



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**PERSISTENCIA DE LA MEMORIA A LARGO PLAZO
EN UN APRENDIZAJE AVERSIVO AL OLOR DÉBIL**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A:

HILDA ALEJANDRA SÁNCHEZ DE JESÚS



**DIRECTOR DE TESIS:
DR. GABRIEL ROLDÁN ROLDÁN
2010**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Hoja de Datos del Jurado

1. Datos del alumno

Sánchez
de Jesús
Hilda Alejandra
56 31 44 86
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
300205981

2. Datos del tutor

Dr.
Gabriel
Roldán
Roldán

3. Datos del sinodal 1

Dra.
Robyn Elizabeth
Hudson

4. Datos del sinodal 2

Dr.
Oscar
Próspero
García

5. Datos del sinodal 3

Dra.
Margarita
Martínez
Gómez

6. Datos del sinodal 4

Dra.
Sylvia Leticia
Verdugo
Díaz

7. Datos del trabajo escrito.

Persistencia de la memoria a largo plazo en un aprendizaje aversivo al olor débil.
31 p
2010

DEDICATORIA

A mi padre, Hilario Sánchez Contreras y a mi madre, Alicia de Jesús.

A mi hermana Andy, a Adrián y a Gabriel.

A Jorge Tovar “Yorch” y Arturo Roldán “Ato-Stone”, por las involuntarias horas de felicidad sin igual.

AGRADECIMIENTOS

A los doctores:

Dr. Gabriel Roldán Roldán.

Dra. Robyn Elizabeth Hudson.

Dr. Oscar Próspero García.

Dra. Margarita Martínez Gómez.

Dra. Sylvia Leticia Verdugo Díaz.

A quienes agradezco sus comentarios para mejorar este trabajo.

Nos avocamos al estudio de la vida aún sin poder definirla del todo, nuestro deseo de comprenderla nos lleva a fragmentarla y a estudiar las partes por separado. Es así que cada estudio representa sólo una ínfima parte del conocimiento sobre ella y nos acerca sólo un poco más a comprenderla, incluso aún cuando los sucesos que la originaron permanecen velados.

Tabla de Contenido

Abreviaturas.....	5
RESUMEN	5
INTRODUCCIÓN.....	6
Aprendizaje y Memoria	6
Aprendizaje Alimenticio	8
Aprendizaje Toxicofóbico	9
• Condicionamiento Aversivo al Sabor.....	10
• Condicionamiento Aversivo al Olor.....	11
• Potenciación de la Aversión al Olor por el Sabor.	13
• Relevancia ecológico – evolutiva.....	18
• Relevancia como modelo de estudio.....	19
JUSTIFICACIÓN.....	20
OBJETIVOS.....	21
HIPÓTESIS	21
MÉTODO	21
Sujetos	21
Dispositivos de Pruebas Conductuales	21
Procedimiento Experimental	22
• Habitación.....	22
• Sesión de condicionamiento.....	22
• Pruebas de preferencia: evaluación de la memoria.	22
• Sesión de recuperación.....	22
• Experimento 1.	22
• Experimento 2.	23
Análisis de Datos	23
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	23
Experimento 1	23
Experimento 2	25
CONCLUSIÓN	28
REFERENCIAS	28
Recursos electrónicos.....	31

Abreviaturas

bw	Peso Corporal (body weight).
CAO	Condicionamiento Aversivo al Olor
CAS	Condicionamiento Aversivo al Sabor
EC	Estímulo Condicionado
EI	Estímulo Incondicionado
i.p.	Intraperitoneal
IP	Índice de Preferencia
LiCl	Cloruro de Litio
MCP	Memoria de Corto Plazo.
MLP	Memoria de Largo Plazo
POS	Potenciación de la Aversión al Olor por el Sabor

