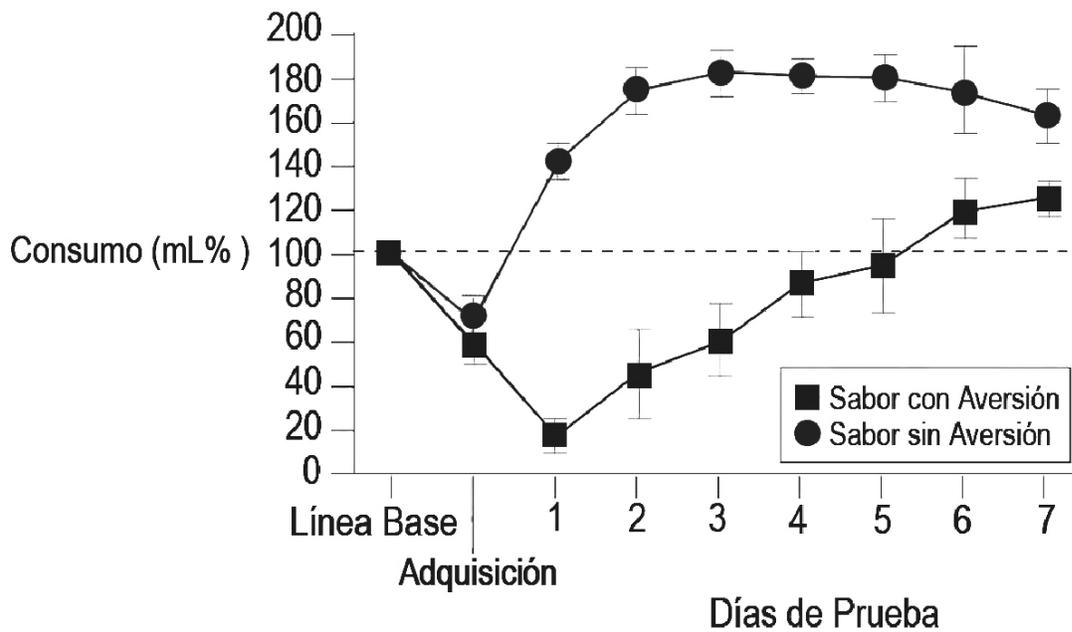


Figura 3.1 Trazos de memoria del sabor. Consumo de sacarina expresada en porcentaje de consumo de agua (línea base) durante la primera y subsecuentes presentaciones. Los cuadrados representan un grupo de animales que recibió la inyección de un agente que provoca malestar gástrico (LiCl). A partir de las siguientes presentaciones del sabor se puede observar la aparición de la extinción entendiéndose como un incremento del sabor como consecuencia de la adquisición de asociaciones del sabor sin malestar gástrico. Los círculos corresponden a un grupo que presentó atenuación de la neofobia (animales que no recibieron LiCl) (Modificado de Bermúdez-Rattoni, 2004).

El presente trabajo se enfocará en la memoria gustativa de aversión; así como en la extinción de la respuesta de aversión generada por el sabor. Particularmente la tarea del CAS ha sido una tarea de gran utilidad para conocer algunos de los mecanismos de la memoria debido a que se conocen las vías de ascenso y descenso de la información gustativa y visceral, y tiene la ventaja de ser un método experimental fácil de aplicar y que no requiere de muchos ensayos.

3.1 Condicionamiento de aversión a los sabores

El condicionamiento de aversión a los sabores (CAS) fue descrito en la década de los cuarenta por John García y colaboradores después de observar que animales expuestos a radiaciones desarrollaron aversión a cualquier alimento que se les diera dentro de las cámaras de radiación o bien, a cualquier estímulo relacionado con los efectos de las radiaciones. De modo tal que si dentro de las cámaras se daba agua con bebedero de metal y después se radiaba, jamás volvían a tomar agua con bebedero similar. Este rechazo resultaba de la asociación de las características físicas del bebedero con la aparición del malestar gástrico por las radiaciones. Este procedimiento se convirtió en el condicionamiento de aversión a los sabores. En la actualidad se emplea el sabor como estímulo novedoso y se asocia a irritantes gástricos como el cloruro de litio, tal como se esquematiza en la figura 3.2. Este condicionamiento se distingue de otro tipo de paradigmas de aprendizaje debido, al menos, a dos características importantes.

1. Aprendizaje en un solo ensayo. En muchas especies un solo consumo seguido por malestar es suficiente para generar aversión al sabor. Entre éstas se encuentran: ratas, coyotes y lobos (Bower, 1997). La novedad del sabor es quizá la variable con mayor influencia sobre la habilidad de los organismos para aprender CAS en un solo ensayo (Kalat, 1974).

2. Soporta intervalos de horas entre estímulos. Un animal puede aprender aversión a un sabor, aun cuando el malestar fue inducido horas después de terminado su consumo (Rozin, 1969). Por ejemplo, Revusky (1968) reportó un intervalo entre estímulos de 8 horas utilizando sacarosa e irradiación de rayos X. Hasta el momento se han descrito que intervalos que van desde minutos hasta 24 horas pueden inducir aversión. En otros casos se ha descubierto que intervalos muy pequeños no inducen aversión, por ejemplo. Schafe *et al.* (1995) al utilizar cánulas intraorales, para introducir directamente a la cavidad bucal el sabor e inyección intravenosa de apomorfina⁶ demostraron que un intervalo de 10 segundos entre estímulos no induce aversión al sabor comparada a la adquirida con intervalos de 15 ó 30 minutos.

⁶ Un agonista no selectivo de receptores dopaminérgicos tipo D₂ utilizado en el tratamiento de enfermedad neurodegenerativas de Parkinson (Haq *et al.*, 2007). También utilizado como EI en el entrenamiento del CAS: (Yamamoto *et al.*, 1998)

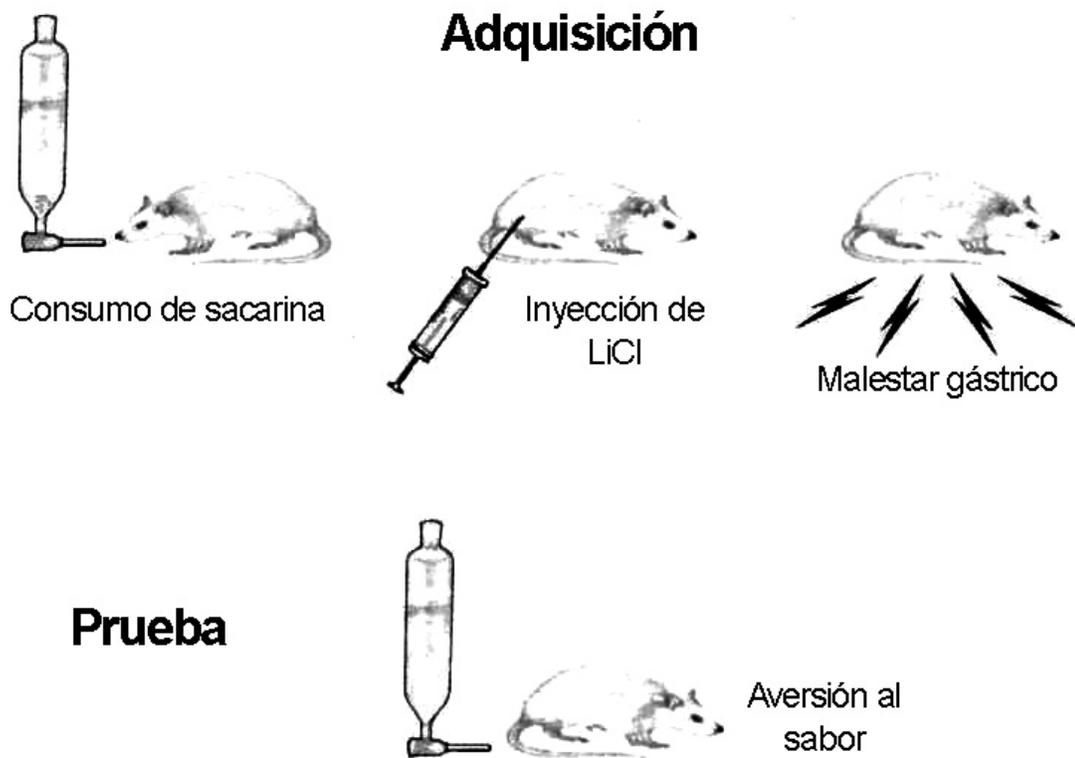


Figura 3.2 Esquema sintetizado del procedimiento conductual de condicionamiento de aversión a los sabores.

3.2 Relevos de la información en el sistema gustativo

3.2.1 Vías del procesamiento de información gustativa

La traducción química de un sabor ocurre en la cavidad oral cuando una sustancia hace contacto con las células receptoras que registran la cualidad y concentración del alimento. Los receptores gustativos están inervadas por 4 nervios craneales involucrados en la detección del sabor: el nervio facial (VII), nervio trigémino rama (V), nervio glossofaríngeo (IX) y el nervio vago (X); estos nervios terminan en el Núcleo del Tracto Solitario (NTS) (Saper, 2002; Bermudez-Rattoni, 2004).

La información gustativa llega al nervio facial a partir de las ramificaciones: cuerda del tímpano a través del ganglio ótico del nervio petroso mayor superficial y del nervio lingual (perteneciente a la tercer división del nervio trigémino), que inervan a las células fungiformes de la región rostral (2/3 partes) de la lengua (Saper, 2002). El nervio glossofaríngeo, cuyos cuerpos neuronales se encuentran en el ganglio geniculado, inerva también a la parte posterior de la lengua y parte de la región orofaríngea teniendo contacto con la mayoría de los receptores gustativos. Este nervio termina en la parte más caudal de la región rostral y medial del NTS (Bures *et al.*, 1998). La información gustativa, al igual que la visceral, respiratoria y pulmonar viaja del NTS al núcleo parabraquial. La gustativa es transportada de forma ipsilateral hasta la región posteromedial y lateral (Reilly 1999).

El núcleo parabraquial (PBN) podría ser el primer área donde se procesa la información gustativa y visceral (Baird *et al.*, 2001); puesto que, células gustativas registradas electrofisiológicamente en el PBN fueron moduladas por distensión gástrica. El núcleo parabraquial transporta la información por medio de dos rutas; una se conecta bilateralmente con la región parvicelular del núcleo talámico ventroposteromedial (núcleo gustativo del tálamo) que proyecta a la corteza insular y al núcleo parasubtalámico, en el cual confluye la información gustativa y visceral del nervio glossofaríngeo y vago, provenientes del NTS y manda la información a la corteza insular (Goto y Swanson, 2004). La otra vía es por medio del sistema

límbico, conectándose con la amígdala central (Sakai y Yamamoto 1999), núcleo de la estría terminalis del tálamo, hipotálamo lateral y sustancia inominata, que envían la información a la corteza insular (Reilly, 1999). El núcleo parabraquial envía axones al tálamo ventroposteromedial parvicelular o tálamo gustativo de forma bilateral, al igual que al núcleo parasubtalámico, cuya función es modular la respuesta digestiva y metabólica puesto que adquiere información de aferencias viscerales, gustativas del NTS y PBN e información olfativa a través de la amígdala (Goto y Swanson, 2004).

Las proyecciones del núcleo parabraquial al sistema límbico (cerebro anterior) son bidireccionales y se ha visto que la amígdala, hipotálamo lateral y corteza insular modulan la respuesta gustativa en el PBN y NTS. La estría terminal del tálamo es una estructura perteneciente al cerebro medio y manda gran cantidad de proyecciones al núcleo accumbens (región caudal), algunas de estas fibras continúan en la región ventromedial del núcleo accumbens y rostral, para terminar en las capas profundas del tubérculo olfativo y en el extremo rostral del núcleo septal lateral (Dong Hong-Wei y Swanson, 2004).

3.2.2 Vías del procesamiento de información visceral

La información gastrointestinal viaja a través del nervio vago e inerva entre otras estructuras viscerales, al tracto gastrointestinal, desde el esfínter del esófago hasta el colón (Andrews y Sanger, 2002). De allí, la información es llevada a dos regiones del tallo cerebral y al núcleo dorsal del vago, el cual también tiene comunicación con algunas fibras secundarias del nervio glosofaríngeo, centro olfativo y vestibular, que llevan a su vez, información olfativa aunada a la gustativa produciendo reflejos de salivación, secreción de jugos gástricos o vómito (Enríquez Frodden, 1985). Las aferencias gastrointestinales ocupan la parte caudal, intermedial, y central del NTS. La información del nervio vago también proviene de la vía hemática arribando al área postrema, un órgano circunventricular sensible a las toxinas presentes en sangre, y de ahí al NTS, formación reticular medular y núcleo parabraquial. El NTS proyecta a la formación reticular medular (ventrolateral caudal), incluyendo a la zona parvicelular que integra tanto

información gustativa como gastrointestinal. También manda información al núcleo parabraquial lateral y en menor cantidad a la amígdala central (prioritariamente región lateral y medial), conectándose de forma ipsilateral (Spray y Bernstein, 2004). El núcleo parabraquial lateral manda información visceral al tálamo, principalmente a la región ventroposterolateral, al núcleo parvicelular, la zona inserta (Sakai y Yamamoto, 1999), corteza insular región agranular, amígdala central región lateral (McDonald, 1999) e hipotálamo lateral (Reilly, 1999). El complejo amigdalino es componente indispensable para la evaluación de la relevancia de la información externa e interna del cuerpo, una vez que ha sido reconocida, la amígdala puede coordinar una respuesta conductual (Wright *et al.*, 1996). Las vías de procesamiento gustativo y visceral se presentan de manera esquemática en la figura 4.1