RESUMEN

En el aprendizaje aversivo al olor diferentes manipulaciones experimentales provocan la pérdida de memoria de largo plazo, la cuál ha sido atribuida a una imposibilidad de asociación entre los estímulos. Sin embargo, es posible que tal efecto amnésico se deba en realidad a una consolidación inadecuada. En el presente trabajo se utilizó un método de condicionamiento débil provocado por la disminución de la intensidad del EI y se evaluó la memoria aversiva al olor a diferentes intervalos; en grupos independientes se observó aversión a corto plazo (4 horas) y una disminución gradual de la misma al incrementar el intervalo entre el entrenamiento y la prueba de evocación (memoria de plazo intermedio a las 8 y 12 h). La aversión a largo plazo (48 h) no se genera, lo cual sugiere una consolidación inadecuada y no una imposibilidad de asociación entre estímulos. Sin embargo, el hallazgo más interesante fue que la aversión perdura en el largo plazo en aquellos animales que evocaron también a corto plazo, lo que sugiere que dicho evento temprano de evocación facilita la persistencia de la memoria, probablemente mejorando su consolidación. Dicho fenómeno no ha sido documentado previamente.

INTRODUCCIÓN

En términos biológicos, consideramos que los seres vivos son exitosos en la medida de su adecuación, es decir, mayor tiempo de supervivencia y mayor tasa de reproducción (Nuñez-Farfán y Eguiarte, 1999), lo que, en el caso de los animales, implica un mayor número de crías y una mejor oportunidad de mantener sus genes en la población y perpetuarse. Esto depende de diferentes factores, entre los que reconocemos: la genética del individuo, el ambiente y el azar. A su vez, de la interacción entre los genes y el ambiente, resultan las capacidades del individuo, entre las cuales podemos destacar al aprendizaje y la memoria como procesos imprescindibles tanto para la supervivencia como para la reproducción, ya que son necesarios en la adquisición de patrones conductuales complejos como el comportamiento alimenticio, el social y el sexual y reproductivo, entre muchos otros, así como en la modificación de dichas conductas frente a un entorno cambiante.

Aprendizaje y Memoria

Aunque tradicionalmente el aprendizaje ha sido considerado como una de las funciones nerviosas superiores en los mamíferos (Ambroggi et al., 1999), también existen numerosos ejemplos de aprendizaje en animales inferiores, incluyendo organismos unicelulares (Eisenstein et al., 1982; Csaba et al., 1984; Eisenstein, 1997). El aprendizaje consiste en adquirir información nueva, ya sea sobre el medio externo o interno (Ambroggi et al., 1999), lo que en determinadas circunstancias puede producir modificaciones conductuales pasajeras o permanentes (Ambroggi et al., 1999; Davis, 2005; Carlson, 2006). También se hace referencia al aprendizaje como el proceso que desencadena la formación de la memoria (Davis, 2005).

La memoria, a su vez, es el resultado de la codificación y almacenamiento de la información en células neurales, es decir, cambios estructurales y funcionales que son generados por la percepción y procesamiento de los estímulos gracias a la plasticidad de dichas células. Su existencia puede evidenciarse por la persistencia de modificaciones observables de la conducta (Ambroggi et al., 1999; Davis, 2005).

Como se mencionó anteriormente, ambas funciones son imprescindibles para la supervivencia de los individuos, ya que permiten la generación de respuestas distintas ante una variedad de estímulos, en particular aquellos potencialmente nocivos.

De acuerdo a sus características, el aprendizaje se ha clasificado en: a) asociativo o estímulo-respuesta, que incluye al condicionamiento clásico o pavloviano y al condicionamiento instrumental u operante; b) no asociativo, como la habituación y la sensibilización; c) impronta; d) perceptivo; e) motor; y f) relacional (Curtis et al., 2000; Bear et al., 2001; Kandel et al., 2001; Carlson, 2006).

La memoria por su parte, se clasifica según diferentes criterios. Por ejemplo, de acuerdo a los procesos involucrados, conscientes o inconscientes, se ha dividido en: memoria explícita (declarativa o de reconocimiento), concerniente al conocimiento y recuerdo objetivo y consciente (eventos), almacenada en la corteza asociativa entre otras estructuras; y memoria implícita (no declarativa, de hábito o de procedimiento) concerniente al conocimiento y recuerdo inconsciente de cómo hacer algo (hábitos y patrones motores), e implica circuitos perceptuales, motores y emocionales (Curtis et al., 2000; Bear et al., 2001; Kandel et al., 2001). A su vez, la memoria explícita se subdivide en episódica (acontecimientos y experiencia personal) y semántica (memoria para los hechos).