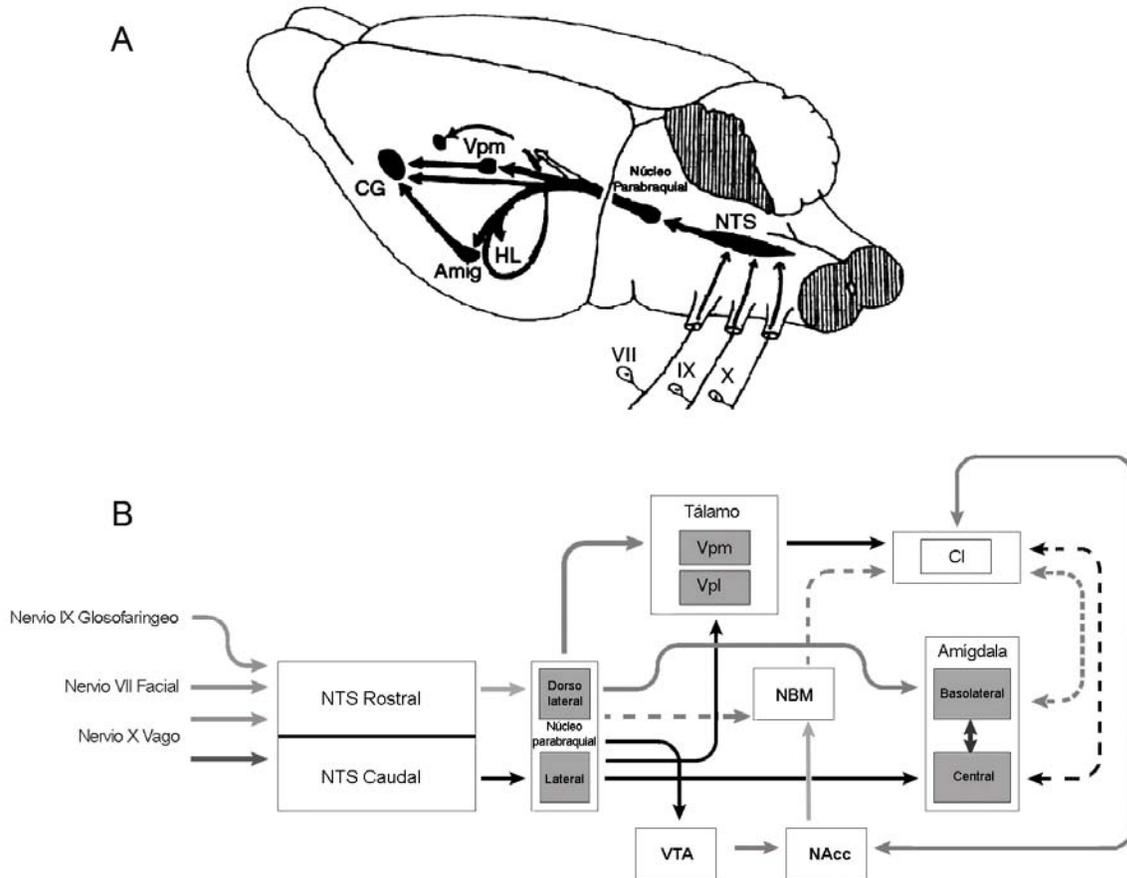


Figura 3.3 **(A)** Principales relevos de la información gustativa y visceral en el cerebro de la rata. Pares de Nervios Craneales: Facial (VII), Nervio Glossofaríngeo (IX) y Nervio Vago (X). Núcleo del tracto solitario (NTS). Núcleo parabraquial del puente. Región ventroposteromedial del tálamo. Área hipotalámica lateral (HL). Amígdala (Amig). Corteza gustativa localizada en la región disgranular de la corteza insular (CG). Modificado de Yamamoto, *et al.*, 1998 **(B)** Diagrama esquemático de las vías gustativas y viscerales. Núcleo del tracto solitario (NTS). Subnúcleo dorso lateral del núcleo parabraquial. (sdl). Subnúcleo exterior lateral del núcleo parabraquial (sle). Núcleo basalis magnocellularis (NBM). Corteza insular (CI). Núcleo ventroposterolateral del tálamo (vpl). Núcleo ventroposteromedial del tálamo (Vpm). Área ventral tegmental (VTA). Núcleo accumbens (NAcc) Las líneas negras representan axones que llevan la información visceral; las líneas grises representan axones que llevan la información gustativa; las líneas punteadas representan proyecciones que participan en la aversión al sabor pero cuya modalidad sensorial es desconocida. La información gustativa es enviada a través de los nervios craneales hasta el núcleo del tracto solitario y posteriormente enviada al núcleo parabraquial en el sdl cuyas fibras se conectan con Vpm del tálamo; algunos axones se conectan con la región disgranular-agranular de la corteza insular (CI) (Modificado de Bermúdez Ratonni, 2004 y Ramirez Lugo *et al.*, 2007).

3.3 La corteza insular: organización estructural

La corteza insular (CI) es una región que está relacionada con el procesamiento y almacenamiento de la información gustativa. En el cerebro de la rata, se encuentra en la superficie lateral del hemisferio cerebral, en la región dorsal del *surco rinal rostral* a la *corteza perirrinal*, por donde cruza la *arteria cerebral media*.

Histológicamente se divide en tres regiones, agranular, disgranular y granular debido a la presencia de neuronas granulares (véase en figura 4.3). La corteza insular comprende un área de 3 mm y 1 mm en ratas por encima y a lo largo del surco rinal alrededor de la arteria media (Braun *et al.*, 1982). La región más ventral (disgranular) está relacionado con el sistema gustativo (Yamamoto *et al.*, 2006). Es una estructura importante tanto para la detección del sabor como de los efectos viscerales posteriores. La corteza gustativa (CG) presenta conexiones recíprocas con la amígdala y con el núcleo parabraquial.

Estructuralmente la CI en humanos se localiza en la profundidad del surco lateral, con una apertura dentro de esta región que es frecuentemente referida como el lumen ínsula (véase en la figura 4.3). La organización celular de la ínsula en humanos se compone de tres regiones continuas de corteza divididas. La porción ventral contiene a la corteza agranular mientras que la ínsula caudal es granular. Entre estas dos regiones se ubica una zona de transición disgranular (Mesulam y Mufson, 1982). La corteza de la ínsula ventral consiste de tres estratos celulares, los cuales contienen agregados de células no granulares.

Muchas de las conexiones de la ínsula son recíprocas. La ínsula posterior tiene conexiones con el área suplementaria motora, la corteza somatosensorial primaria y secundaria, la corteza auditiva primaria y secundaria. Todas las conexiones de la ínsula poseen conexiones con el lóbulo temporal medial y regiones cinguladas (Flynn *et al.*, 1999).

Estudios electrofisiológicos en ratas realizados por Yamamoto *et al.* (1989) muestran que la corteza insular disgranular presenta características diferenciales en cuanto a estimulación por

medio de un sabor determinado. Las neuronas que se estimulan preferentemente con un sabor dulce se encuentran en la parte rostral, y con quinina primordialmente en la región caudal y en la región granular. Esto ha sugerido que la CI es una región de la percepción gustativa, que no está exenta de recibir otro tipo de información sensorial, por lo que es considerada como una estructura multimodal en donde se procesan las señales sensoriales.

La CI recibe proyecciones de acetilcolina provenientes principalmente del núcleo Magno Basalis Cellularis (NBM) y de fibras glutamatérgicas provenientes de amígdala, tálamo y de conexiones corticocorticales (Davis *et al.*, 1994). Existe evidencia de que algunos de estos sistemas de neurotransmisión tienen un papel en la memoria gustativa. Por ejemplo, en un estudio realizado por Berman *et al.* (2000), se probó el efecto de la microinyección en la corteza insular de agonistas y antagonistas de neurotransmisores y de neuromoduladores identificados en la activación de cinasas⁷ ERK1-2 (Extracellular signal regulated kinases) ante un sabor novedoso y en la adquisición de la memoria gustativa. Además, sólo las vías de entrada glutamatérgicas y colinérgicas funcionan específicamente en la activación ante estímulos novedosos, dependientes de ERK1-2 en la corteza insular. Los datos también sugieren que el nivel de actividad basal de ERK1-2 en la corteza insular se mantiene por el equilibrio entre las entradas glutamatérgicas, dopaminérgicas y GABAérgicas (Berman *et al.*, 2000).

Otras investigaciones han demostrado que el bloqueo intracortical de los receptores de NMDA interrumpe la formación de la memoria en las fases iniciales (adquisición y consolidación) pero no la consolidación del CAS o la evocación de la memoria, sugiriendo que estos receptores están involucrados en los procesos tempranos que tienen lugar en la corteza insular durante la formación y recuperación de la memoria por condicionamiento al sabor

(Gutiérrez *et al.*, 1999). Estudios realizados aplicando un antagonista de receptores muscarínicos de acetilcolina (escopolamina) en la corteza insular, antes o después de la presentación de un estímulo gustativo novedoso demuestran que el uso de escopolamina antes, pero no después, o en

⁷ Proteínas cinasas Enzimas que transfieren grupos fosfato (cedidos por la molécula trifosfato de adenosina o ATP) uniéndose a ciertas proteínas de manera tal que la función de dicha proteína se modifica. (Alberts *et al.*, 2002)

el intervalo entre el estímulo condicionado y el incondicionado, produce un deterioro significativo en las memorias de corto y largo plazo (Ferreira *et al.*, 2002)

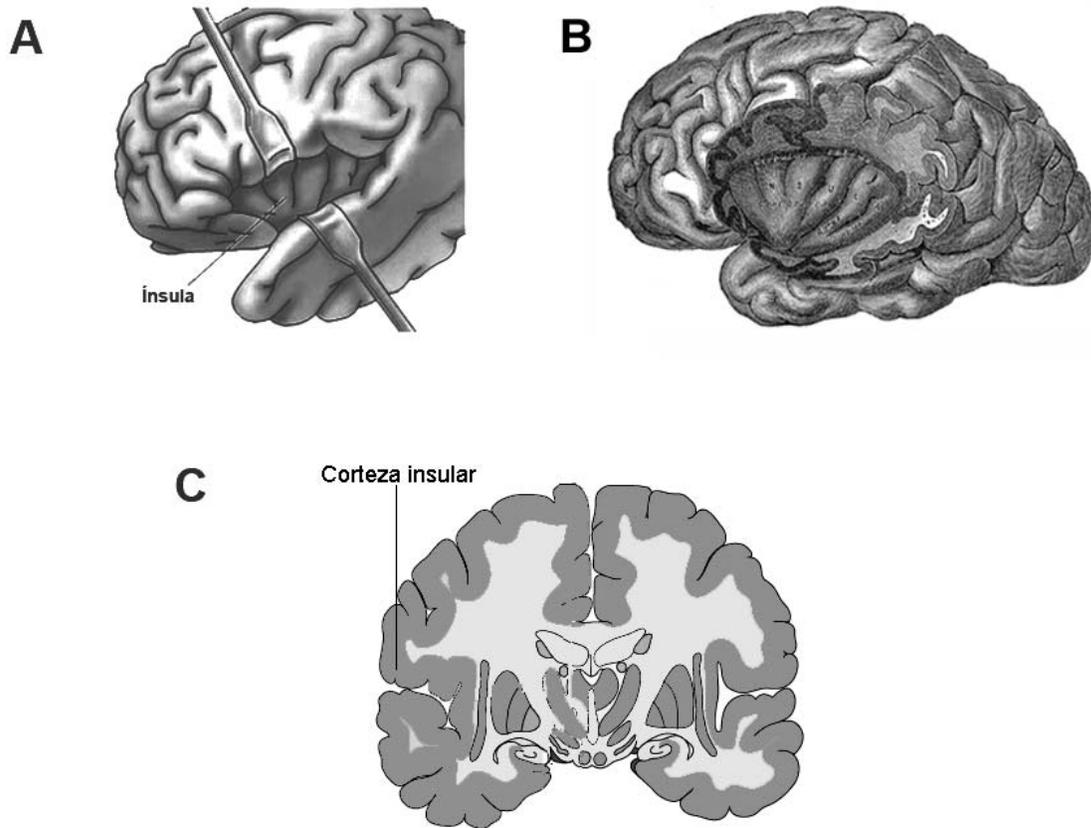


Figura 3.4 (A) La corteza insular en el humano se encuentra localizada profundamente en la superficie lateral del cerebro, dentro del surco lateral (fisura de Silvio) que separa los lóbulos frontales y temporales: La fisura lateral ha sido separada para dejando expuesta la ínsula (Modificado de Purves *et al.*, 2001). (B) La ínsula expuesta removiendo opercula, regiones corticales superpuestas que forman parte de los lóbulos frontal, temporal y parietal (Gray, 2000) (C) Sección coronal de cerebro humano (Modificado de Purves *et al.*, 2001)

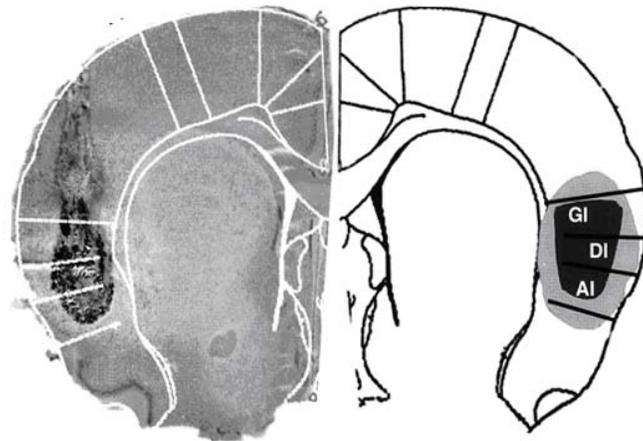


Figura 3.5 Representación de las capas de la corteza insular en rata. (GI) capa granular, (DI) capa disgranular, (AI) capa agranular. Sección Coronal + 1.2 mm de Bregma del Atlas estereotáxico del cerebro de rata de Paxinos y Watson, 1998 (Modificado de Berman *et al.*, 2000).

3.4 Amígdala: anatomía y funciones

La amígdala es un componente indispensable para la evaluación de la relevancia de la información externa e interna del cuerpo y puede coordinar una respuesta conductual (Wright *et al.*, 1996). La amígdala en ratas puede dividirse en cuatro grupos: (1) núcleo central (ACe); (2) núcleo medial; (3) núcleo basomedial y cortical (4) núcleos lateral y basolateral (ABL) (véase la figura 4.2) (Lamprecht *et al.*, 1997). La amígdala manda información al área hipotalámica lateral, PBN, médula ventrolateral y NTS, mayoritariamente a la región parvicelular y en menor proporción a la ventrolateral (Spray y Bernstein, 2004). La amígdala central tiene conexiones con NTS, PBN, CI región agranular y el complejo talámico posterior intra laminar (zona inserta). Las neuronas del núcleo central, región lateral, responden mayoritariamente a información cardiovascular y visceral provenientes de la ínsula granular, disgranular visceral y agranular posterior (McDonald, 1999). La ABL recibe información viscerosensorial de corteza insular, complejo talámico posterior intra laminar y del núcleo central de la amígdala. La ABL tiene

algunas pocas proyecciones al núcleo accumbens central (región medial), el cual manda la información a la sustancia nigra (región rostral), que la envía al tálamo medial y éste a la corteza prefrontal, la cual puede controlar también la activación de centros autónomos de la médula oblonga y tallo cerebral. Es importante considerar las conexiones recíprocas entre la corteza insular y la amígdala, esta última relacionada en tareas de aversión como el condicionamiento al miedo y la prevención pasiva, así como con respuestas emocionales como el miedo y la agresión (LeDoux, 1993).

Las principales fuente de información sensorial hacia la amígdala provienen de la corteza cerebral (McDonald, 1998), estas proyecciones son glutamatérgicas (Ottersen *et al.*, 1986) y la mayoría son ipsilaterales y entran a la amígdala por medio de la capsula externa (Paxinos, 1995)

Existe evidencia de que algunos de estos sistemas de neurotransmisión tienen una participación en memoria. Se ha comprobado que la infusión de un agonista receptores muscarínicos como la oxotremorina o el 8-Br-cAMP, un análogo del segundo mensajero AMP_c monofosfato cíclico de adenosina, favorece la consolidación de la memoria, en pruebas con entrenamiento en una tarea de prevención pasiva, en el que los animales aprenden a evitar un contexto asociado con choques eléctricos. Miranda y McGaugh (2004), investigaron los efectos del 8-Br-cAMP y la oxotremorina (un agonista de receptores muscarínicos) en la corteza insular, administrados después de un entrenamiento en pruebas de prevención pasiva y durante la adquisición y consolidación del CAS. La infusión post-entrenamiento en CI de 0.3 µg oxotremorina y de 1.25µg de 8-Br-AMP incrementó la retención de la tarea de prevención pasiva. Infusiones de 8-Br-AMP, pero no de oxotremorina, en CI incrementaron la retención del CAS.

En este estudio también se examinó si la actividad noradrenérgica en la amígdala basolateral para ambos tipos de condicionamiento, era crítica para el incremento en la retención de la memoria. En ambos casos la infusión ipsilateral de propranolol, un antagonista beta-adrenérgico, administrado en la amígdala basolateral bloqueó el efecto que la administración de 8-Br-cAMP y oxotremorina producían en la corteza insular. Esto sugiere que dicha corteza está

implicada en la consolidación de la memoria en pruebas del CAS o de prevención pasiva, y que este efecto requiere una actividad noradrenérgica en la amígdala basolateral.

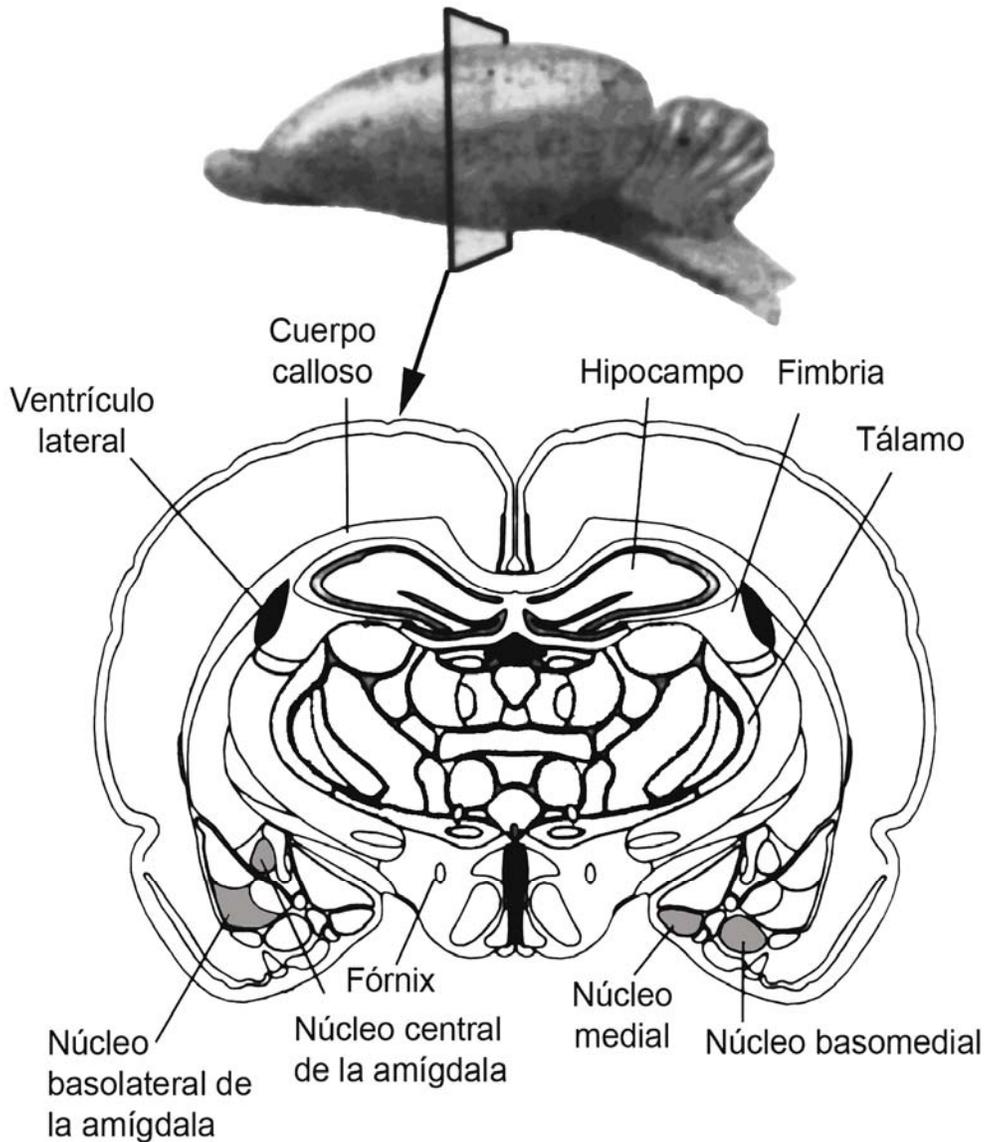


Figura 3.6 Sección coronal del cerebro de rata en la que se muestra la localización de la amígdala -2.5 de Bregma Atlas estereotáxico del cerebro de rata de Paxinos y Watson, 1998

3.5 Extinción Gustativa

La CI y la amígdala han sido involucradas en la adquisición y almacenamiento de diferentes tareas de aprendizaje entre las que se encuentra el CAS. Es interesante señalar que las interacciones entre la CI y la ABL pueden ser importantes en la formación de una memoria de aversión. Se ha comprobado que la participación de la corteza insular en la formación de la tarea del CAS requiere de la actividad intacta del núcleo de la ABL (Miranda y McGaugh, 2004).

Se ha descrito que lesiones bilaterales en la CI afectan la adquisición y consolidación del CAS (Braun *et al.*, 1982; Yamamoto *et al.*, 1995). Igualmente se ha observado que en esta región es indispensable la síntesis de proteínas para el almacenamiento a largo plazo de la tarea (Rosenblum *et al.*, 1993). De la misma forma, se ha reportado que la inhibición de la síntesis de proteínas en la CI evita la extinción del CAS, dejando intacta la memoria del condicionamiento después de su evocación lo que se refleja, a nivel conductual, como un buen desempeño en la respuesta de aversión al sabor (Berman y Dudai, 2001). Como a su vez, se ha comprobado que el bloqueo de receptores β adrenérgicos (Berman *et al.*, 2003) y de receptores a canabinoides (CB1) (Kobilo *et al.*, 2007) en esta región afectan la consolidación de la extinción gustativa.

Por otra parte, algunos estudios han demostrado que la participación de la amígdala es necesaria en el aprendizaje del CAS a través del núcleo basolateral (Yasoshima *et al.*, 2000). Además, otros reportes sugieren que la ABL juega un papel indispensable en la consolidación de la memoria de CAS (Miranda *et al.*, 2003). Bahar *et al.* (2003) demostraron que con la aplicación de anisomicina en la ABL se afecta el proceso de extinción de la tarea del CAS. Por el contrario, la inhibición de la síntesis de proteínas en la ACe no interrumpe la consolidación de la extinción (Bahar *et al.*, 2004).

IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

4.1 Planteamiento del problema

Dado los antecedentes presentados, la CI y la ABL participan en el almacén a largo plazo de la extinción de una memoria gustativa de aversión por medio de la síntesis de proteínas y dado a que la CI participa en el proceso de incorporación de nueva información a un trazo de memoria gustativo (el caso de la atenuación de la neofobia), entonces, la ABL y la CI podrían permitir la incorporación de nueva información a un trazo de memoria de extinción previamente consolidado, por medio de la síntesis de proteínas.

4.2 Hipótesis

La síntesis de proteínas es requerida en la corteza insular y la amígdala basolateral para la integración de información actualizada a la memoria de extinción gustativa.

El objetivo del presente trabajo es probar esta hipótesis mediante los siguientes objetivos específicos.

4.3 Objetivos Específicos

1. Replicar si la inhibición de la síntesis de proteínas en la corteza insular o la amígdala basolateral afecta la consolidación de un trazo de memoria gustativa de extinción.
2. En condiciones donde se actualiza la memoria gustativa de extinción, evaluar el efecto de la inhibición de la síntesis de proteínas en la(s) estructura(s) donde se observó efecto en el objetivo anterior.

3. En condiciones donde no se actualiza la memoria gustativa de extinción (asíntota de aprendizaje), analizar el efecto de la inhibición de la síntesis de proteínas en la(s) estructura(s) en las que se observó efecto sobre la consolidación de la extinción.

V. MÉTODO

5.1. Sujetos

Se utilizaron 85 ratas macho de la cepa Wistar de 270-300 g de peso, obtenidas del bioterio del Instituto de Fisiología Celular, UNAM. Se mantuvieron en cajas individuales en un ambiente de 22 ± 1 °C con un ciclo de 12 horas de luz/12 horas de oscuridad (luz 7.00 a.m.), sin restricción de comida. El consumo de líquidos sólo estuvo limitado durante los procedimientos conductuales. Todas las manipulaciones y procedimientos conductuales se realizaron durante la fase de luz.

5.2 Cirugía e implantación de cánulas

Los animales fueron anestesiados vía intraperitoneal (i.p.) con una mezcla de ketamina (76 mg/ Kg) y xilazina (8 mg/ Kg). Bajo anestesia, se les implantó cánulas bilateralmente de acuerdo a procedimientos estereotáxicos en la corteza insular (coordenadas: anterior 1.2mm, lateral ± 5.5 mm, y ventral 4mm con respecto a Bregma) o amígdala basolateral (coordenadas: posterior 2.8mm, lateral ± 5 mm, y ventral 6.5mm con respecto a Bregma) (Paxinos y Watson, 1998). Las cánulas se colocaron 2mm arriba del área de interés para evitar alteraciones por lesiones físicas. Mediante un soporte de dos tornillos y cemento dental se fijaron las cánulas al cráneo. Se protegió a las cánulas de posibles obstrucciones con la colocación de mandriles del mismo tamaño. Una vez terminada la operación quirúrgica, se dejaron a las ratas recuperarse por cinco días con alimento y agua sin restricción. El tiempo de recuperación post-quirúrgico antes de realizar el entrenamiento conductual ha sido utilizado con base en reportes previos (Gutiérrez, *et al.*, 2003; Ramírez-Lugo *et al.*, 2003b).

5.3 Fármacos

Se utilizó como vehículo una solución artificial de líquido cefalorraquídeo (125mM NaCl, 5 mM KCl, 1.25 mM NaH₂PO₄ ·H₂O, 1.5 mM MgSO₄ ·7H₂O, 26mM NaHCO₃, 10mM glucosa 2.5mM CaCl₂). Como inhibidor de la síntesis de proteínas se utilizó anisomicina (Sigma) a una concentración de 120 mg/mL, concentración basada en un estudio que demuestra efectos sobre la memoria gustativa de aversión a esta dosis (Rosenblum, 1993); a la cual se le agregó una cantidad equimolar de HCl y se disolvió en solución vehículo ajustando después el pH a 7.4.

5.4 Microinyecciones

Durante al menos tres días previos a la inyección, los animales se manipularon 3 veces por minuto para habituarlos al contacto con el investigador y evitar un estado de estrés el día de la microinyección, así como también para valorar el estado de salud de los mismos. La manipulación consistió en sacar a la rata de su caja, revisar los tapones (mandriles) de las cánulas y sujetarla suavemente simulando la infusión de los tratamientos. En el último día se colocó un inyector falso con las medidas de la aguja que se emplearía durante la infusión (14 mm de largo, con un diámetro de 0.012mm). Los fármacos se inyectaron bilateralmente inmediatamente después de consumir la sacarina. Las inyecciones se administraron mediante una aguja dental que fue introducida por cada cánula hasta llegar a la zona deseada, la aguja se encontró conectada, a través de una tubería de polietileno, a jeringas marca Hamilton de 10 µL montadas en una bomba automática de microinyección. El volumen administrado fue de 1 µL (CI) o 0.5 µL (amígdala) por hemisferio en un tiempo total de un minuto. Para permitir la completa difusión del fármaco, los inyectores fueron mantenidos un minuto más dentro de la cánula después de la inyección, de manera que todo residuo del fármaco hubiera sido absorbido por el tejido.

5.5 Histología

Para validar los datos conductuales, se realizó un estudio histológico para corroborar que el área afectada fuera la corteza insular y la amígdala basolateral. Finalizado cada experimento las ratas fueron sacrificadas con una sobredosis de pentobarbital y perfundidas a través de la aorta ascendente con solución salina isotónica (NaCl 0.9%) para evitar que el tejido se deteriorara por cambios osmóticos. Los cerebros fueron removidos y fijados con paraformaldehído al 4% en amortiguador de fosfatos durante 3 días. Posteriormente se cambiaron a una solución de amortiguador de fosfatos con sacarosa al 30 % por cinco días. Los cerebros se cortaron a 40 μm en un micrótopo de congelación y los cortes obtenidos fueron teñidos mediante la técnica de violeta de cresilo y observados en el microscopio de luz.

5.6. Procedimiento conductual

5.6.1. Condicionamiento de Aversión al sabor (CAS)

Se utilizaron como bebederos probetas graduadas de plástico de 50 mL con tapón de hule y pipeta de metal. Los animales se sometieron a una privación de agua durante 24 horas. En los siguientes tres días se les dio, en las mañanas (10:00 \pm 1 hora), 30 mL de agua durante 15 minutos, para obtener la tasa de consumo de líquido diario (línea base). El registro del consumo se tomó con una precisión de 0.5 mL. El cuarto día consistió en el consumo de una solución al 0.1 % de sacarina sódica durante 15 minutos; 15 minutos después del término del consumo se les inyectó, i.p., una solución de cloruro de litio (LiCl) 0.15 M (10 mL/ Kg) como irritante gástrico. 4 horas después las ratas tuvieron acceso al agua por 15 minutos para evitar deshidratación. El procedimiento del cuarto día se repitió a las 24 horas con el objeto de obtener una mayor aversión al sabor.

VI. EXPERIMENTOS

6.1 Experimento 1. Efectos de la inhibición de la síntesis de proteínas en la CI y ABL durante la consolidación de la memoria extinción

6.1.1 Protocolo de Entrenamiento de Extinción

Después de los dos días consecutivos de condicionamiento, en el sexto día, a los animales se les presentó la solución de sacarina al 0.1 % durante 15 minutos sin la inyección de LiCl. Una hora después se les dio acceso a agua para evitar deshidratación. Las microinyecciones en la corteza insular (CI) o amígdala basolateral (ABL) se realizaron en la primera extinción como muestra la figura 6.1. El día de la prueba fue realizada en la segunda extinción.

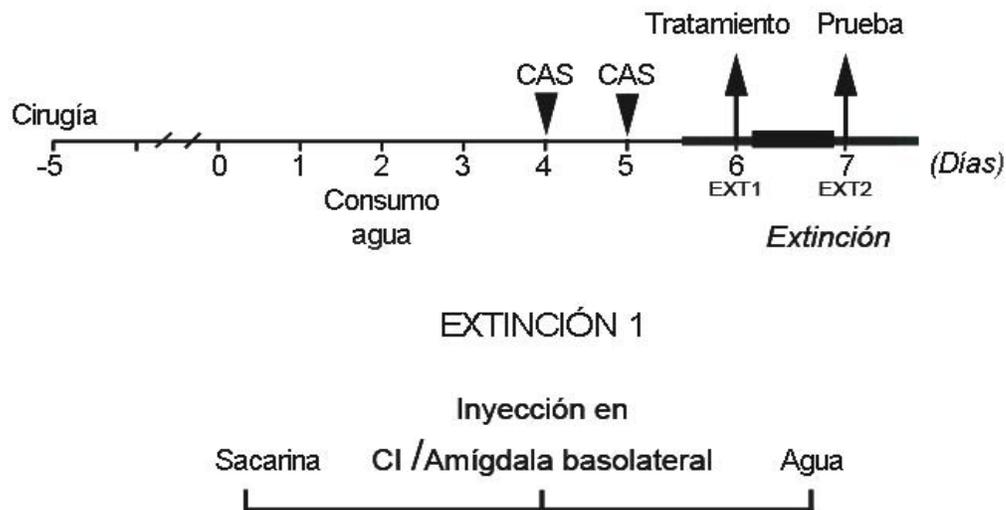


Figura 6.1 Protocolo del experimento 1

Los animales se dividieron en dos grupos independientes de la siguiente manera:

GRUPO	TRATAMIENTO	NÚMERO DE ANIMALES EN CI	NÚMERO DE ANIMALES EN ABL
Anisomicina	Anisomicina inmediatamente después de la sacarina en la extinción 1.	17	17
Vehículo	Solución Vehículo inmediatamente después de la sacarina en la extinción 1.	13	15

6.1.2 Análisis de datos

El análisis de datos generados en los experimentos conductuales se efectuó a través de la prueba t de Student para comparar consumos en un ensayo particular. Una probabilidad menor a 0.05 fue el límite fijado para considerar diferencias significativas.

6.1.3 Resultados

Un sabor apetecible cambia su valor hedónico a repulsivo si este produce malestar. El grado de aversión es mayor cuando el malestar se manifiesta unos minutos u horas después de la ingestión. Sin embargo, las presentaciones subsecuentes de ese sabor sin consecuencias dañinas,

disminuyen el grado de asociación entre el sabor y el malestar y por consiguiente, el consumo del sabor se incrementa por la pérdida de consecuencias nocivas. Este incremento es reflejo de un nuevo aprendizaje nombrado extinción (figura 6.2, de la presentación 3 en adelante). Cada vez que el animal es expuesto al sabor su consumo se incrementa hasta llegar a una meseta (nivel asintótico).

La figura 6.3 muestra que los animales a los que se les inyectó anisomicina en la CI, presentaron aversión en el día de la prueba de memoria de extinción (presentación 4). El análisis de una t de Student de muestras independientes indicó que el grupo de anisomicina ($n= 17$) inyectado inmediatamente después de la presentación del sabor es distinto del grupo vehículo ($n = 13$) en el día de la prueba ($t_{(28)} p < 0.01$). Es más, el análisis de una t de Student de muestras pareadas indicó que no hay diferencias en el grupo inyectado con anisomicina entre el día de la inyección y el día de la prueba ($t_{(16)}$, NS). Estos resultados indican que la extinción del CAS requiere de síntesis de proteínas en la corteza insular para ser consolidada. Este efecto de la anisomicina es temporal y no se observa en el resto de las presentaciones de extinción, en las cuales hubo un incremento en el consumo del sabor, lo que descarta un daño permanente de la estructura.

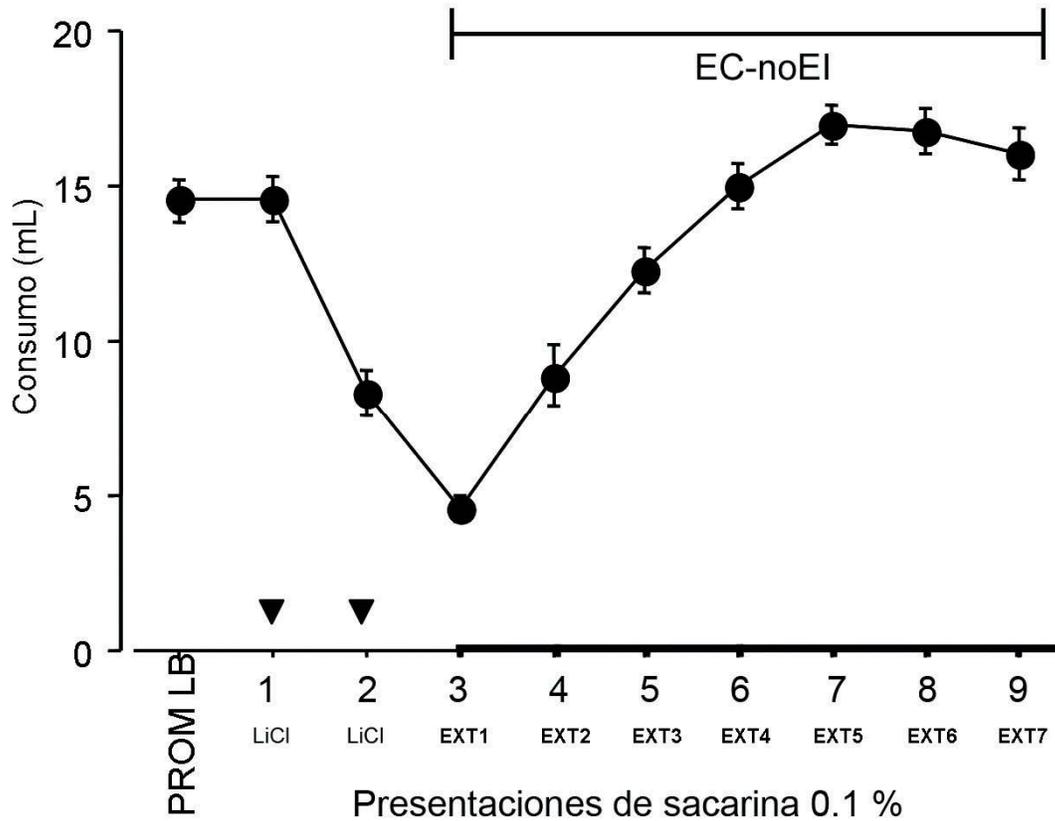


Figura 6.2 Conducta de extinción. Las ratas recibieron tres días de consumo basal de agua (PROM LB). Al cuarto día se les presentó sacarina 0.1 %, 15 minutos después del consumo se les inyectó LiCl i.p. (0.15 M, 10mL/ Kg peso, triángulos) durante dos días consecutivamente. A partir de la tercera presentación de sacarina se da inicio al fenómeno de extinción hasta alcanzar una asíntota en posteriores presentaciones. Media \pm error estándar consumo (mL) de sacarina 0.1 %. Eje de las abscisas muestra días de presentación del sabor.

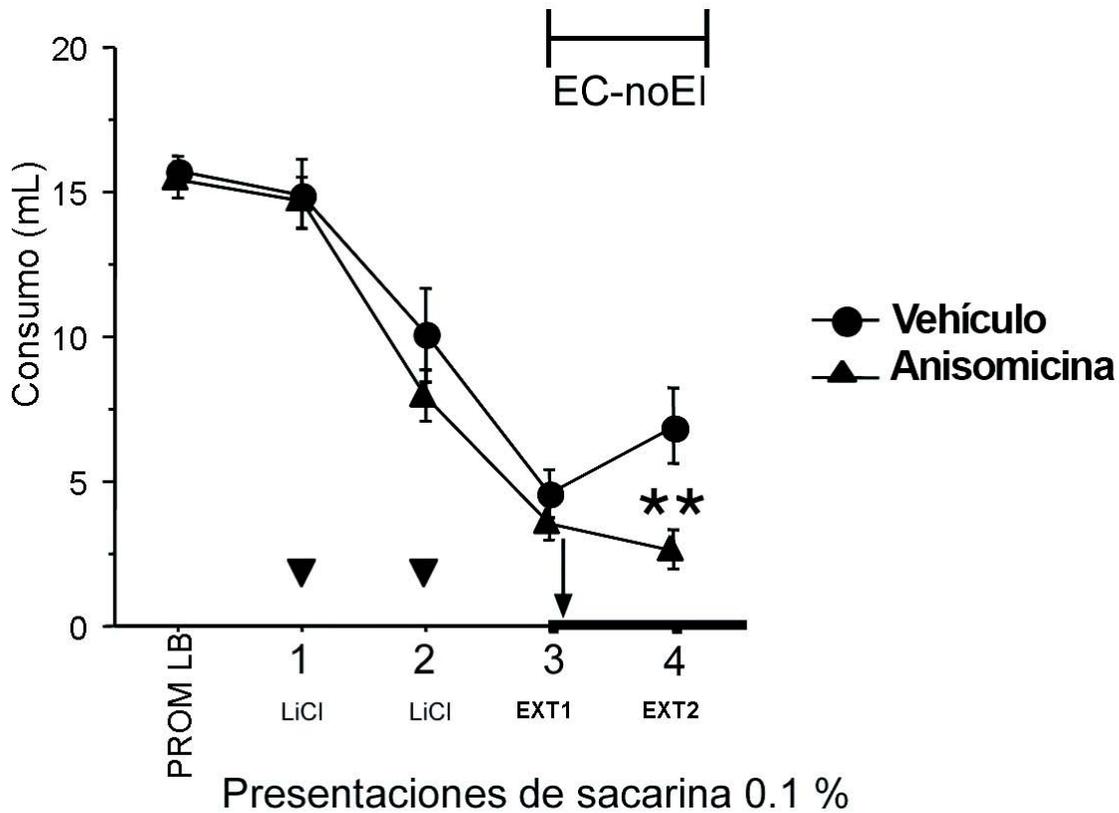


Figura 6.3 La inhibición de la síntesis de proteínas en la CI evita la consolidación de la extinción. Las ratas recibieron tres días de consumo basal de agua (PROM LB). Puntas de flechas indican inyección i.p. de cloruro de litio (0.15 M, 10ml/ Kg peso) 15 minutos después del consumo de sacarina 0.1 %. La línea negra con mayor grosor indica sesiones de extinción. Día de inyección (flecha) inmediatamente después de la presentación del sabor. Nótese que en el día de prueba de la memoria de extinción (presentación 4), el grupo con inyección de anisomicina tiene un consumo similar al del día anterior. Existen diferencias significativas (** = $p < 0.01$) en el día de la prueba entre las ratas inyectadas con anisomicina y vehículo. Los resultados se muestran en medias \pm error estándar.

La figura 6.4 muestra que los animales a los que se les inyectó anisomicina en la ABL presentaron un incremento en el consumo en la segunda sesión de extinción (día de la prueba, presentación 4) similar al grupo control. Una prueba *t* para muestras independientes en el día de la prueba indicó que no hubo diferencias estadísticas entre el grupo inyectado con anisomicina y el grupo inyectado con solución vehículo (*t* (30), NS). Por lo que la inhibición de la síntesis de proteínas ocasionada por la anisomicina en la ABL no tuvo efecto sobre la consolidación de la extinción del CAS.

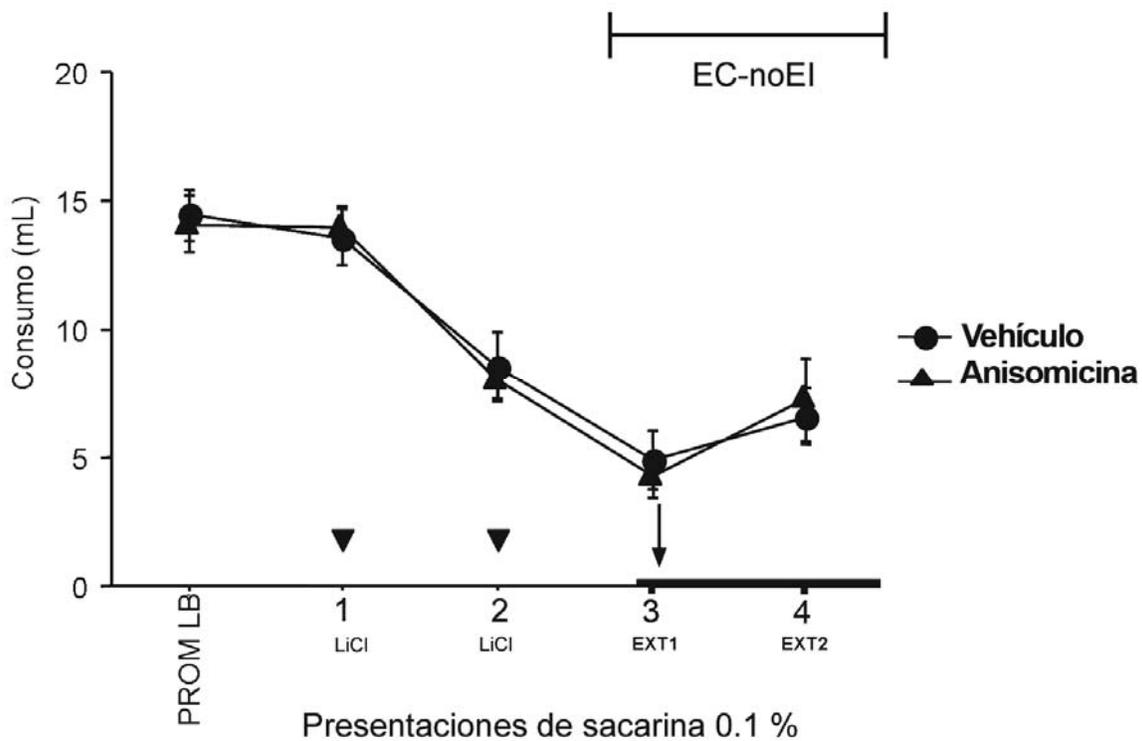


Figura 6.4 La inhibición de la síntesis de proteínas en la ABL no tiene efecto en la consolidación de la extinción. Las ratas recibieron tres días de consumo basal de agua (PROM LB). Puntas de flechas indican inyección i.p. de cloruro de litio (0.15 M, 10mL/ Kg peso) 15 minutos después del consumo de sacarina 0.1 %. La línea negra con mayor grosor indica sesiones de extinción. La flecha indica el día de inyección en la ABL inmediatamente después de la presentación del sabor. Nótese que la anisomicina no tuvo efecto en la consolidación de la extinción del CAS (día de prueba de extinción, presentación 4). Los resultados se muestran en medias \pm error estándar.

6.2 Experimento 2 Efectos de la inhibición de la síntesis de proteínas en la actualización de nueva información en la CI

6.2.1 Protocolo de Entrenamiento de Extinción

Después de dos días consecutivos de condicionamiento, en el sexto día, a los animales se les presentó la solución de sacarina al 0.1 % durante 15 minutos sin la inyección de LiCl. Una hora después se les dio acceso a agua para evitar deshidratación. En los días siguientes las ratas recibieron una vez al día, la solución de sacarina para evaluar la conducta de extinción. En el octavo día (tercera extinción) se aplicaron las inyecciones en la corteza insular inmediatamente después del consumo de sacarina. El día de la prueba fue realizado 24 horas después (cuarta extinción). El procedimiento conductual puede observarse en la figura 6.5.

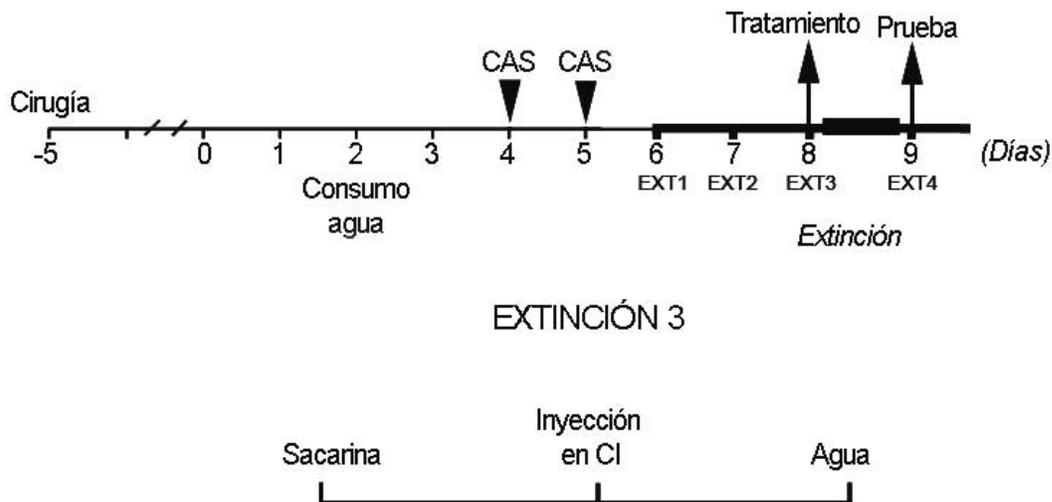


Figura 6.5 Protocolo del experimento 2

Los animales se dividieron en grupos independientes de la siguiente manera:

GRUPO	TRATAMIENTO	No. DE RATAS EN CI
Anisomicina	Anisomicina inmediatamente después de la sacarina en la extinción 3.	16
Vehículo	Solución Vehículo inmediatamente después de la sacarina en la extinción 3.	7

6.2.2 Resultados

La figura 6.6 muestra a los grupos inyectados en la CI inmediatamente después de la presentación del sabor en la tercera sesión de extinción. El análisis de la t de Student de muestras independientes indicó diferencias significativas en el consumo entre el grupo de anisomicina y su grupo control en el día de la prueba ($t_{(21)}$, $p < 0.01$).

Además, el análisis de una t de Student de muestras pareadas indicó que el grupo de anisomicina ($n = 16$) es diferente entre el día de la inyección (tercera extinción, presentación 5) y el día de la prueba (la cuarta extinción, presentación 6). Este resultado es importante porque nos dice no solamente que el consumo no se incrementó sino que disminuyó ($t_{(15)}$, $p < 0.01$) (figura 6.6, presentación 6, grupo de anisomicina). El grupo inyectado con anisomicina tiene efecto sobre la información previamente consolidada, además de que no puede integrar nueva información.

Para determinar si las diferencias se mantenían en la extinción siguiente a la prueba, se realizó la comparación entre el grupo de anisomicina y su grupo control en la presentación 7

(figura 6.6 quinta extinción, presentación 7). La prueba *t* de Student de muestras independientes indicó que no hubo diferencias significativas ($t_{(21)}$, NS).

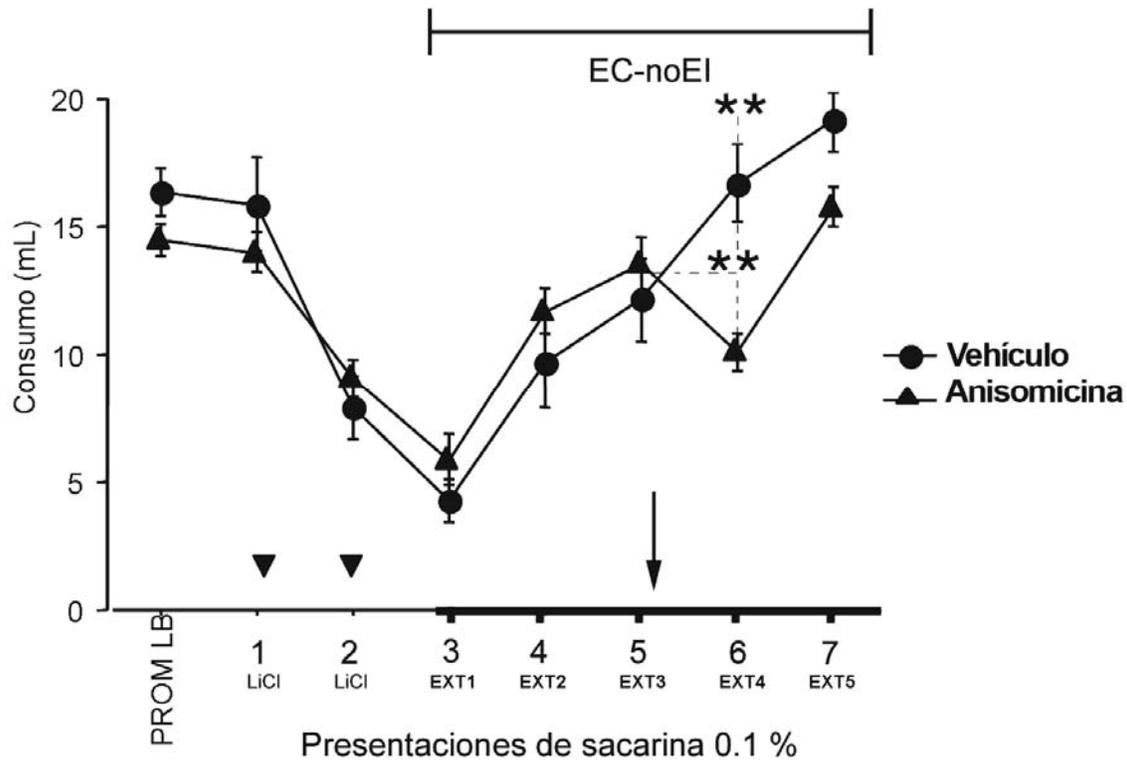


Figura 6.6 La inhibición de la síntesis de proteínas en la CI evita la integración de nueva información y además afecta la memoria previamente consolidada. Las ratas recibieron tres días de consumo basal de agua (PROM LB). Puntas de flechas indican inyección i.p. de cloruro de litio (0.15 M, 10mL/ Kg peso) 15 minutos después del consumo de sacarina 0.1 %. La línea negra con mayor grosor indica sesiones de extinción. Día de inyección (flecha) inmediatamente después de la presentación del sabor. Nótese que la anisomicina tuvo efecto en la actualización a largo plazo de la extinción del CAS (día de prueba de extinción, presentación 6). Como se observa, existen diferencias significativas (** $p < 0.01$) en el día de la prueba entre las ratas inyectadas con anisomicina y vehículo. Así también se indica que existen diferencias entre el día de inyección y la prueba para el grupo inyectado con anisomicina. Los resultados se muestran en medias \pm error estándar.

6.3 Experimento 3. Efectos de la inhibición de la síntesis de proteínas en la meseta de aprendizaje de extinción gustativa

6.3.1 Protocolo de Entrenamiento de Extinción

El procedimiento conductual fue similar a los experimentos anteriores. Cabe señalar que para este experimento, las microinyecciones se realizaron sólo en la corteza insular en condiciones donde, a nivel conductual, no se observó actualización (asíntota de desempeño). Los fármacos fueron administrados en la sexta extinción y la prueba fue realizada 24 horas después. Tal como se muestra en la figura 6.7

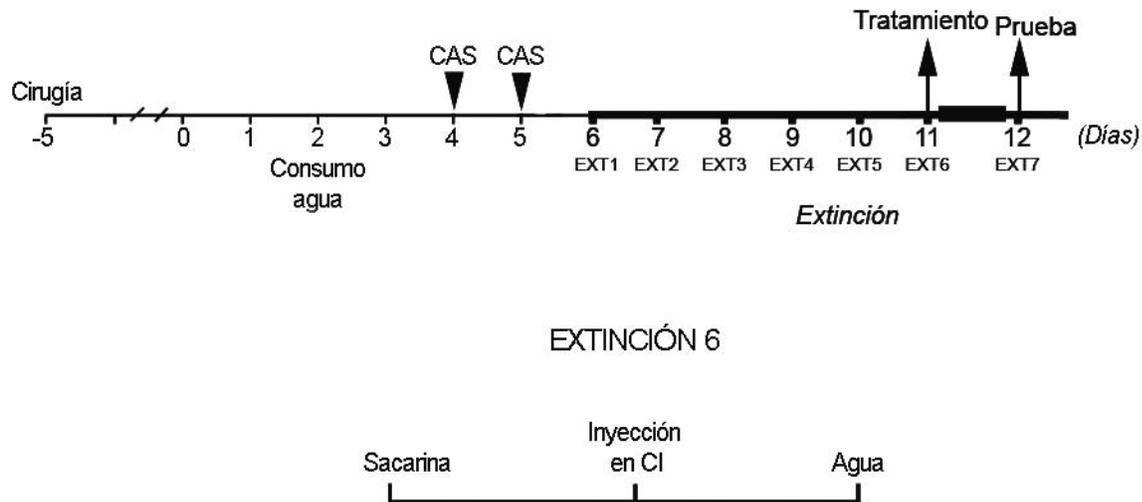


Figura 6.7 Protocolo del experimento 3.

6.3.2 Resultados

Dado que se ha propuesto que la memoria previamente consolidada sólo se afecta si hay integración de nueva información, se decidió inyectar en la CI en condiciones donde ya no existe actualización de la memoria de extinción (meseta en el desempeño).

Para este experimento se utilizaron las ratas canuladas en la CI pertenecientes al experimento 2, se les reasignó a un grupo de manera aleatoria y nuevamente se les aplicó anisomicina o solución vehículo. La figura 6.8 muestra que la inyección de anisomicina no tuvo efecto cuando se aplicó en el sexto día de extinción (presentación 7), punto donde la conducta ha llegado a nivel máximo. El análisis de una *t* de Student de muestras no pareadas indicó que no hubo diferencias significativas entre el grupo de anisomicina ($n = 11$) y su grupo control ($n = 12$) el día de la prueba (presentación 8) ($p > 0.05$, NS). Esto sugiere que la memoria ya no es susceptible a la inhibición de síntesis de proteínas debido a que está ya consolidada y no existe nueva información relevante que requiera ser guardada a largo plazo.

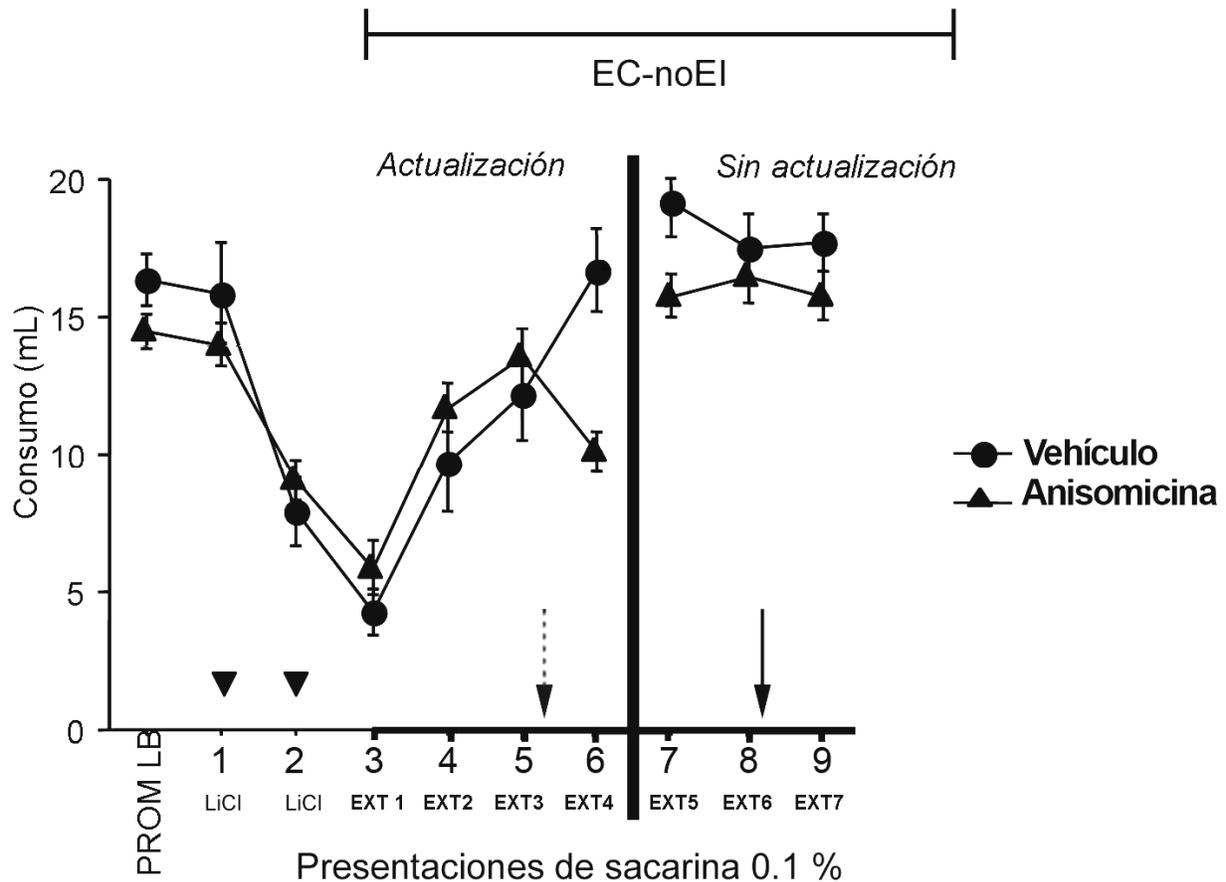


Figura 6.8 La inhibición de la síntesis de proteínas en la CI no tiene efecto en la memoria de extinción cuando se ha llegado a meseta. Las ratas recibieron tres días de consumo basal de agua (PROM LB). Puntas de flechas indican inyección i.p. de cloruro de litio (0.15 M, 10mL/ Kg peso) 15 minutos después del consumo de sacarina 0.1 %. Nótese que la figura ha sido dividida en secciones mostrando en la izquierda los grupos pertenecientes al experimento 2 donde hubo efecto en condiciones de actualización de la información. Flecha con línea punteada indica inyección de anisomicina en la presentación de sacarina 5 (extinción 3). En la derecha, se muestra a estos mismos animales (después de la reasignación de grupos) a los que se les aplicó otra inyección (flecha) de anisomicina o vehículo en la CI inmediatamente después del consumo de la sacarina en la octava sesión de extinción. La inhibición no tuvo efecto cuando se alcanzó el nivel de asíntota. Los resultados se muestran en medias \pm error estándar.

VII. DISCUSIÓN

En este trabajo se estudió la participación de la corteza insular y amígdala basolateral en el proceso de actualización de la extinción gustativa. Varios estudios han evaluado la relación entre los procesos de reconsolidación y los de extinción. Se ha planteado que la extinción puede ser afectada por el tratamiento de inhibición de la síntesis de proteínas dejando intacta o fortalecida la memoria del condicionamiento después de su evocación (Berman y Dudai, 2001; Viana *et al.*, 2001). Las conclusiones de estos trabajos sugirieron que la desestabilización de la memoria (reconsolidación) no ocurre bajo estos protocolos experimentales. Por lo que la extinción se había observado como contraparte de la reconsolidación y no como una memoria que pudiera atravesar por este proceso (Eisenberg *et al.*, 2003, Pedreira y Maldonado, 2003; Suzuki *et al.*, 2004).

Los estudios de Eisenberg *et al.* (2003) y Pedreira y Maldonado (2003) plantearon que entre mayor sea la intensidad del entrenamiento mayor es la probabilidad de que éste atreviese por el proceso de reconsolidación cuando es evocado. De manera congruente, mientras menor sea en su intensidad el entrenamiento más factible es que se extinga cuando es evocado. Además, Suzuki *et al.* (2004) sugirieron que la duración de la evocación es un factor determinante para el inicio de la consolidación de la extinción o de la reconsolidación del condicionamiento. En este sentido, conductualmente se han considerado como procesos contrapuestos a la extinción y la reconsolidación. La mayoría de los estudios de reconsolidación han postulado que algunos de los mecanismos moleculares que subyacen ambos procesos permitirían disociarlos adecuadamente (Tronson y Taylor, 2007). Los datos obtenidos en este trabajo demuestran que la extinción y la reconsolidación no son necesariamente procesos antagónicos de la memoria y que una memoria de extinción previamente consolidada puede ser desestabilizada cuando se actualiza.

De acuerdo con la hipótesis de la actualización de la memoria a largo plazo, la memoria previamente consolidada es parcialmente desestabilizada durante la evocación permitiendo que la información entrante sea integrada a un trazo de memoria (Rodríguez-Ortiz *et al.*, 2005, 2008).

Los resultados obtenidos en esta tesis corroboran que la extinción sufre este proceso de desestabilización tras su evocación, integrando información actualizada.

7.1 Inhibición de la síntesis de proteínas después de la adquisición de la extinción en la CI y ABL

Los resultados obtenidos en esta tesis corroboran que la extinción es una memoria dependiente de la síntesis de proteínas para ser consolidada en un trazo de memoria de largo plazo. Como lo muestra el experimento 1, la inyección de anisomicina en la corteza insular después de la primera extinción interrumpió la consolidación de la extinción; este efecto no se observó cuando se inyectó en la amígdala basolateral. En efecto, experimentos previos han demostrado que la infusión de anisomicina afecta la extinción del CAS. Berman y Dudai (2001) reportaron que la anisomicina, administrada 10 minutos después del primer ensayo de extinción en la corteza insular deteriora su consolidación. A diferencia de lo reportado en esta tesis, el mismo grupo dirigido por Dudai encontró que la inyección de anisomicina inmediatamente después del sabor en la ABL afecta la consolidación de la extinción del CAS (Bahar *et al.*, 2003). En ese trabajo se entrenaron animales en una variante del CAS llamada **prueba de elección múltiple**¹, que consistió en presentarles a los animales 2 bebederos con agua para su consumo habitual de líquidos. En el día de la adquisición, el agua fue sustituida por el sabor y después fue asociado con el agente de malestar gástrico (LiCl). En el día de la prueba, a los animales se les presentaron 6 bebederos, 3 de ellos con agua y 3 con el sabor. Las diferencias en protocolos podrían explicar, en parte, la discrepancia en los resultados obtenidos entre este trabajo y el de Bahar y colaboradores. Sin embargo, y en congruencia con los resultados reportados en esta tesis están los experimentos obtenidos en nuestro grupo de trabajo que han demostrado que la consolidación del CAS requiere de la síntesis de proteínas en la CI y la ACe, pero no en la ABL (García-De la Torre *et al.*, en preparación). En experimentos preliminares realizados en nuestro laboratorio hemos encontrado que la ACe, bajo las mismas condiciones experimentales de extinción gustativa abordadas en esta tesis, también participa en la consolidación de la memoria

¹ Traducción del inglés multiple choice test.

de extinción por medio de la síntesis *de novo* de proteínas (datos sin publicar). De estos trabajos se puede concluir que las mismas estructuras que participan en la consolidación de un condicionamiento participan en su extinción.

A favor de esta conclusión están los estudios electrofisiológicos realizados en neuronas de la amígdala lateral (AL) que comprueban que esta estructura codifica las memorias de aversión durante la adquisición y extinción del condicionamiento del miedo. Las presentaciones del EC (tono) en ausencia del EI (choque eléctrico) reduce la expresión de respuestas condicionadas a nivel conductual, y esto correlaciona con una disminución de la respuesta eléctrica de las neuronas en esta región evocada por el EC durante la extinción. La reducción de la tasa de disparo en la AL que es acompañada con la extinción se correlaciona con la atenuación de la RC de miedo (Maren y Quirk, 2004). Se ha comprobado también que en la corteza infralímbica, una región perteneciente a la corteza prefrontal medial (CPFm), existen células que presentan poca actividad en su tasa de disparo con las presentaciones del EC (tono) durante el condicionamiento, pero que incrementan su actividad durante la extinción. Se ha descrito que las neuronas de la CPFm ocasionan inhibición en las regiones de la AL y la ACe disminuyendo la expresión de la respuesta condicionada de miedo (Maren y Quirk, 2004).

Esto permite explicar que la consolidación de un trazo de memoria de condicionamiento pueda ser distribuido de manera cortical y subcortical requiriendo de la síntesis de proteínas en estas estructuras para almacenar tanto el condicionamiento como su extinción. Esto nos habla de una organización dinámica de la memoria que permite crear memorias que pueden integrarse a otras memorias relacionadas formando memorias más complejas.

7.2 Inhibición de la síntesis de proteínas en condiciones de actualización de la extinción en la CI, ABL y CeA

Los resultados obtenidos muestran que las mismas estructuras que participan en la consolidación también participan en la actualización de la memoria de extinción (la CI), probablemente la ACe (por datos preliminares), y no así la ABL.

Se ha descrito que el trazo de memoria del sabor (TMS) de aversión requiere de la síntesis de proteínas en la corteza insular para ser consolidado (Rosenblum *et al.*, 1993). Pero, en condiciones donde se da la extinción, la síntesis de proteínas en la CI es necesaria para almacenar, a largo plazo esta memoria (Eisenberg *et al.*, 2003 y el presente trabajo). Estos resultados sugieren que en la CI existe una competencia entre el trazo de aversión y su extinción por la expresión de la conducta a largo plazo (Eisenberg *et al.*, 2003). Además dicha competencia podría darse también en la ACe y no en la ABL.

La corteza insular desempeña un papel importante en la actualización de un trazo de memoria previamente consolidado. En el caso de un TMS hacia lo seguro, la memoria puede ser modificada durante la evocación siempre y cuando se integre información relevante capaz de modificar la conducta y una vez que se alcanza la asíntota de desempeño, el trazo ya no es afectado por la inhibición de la síntesis de proteínas (Rodríguez-Ortiz *et al.*, 2005). De manera similar, los resultados obtenidos en el experimento 3, demuestran que en la CI el trazo de memoria de extinción (EC- no EI), al alcanzar la meseta de aprendizaje, no es susceptible a la inhibición de la síntesis de proteínas y esto se observa como la falta de efecto en la conducta.

Por los datos presentados en esta tesis no existe participación de la ABL en la consolidación de la extinción gustativa. Sin embargo, puede existir una participación de la ACe. Una gran cantidad de datos indican que el complejo amigdalino participa en memorias emocionalmente relevantes. Por ejemplo, lesiones de la amígdala interfieren en la modulación que tienen las emociones sobre la memoria (Angrilli *et al.*, 1996). Cahill *et al.* (1995) observaron que sujetos normales son capaces de evocar con mayor detalle parte de una historia que tiene contenido emocional. Sin embargo, un paciente con lesión en la amígdala no presentó este incremento en el recuerdo. En otro trabajo, utilizando la tarea de prevención pasiva, se sugirió que la ABL no es una región de almacenamiento de memorias de aversión, sin embargo, se propuso que tiene un papel crucial en la modulación de la consolidación de la memoria en otras regiones del cerebro (McGaugh *et al.*, 2002). Otros estudios indican que la ABL participa en el almacén a largo plazo de la memoria de miedo (LeDoux, 2003). Además, LeDoux *et al.* han mostrado que el núcleo central es necesario para el desarrollo de una respuesta incondicionada de

miedo, lesiones de este núcleo imposibilita la aparición del condicionamiento del miedo (LeDoux *et al.*, 1988).

Algunos reportes en la literatura han descrito que la extinción es un fenómeno conductual altamente complejo, y que es un tipo de aprendizaje que no involucra la desaparición del aprendizaje original (condicionamiento) (Rescorla, 2004). Los teóricos del aprendizaje asociativo lo consideran como un aprendizaje, ya que implica un cambio en la conducta (disminución de la respuesta condicionada) como resultado de la experiencia (presentaciones del EC en ausencia del EI) (Klein, 1994). La extinción no elimina ni las asociaciones entre estímulos ni las respuestas condicionadas previamente adquiridas, como lo demuestra la recuperación espontánea de la RC que se observa cuando se presenta nuevamente el EC días después de la extinción (Domjan, 2003). Por consiguiente, la extinción provoca cambios conductuales y una reorganización a nivel celular y molecular (Kaczmarek, 1993). Mientras los cambios conductuales pueden ser de naturaleza más o menos permanentes, algunas de las moléculas responsables o que participan en el establecimiento del aprendizaje y la memoria son transitorias, es decir, se degradan, se reciclan y se reutilizan (Dudai, 1993).

La MCP a nivel celular se manifiesta en la activación de cascadas de transducción intracelular (principalmente vías de cinasas) que ocurre después de la estimulación neuronal. La MCP permanece mientras estas cascadas estén activas, pero en la MLP las señales de cascadas llegan al núcleo donde llevan a cabo los procesos de transcripción y traducción de síntesis de nuevas proteínas (Dudai, 2004). Estas proteínas sintetizadas son las que conducen las modificaciones que sufren las sinapsis (cambios plásticos) que son el correlato celular de un trazo de memoria de largo plazo. Las evidencias en la literatura sobre aspectos de modificaciones celular o molecular por síntesis de proteínas vinculadas a la extinción quedan ilustradas en el condicionamiento al miedo.

En un estudio se demostró similitudes y diferencias entre la consolidación de un condicionamiento y la consolidación de su extinción. Ambos procesos dependen de la activación de receptores de NMDA, las cinasas PI-3² y ERK1-2 en las regiones de la amígdala ABL y AL. En la región de la ABL se demostró que la inyección de anisomicina inhibe la expresión de la proteína fosfatasa³ calcineurina en la extinción, pero no sucede cuando se aplica un inhibidor de transcripción (Lin *et al.*, 2003). Un estudio reciente sugiere que la extinción conduce a cambios estructurales en las sinapsis de la ABL. La inhibición de la molécula PSA-NCAM⁴ no tiene efecto sobre el condicionamiento, pero fortalece la memoria de extinción. El mismo estudio presentó que los niveles de esta proteína fueron incrementados después del condicionamiento del miedo, sugiriendo que el condicionamiento induce cambios morfológicos opuestos a los producidos por la extinción (Markram *et al.*, 2007). Esto aun no es claro, y varios mecanismos moleculares que están sucediendo durante la extinción pueden ser independientes de síntesis de proteínas generando aun así cambios sinápticos. Por ejemplo Fischer *et al.* (2004) hallaron que la reorganización de las fibras de actina⁵ en el citoplasma está involucrada con la extinción de la respuesta de miedo en el hipocampo. Esta reorganización es mediada por proteínas presentes en la presinapsis y afecta la morfología de la sinapsis. Se desconoce si estos cambios que se producen a nivel molecular están presentes en la extinción gustativa. Un estudio realizado por Koh y Bernstein (2003) demuestra que la inhibición de la proteína cinasa A (PKA), que es activada por el AMP_c, fortalece la extinción de aversión en la ABL después de la evocación y sus resultados han sugerido que esta vía de señalización intracelular podría estar implicada en la síntesis de proteínas necesaria para producir los cambios plásticos que consolidan a la extinción. Se deben realizar más estudios para dilucidar que eventos moleculares subyacen las modificaciones sinápticas inducidos en la extinción gustativa.

Hasta el momento, los resultados obtenidos en esta tesis en la corteza insular y ACe (datos preliminares) ofrecen evidencia que va más allá de lo descrito por el grupo de Dudai (Berman y

² Siglas del inglés (phosphatidylinositol 3-kinase). Cínasa implicada en cascadas de señalización intracelular activada por una variedad de receptores de membrana (Alberts *et al.*, 2002).

³ Fosfatasa. Enzima que remueve los grupos fosfatos de una molécula (Alberts *et al.*, 2002).

⁴ Proteína presente en la superficie celular que interviene en la unión de células nerviosas (Alberts *et al.*, 2002).

⁵ Proteínas que forman los principales componentes del citoplasma de las células eucariontes y parte del aparato contráctil del músculo esquelético (Fischer *et al.*, 2004).

Dudai, 2001; Einsenberg *et al.*, 2003; Kobiló *et al.*, 2007; Bahar *et al.*, 2004). Se ha propuesto que la extinción es una posibilidad en la cual un trazo de memoria de condicionamiento puede ser actualizado con información relacionada a la previamente consolidada, pero con características diferentes. Este aprendizaje relacionado se refleja en la conducta sin eliminar el aprendizaje previo (Rodríguez-Ortiz y Bermúdez-Rattoni, 2007). Con el presente trabajo se demuestra que la extinción no es sólo una actualización del condicionamiento sino que además, es susceptible a la integración de información a través de un proceso de actualización que depende de la síntesis de proteínas.

7.3 Conclusiones

En la serie de experimentos llevados a cabo en esta tesis se concluye que:

1. La actualización a largo plazo de un trazo de memoria de extinción gustativa requiere de la síntesis de proteínas en la CI.
2. La CI participa en la consolidación de la extinción del CAS por medio de la síntesis de nuevas proteínas.
3. La ABL no participa en la consolidación de un trazo de memoria de extinción gustativa.
4. Los resultados obtenidos en esta tesis apoyan la teoría de que la reconsolidación es la desestabilización de la memoria previamente consolidada que se da cuando existe incorporación de nueva información. Este proceso cambia la información del trazo de memoria.
5. La misma extinción atraviesa por el proceso de actualización, requiriendo de la síntesis de proteínas para su almacenamiento a largo plazo.

VIII. REFERENCIAS

1. Alberts, B., Alexander, J., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. & Walter, P. 2002 *Molecular Biology of the cell*, 4th ed. New York, Garland Science. Taylor and Francis group.
2. Angrilli, A., Mauri, A., Palomba, D., Flor, H., Birbaumer, N., Sartori, G. & Dipaola, F. 1996. Startle reflex and emotion modulation impairment after a right amygdala lesion. *Brain*, 119: 1991-2000.
3. Andrews, L. & Sanger, G. 2002. Abdominal vagal afferent neurones: an important target for the treatment of gastrointestinal dysfunction *Current Opinion in Pharmacology*, 2: 650-656.
4. Baddeley, A. 1999. *Memoria humana. Teoría y Práctica*. Madrid España.
5. Barondes, S. y Cohen, H. 1967. Delayed and sustained effect of acetoxycycloheximide on memory in mice. *PROC. N. A. S.* 58: 157-164.
6. Bahar A., Samuel A., Hazvi S. & Dudai, Y. 2003. The amygdalar circuit that acquires taste aversion memory differs from the circuit that extinguishes it. *European Journal of Neuroscience*, 17: 1527-1530.
7. Bahar, A., Dorfman, N. & Dudai, Y. 2004. Amygdalar circuits required for either consolidation or extinction of taste aversion memory are not required for reconsolidation. *Eur J Neurosci.* (4):1115-1118.
8. Baird, J.P., Travers, S.P & Travers, J.B. 2001. Integration of gastric distension and gustatory responses in the parabrachial nucleus. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 281(5):1581-1593.
9. Berman, D., Sabih, S., Neduva, V. & Dudai, Y. 2000. The Role of Identified Neurotransmitter Systems in the Response of Insular Cortex to Unfamiliar Taste: Activation of ERK1-2 and Formation of a Memory Trace. *J. Neuroscience* 20(18):7017-7023.
10. Berman, D.E. & Dudai, Y. 2001. Memory extinction, learning anew, and learning the new: dissociations in the molecular machinery of learning in cortex. *Science*, 291: 2417-2419.

11. Berman, D.E., Hazvi, S., Stehberg, J., Bahar, A. & Dudai, Y. 2003. Conflicting processes in the extinction of conditioned taste aversion: behavioral and molecular aspects of latency, apparent stagnation, and spontaneous recovery. *Learn Mem.*10: 16-25.
12. Bermudez-Rattoni, F. 2004 Molecular Mechanisms of Taste – Recognition Memory. *Nature Neuroscience Reviews* 5: 209 -217.
13. Bouton, M.E. 2004. Context and behavioral processes in extinction. *Learn Mem.* 11(5): 485-494.
14. Bower, B.1997. Forbidden Flavors scientists consider how distinguishing tastes can linger surreptitiously in memory: *Science News*, 151: 151.
15. Braun, J., Lasiter P. & Kiefer, S. 1982. The gustatory neocortex of rat. *Physiol. Psychol.* 10: 13-45.
16. Bures, J., Bermudez-Rattoni, F. & Yamamoto, T. 1998. Conditioned Taste Aversion: Memory of a Special Kind. Oxford Univ. Press, New York: 1–10.
17. Cahill, L., Babinsky, R., Markowitsch, H. & McGaugh, J.L. 1995. The amygdala and emotional memory. *Nature* 377: 295-296.
18. Cammarota, M., Bevilaqua, L.R., Medina J.H. & Izquierdo, I. 2004. Retrieval does not induce reconsolidation of inhibitory avoidance memory. *Learn Mem.* (5): 572-578.
19. Davis, M., Rainnie, D. & Cassel, M. 1994. Neurotransmission in the rat amygdal related to fear and anxiety. *TINS* 17: 208-214.
20. Debiec, J., LeDoux, J.E. & Nader, K. 2002. Cellular and systems reconsolidation in the hippocampus. *Neuron* 36, 527-538.
21. Domjan, M. 1976. Determinants of the enhancement of flavored-water intake by prior exposure. *J Exp Psychol Anim Behav Process.* (1):17-27.
22. Domjan, M. 2003. Bases del aprendizaje y conducta. México D.F. Thomson Editores.
23. Dong Hong-Wei & Swanson, L.W. 2004. Organization of Axonal Projections from the Anterolateral Area of the Bed Nuclei of the Stria Terminalis. *Journal of Comparative Neurology* 468: 277-298.
24. Dudai, Y, 1993. A cellular mnemonic device in the mammalian brain: long- term potentiation. En *The Neurobiology of memory, concepts, findings, trends.* Yadin Dudai Eds. N.Y. Oxford University. 88-105.

25. Dudai, Y. 2004. The neurobiology of consolidations, or, how stable is the engram? *Annu. Rev. Psychol.* 55: 51–86.
26. Duncan CP. 1949. The retroactive effect of electroconvulsive shock. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 42: 32–44.
27. Eisenberg, M., Kobil, T., Berman, D. & Dudai, Y. 2003. Stability of retrieved memory: Inverse correlation with trace dominance. *Science* 301: 1102–1104.
28. Enríquez Frodden E. 1985. *Texto de Anatomía del Sistema Nervioso Central* Ed. Oteo México D.F. Ciudad Universitaria.
29. Ferreira, G, Gutierrez, R, De La Cruz, V & Bermudez-Rattoni, F. 2002. Differential involvement of cortical muscarinic and NMDA receptors in short- and long-term taste aversion memory. *J Neurosci Eur* 6:1139-45.
30. Fischer, A., Sananbenesi, F., Schrick, C., Spiess, J. & Radulovic, J. 2004: Distinct roles of hippocampal de novo protein synthesis and actin rearrangement in extinction of contextual fear. *J Neurosci* 24(8):1962-1966.
31. Flexner LB., Flexner, J.B. & Stellar, E. 1965. Memory and cerebral protein synthesis in mice as affected by graded amounts of puromycin. *Exp. Neurol.* 13: 264-272.
32. Flynn, F.G., Benson, D.F. & Ardila S. 1999. Anatomy of insula functional and clinical correlates. *Aphasiology* 13: 55-78.
33. Garcia, J., Kimmelfrof, D.J. & Koelling, R. 1955. A. Conditioned Taste aversion to saccharin resulting from exposure to gamma radiation. *Science* 122: 157-158.
34. Goto, M. & Swanson, L.W. 2004. Axonal Projections from the Paraventricular Nucleus. *Journal of Comparative Neurology* 469: 581-607.
35. Gutiérrez, H., Hernández-Echeagaray, E., Ramírez-Amaya, V. & Bermúdez-Rattoni, F. 1999. Blockade of N-Methyl-d-aspartate receptors in the insular cortex disrupts taste aversion and spatial memory formation. *Neurosci* 89, 751-758.
36. Gutierrez, R., Rodriguez-Ortiz, J., De La Cruz, V., Núñez-Jaramillo, L. & Bermudez-Rattoni, F. 2003a. Cholinergic dependence of taste memory formation: Evidence of two distinct processes *Neurobiology of Learning and Memory* 80: 323-331.

37. 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(8):1556-1562.
38. Haq, I.U., Lewitt, P.A. & Fernandez, H.H. 2007. Apomorphine therapy in Parkinson's disease: a review. *Expert Opin Pharmacother.* 2007 (16): 2799-2809.
39. Hotershall, D. 1999. *Historia de la Psicología.* México D.F. McGraw Hill: 90-96.
40. Hupbach, A., Gomez, R., Hardt, O. & Nadel, L. 2007. Reconsolidation of episodic memories: A subtle reminder triggers integration of new information. *Learning and memory* 14: 47-53.
41. Kalat, J.W. & Rozin, P. 1973. "Learned safety" as a mechanism in long-delay taste-aversion learning in rats. *J Comp Physiol Psychol.* May; 83(2):198-207.
42. Kalat, W. 1974 Taste salience depends on novelty, not concentration, in taste-aversion learning in the rat: *Journal of Comparative and Physiological Psychology* 86: 47-50.
43. Kandel, E.R., Kupfermann, I. & Iversen, S. 2000. Learning and memory. In Kandel, E.R., Schwartz, J.H & Jessell, T.M. eds. *Principles of neural science.* New York: McGraw-Hill-Health Division: 1227-1246.
44. Kaczmarek, L. 1993. Molecular biology of vertebrate learning: Is C-fos a new beginning. *J. Neurosci. Res.*, 34: 377-381.
45. Kesner, P. & Rogers, J. 2004. An analysis of independence and interactions of brain substrates that subserve multiple attributes, memory systems, and underlying processes. *Neurobiology of Learning and Memory* 82: 199-215.
46. Klein, S. 1994. *Aprendizaje. Principios y aplicaciones (2da edición)* Madrid. Mc Graw Hill.
47. Kobilov, T., Hazvi, S. & Dudai, Y. 2007. Role of cortical cannabinoid CB1 receptor in conditioned taste aversion memory. *European Journal of Neuroscience* 25: 3417-3421.
48. Koh, M.T. & Bernstein, I.L. 2003. Inhibition of protein kinase A activity during conditioned taste aversion retrieval: interference with extinction or reconsolidation of a memory? *Neuroreport.* 14(3): 405-407.

49. Lamprecht, R., Hazvi, S. & Dudai, Y. 1997. cAMP response element binding protein in the amygdala is required for long but not short-term conditioned taste aversion memory. *Journal of Neuroscience* 17: 8443-8450.
50. LeDoux, J.E., Iwata, J., Cicchetti, P. & Reis, D.J. 1988. Different projections of the central amygdaloid nucleus mediate autonomic and behavioral correlates of conditioned fear. *Journal of Neuroscience* 8: 2517-2529.
51. LeDoux, J.E. 1993. Emotional memory system in the brain. *Behavioral Brain Research* 58: 69-79.
52. LeDoux, J.E. 2003 The emotional brain, fear, and the amygdala. *Cell. Mol. Neurobiol.* 23: 727-738.
53. Lewis, D.J. & Bregman, N.J. 1973. Source of cues for cue-dependent amnesia in rats. *Comp Physiol Psychol.* 85 (2):421-426.
54. Lewis, D.J. 1979. Psychobiology of active and inactive memory. *Psychol. Bull.* 86: 1054-1083.
55. Lin, C.H., Yeh, S.H., Lu, H.Y. & Gean P.W. 2003. The similarities and diversities of signal pathways leading to consolidation of conditioning and consolidation of extinction of fear memory. *J. Neurosci.* 23 (23):8310-8317.
56. Markram, K., Lopez Fernandez, M.A., Abrous, D.N. & Sandi, C. 2007. Amygdala upregulation of NCAM polysialylation induced by auditory fear conditioning is not required for memory formation but plays a role in fear extinction. *Neurobiol Learn Mem* 87: 573-582.
57. Maren, S. & Quirk, G. 2004. Neuronal signalling of fear memory. *Nature Reviews Neuroscience* 5: 844-852.
58. McDonald, A.J. 1998. Cortical pathways to the mammalian amygdala. *Prog, Brain Res.* 55: 257-332.
59. McDonald, A.J., Shammah-Lagnado, S.J., Shi, C. & Davis, M 1999. Cortical afferents to the extended amygdala. *Ann N Y Acad Sci.* Jun 29; 877: 309-338.
60. McGaugh, J.L. 2000. Memory a century of consolidation. *Science* 287: 248-251.
61. McGaugh, J.L., McIntyre, C.K. & Power, A.E. 2002. Amygdala modulation of memory consolidation: interaction with other brain systems. *Neurobiol. Learn. Mem.,* 78: 539-552.

62. Mesulam, M.M. & Mufson, E.J. 1982. Insula of the old world monkey. I. Architectonics in the insulo-orbito-temporal component of the paralimbic brain. *J Comp Neurol.* 212 (1):1-22.
63. Milekic, M.H. & Alberini, C.M. 2002. Temporally graded requirement for protein synthesis following memory reactivation. *Neuron* 36, 521-525.
64. Miranda, M.I., LaLumiere, RT, Buen, T.V., Bermúdez-Rattoni, F. & McGaugh JL. 2003. Blockade of noradrenergic receptors in the basolateral amygdala impairs taste memory. *Eur J Neurosci.* 18(9): 2605-2610.
65. Miranda, M.I. & McGaugh, J.L. 2004. Enhancement of inhibitory avoidance and conditioned taste aversion memory with insular cortex infusions of 8-Br-cAMP: involvement of the basolateral amygdala. *Learn Mem.* 11(3): 312-317.
66. Misanin, J. R., Miller, R. R. & Lewis, D. J. 1968. Retrograde amnesia produced by electroconvulsive shock after reactivation of a consolidated memory trace. *Science* 160: 203-204.
67. Morris, R. G., Inglis, J., Ainge, J. A., Olverman, H. J., Tulloch, J. & Dudai, Y. 2006. Memory reconsolidation: Sensitivity of spatial memory to inhibition of protein synthesis in dorsal hippocampus during encoding and retrieval. *Neuron*, 50: 479-489.
68. Nader, K., Schafe, G. E. & Ledoux J. 2000. Fear memories require protein synthesis in the amygdala for reconsolidation after its reactivation. *Nature* 406: 722-726.
69. Nader, K. 2003. Memory traces unbound. *Trends in Neurosciences* 26(2): 65-72.
70. Oterssen, O.P, Fischer O.B., Rinvik, E. & Storm, J. 1986. Putative amino acid transmitters in the amygdale. *Adv. Exp Med. Biol* 203: 53-56.
71. Paxinos G. 1995. *The rat nervous system* Academic Press. Second edition
72. Paxinos, G. & Watson, C. 1998. *The rat brain in stereotaxic coordinates.* Academic Press, San Diego, CA.
73. Pedreira, M.E. & Maldonado, H. 2003. Protein synthesis subserves reconsolidation or extinction depending on reminder duration, *Neuron*, 38: 863-869.
74. Prado Alcalá, R. & Quirarte, G.L. De la memoria y el cerebro. En R. de la Fuente y F.J. Álvarez Leefmans (1998). *Biología de la mente.* México. Fondo de Cultura Económica: 423-454.

75. Przybylski, J. & Sara, S.J. 1997. Reconsolidation of memory after its reactivation. *Behav. Brain Res.* 84, 241-246.
76. Przybylski, J., Roullet, P. & Sara, S.J. 1999. Attenuation of emotional and nonemotional memories after their reactivation: role of beta adrenergic receptors. *J Neurosci.* 19 (15): 6623-6628.
77. Purves, D., Augustine, G., Fitzpatrick, D., Katz, L., Lamantia, A., Mcnamara, J. & Williams, M. 2001. *Neuroscience USA 2ed.* Sinauer Associates.Inc. Publishers.
78. Quirk, G. & Mueller, D. 2008. Neural mechanisms of extinction learning and retrieval. *Neuropsychopharmacology reviews* 33: 56-72.
79. Ramírez-Lugo, L., Miranda, M.I., Escobar, M.L., Espinosa, E. & Bermúdez-Rattoni F. 2003. The role of cortical cholinergic pre- and post-synaptic receptors in taste memory formation. *Neurobiol Learn Mem.* 79(2):184-193.
80. Ramírez-Lugo, L., Núñez-Jaramillo, L. & Bermúdez-Rattoni, F. 2007. Taste memory formation: role of nucleus accumbens. *Chem Senses.*32 (1): 93-97.
81. Reilly, S. 1999. The parabrachial nucleus and conditioned taste aversion *Brain Research Bulletin* 48(3): 239-254.
82. Rescorla, R.A. 2004. Spontaneous recovery. *Learning and Memory* 11 (5): 501-509.
83. Revusky, S.H. 1968, Aversion to sucrose produced by contingent X-irradiation: *J Comp Physiol Psychol* 65: 17-22.
84. Rodríguez-Ortiz, C.J., De la Cruz, V., Gutiérrez, R. & Bermudez 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.
85. Rodríguez-Ortiz, C.J & Bermudez-Rattoni F, 2007. Memory reconsolidation or updating consolidation? In: F. Bermudez-Rattoni, Editor, *Neural plasticity and memory: From genes to brain imaging*, Taylor and Francis Group, Florida: 209-224.
86. Rodríguez-Ortiz, C.J., Garcia-Delatorre, P., Benavidez, E., Ballesteros, M.A. & Bermudez-Rattoni F. 2008 Intrahippocampal anisomycin infusions disrupt previously consolidated spatial memory only when memory is updated. *Neurobiol Learn Mem.* 26: 1-8.

87. Rosenblum, K., Meiri, N. & Dudai Y. 1993. Taste memory: The role of protein synthesis in gustatory cortex. *Behav Neural Biol.* 59 (1): 49-56.
88. Rozin, P. 1969. Central or peripheral mediation of learning with long CS-US intervals in the feeding system: *Journal of Comparative and Physiological Psychology.* 67: 421-429.
89. Rozin, P. 1977 The significance of learning mechanisms in food selection: some biology, psychology and sociology of science, in LM Barker, M.A., Best, & Domjan, M. (eds), *Learning Mechanisms in Food Selection: TX, Baylor University Press: 557-589.*
90. Sakai, N. & Yamamoto T. 1999. Possible routes of visceral information in the rat brain in formation of conditioned taste aversion. *Neuroscience Research* 35: 53–61.
91. Saper, C. 2002. The Central Autonomic Nervous System: Consicuous Visceral Perception and Autonomic Pattern Generation. *Ann. Rev. Neurosci.* 25:433-469.
92. Sara, S.J. 2000. Retrieval and reconsolidation: Toward a neurobiology of remembering. *Learn. Mem.* 2: 73-84.
93. Smith, D.V. & St John S.J. 1999. Neural coding of gustatory information: *Curr Opin Neurobiol*, 9: 427-435.
94. Schafe, G.E., Sollar, S.I. & Bernstein, I.L. 1995, The CS-US Interval and taste aversion learning: a brief look. *Behavioral Neuroscience* 109: 799-802.
95. Spray, J.K. & Bernstein, I.L. 2004. Afferent and efferent connections of the parvicellular subdivision of NTS: defining a circuit involved in taste aversion learning *Behavioural Brain Research* 154: 85-97.
96. Strelakova, T., Zorner, B., Zacher, C., Sadovska, G., Herdegen, T. & Gass, P. 2003. Memory retrieval after contextual fear conditioning induces c-Fos and JunB expression in CA1 hippocampus. *Genes Brain Behav* 2: 3-10.
97. Suzuki, A., Josselyn, S.A., Frankland, P.W., Masushige, S., Silva, A.J. & Kida, S. 2004. Memory reconsolidation and extinction have distinct temporal and biochemical signatures, *J. Neurosci.* 24: 4787-4795.
98. Taubenfeld, S.M., Milekic, H., Monti, B. & Alberini, C.M. 2001. The consolidation of new but not reactivated memory requires hippocampal C/EBPbeta. *Nat. Neurosci.* 4: 813-818.

99. Tronel, S., Milekic, M.H. & Alberini, C.M. 2005. Linking new information to reactivated memory requires consolidation and not reconsolidation mechanisms. *PLoS Biol* 3(9): 1630-1637.
100. Tronson, N.C. & Taylor, J.R. 2007. Molecular mechanisms of memory reconsolidation. *Nat Rev Neurosci.* (4): 262-275.
101. Vianna, M.R.M., Szapiro, G., McGaugh, J.L., Medina, J.H. & Izquierdo, I. 2001. Retrieval of memory for fear-motivated training initiates extinction requiring protein synthesis in the rat hippocampus. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 98:12251-12254.
102. Walker, P., Brakefield, T., Hobson, J. & Stickgo, R. 2003. Dissociable stages of human memory consolidation and reconsolidation. *Nature* 425: 616-620.
103. Wright, C.I., Beijer, A.V., & Groenewegen, H.J. 1996. Basal amygdaloid complex afferents to the rat nucleus accumbens are compartmentally organized. *J Neurosci.* 16 (5):1877-1893.
104. Yamamoto, T., Matsuo, R., Kiyomitsu, Y. & Kitamura, R. 1989. Taste responses of cortical neurons in freely ingesting rats, *J. Neurophysiol.* 61: 1244-1258.
105. Yamamoto, T., Fujimoto, Y., Shimura, N. & Sakai. 1995. Conditioned taste aversion in rats with excitotoxic brain lesions. *Neuroscience Research* 22: 31-49.
106. Yamamoto, T, Nagai, T, Shimura, T & Yasoshima, Y. 1998. Roles of chemical mediators in the taste system. *Jpn J Pharmacol.* 76 (4): 325-348. Review.
107. Yamamoto, T. 2006. Neural substrates for the processing of cognitive and affective aspects of taste in the brain. *Arch Histol Cytol.* 69 (4):243-255.
108. Yasoshima, Y, Morimoto, T & Yamamoto, T. 2000. Different disruptive effects on the acquisition and expression of conditioned taste aversion by blockades of amygdalar ionotropic and metabotropic glutamatergic receptor subtypes in rats. *Brain Res.* 869(1-2):15-24

Sitios electrónicos

1. Gray, Henry. 2000. *Anatomy of the Human Body*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1918.
Disponible en www.bartleby.com/107/illus731.html