Otras clasificaciones de la memoria la dividen según su duración, en memoria de corto plazo y de largo plazo; si los recuerdos corresponden a hechos ya ocurridos (memoria retrógrada), o por la capacidad de establecer nuevas memorias a partir de un momento dado (memoria anterógrada) (Curtis et al., 2000); y de acuerdo al sistema sensorial involucrado: visual, auditiva, gustativa, olfativa y táctil. Kandel y colaboradores (2001) mencionan además la memoria de sensibilización, cuando el recuerdo de las palabras o los objetos mejora por la exposición previa a dichos estímulos.

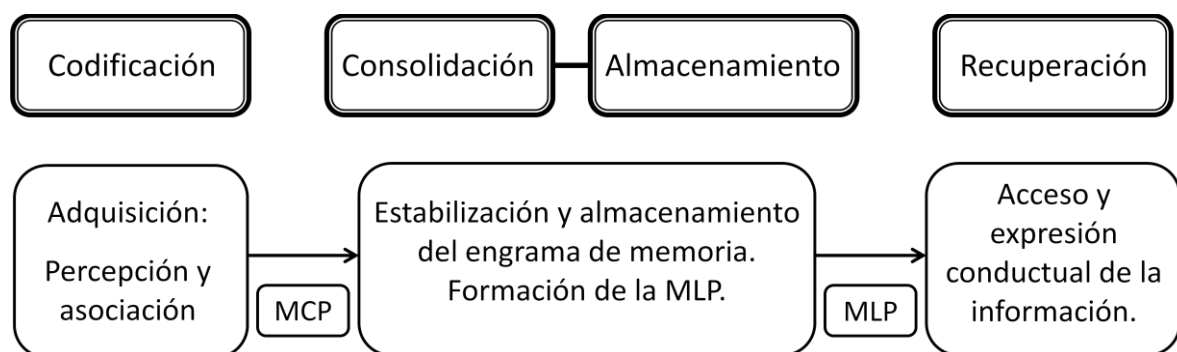


Figura 1. Fases de los procesos mnémicos de acuerdo con Ambroggi y colaboradores (1999).

De acuerdo con Ambroggi y colaboradores (1999), los procesos mnémicos están formados por cuatro fases secuenciales: codificación, consolidación, almacenamiento y

recuperación. Durante la codificación, la información es adquirida (es formada una huella de memoria o engrama), sucesivamente el engrama es consolidado –un proceso dependiente del tiempo (McGaugh, 1966), almacenado y posteriormente recuperado cuando es necesario. Tras la adquisición, la información obtenida es vulnerable y puede ser alterada o perdida en esta fase temprana; posteriormente, la memoria se estabiliza tras la consolidación y es más resistente; la recuperación también está sujeta a la distorsión. Las fases de la memoria se esquematizan en la Figura 1.

Aprendizaje Alimenticio

En el caso de la conducta alimenticia, el aprendizaje y la memoria son también indispensables para la supervivencia de los individuos en distintos componentes de la conducta alimenticia bien identificados (Bures et al., 1998): a) reconocimiento de las necesidades del cuerpo, causado por niveles bajos de sustratos ricos en energía (manifestado como hambre) o por ausencia de una sustancia esencial (apetito específico); b) identificación de las sustancias disponibles, cuya ingestión provee los nutrientes necesarios, satisfaciendo la necesidad pendiente al encontrar y consumir una cantidad suficiente (Domjan, 2005); y c) procesos regulatorios que hacen la ingestión directamente proporcional a la intensidad de la necesidad. El aprendizaje participa en la formación de hábitos alimenticios: identificación de los alimentos, la forma de conseguirlos, la selección de los mismos y la asociación de sus propiedades con las consecuencias de su ingesta. De acuerdo con Sclafani (1997) y Bures y colaboradores (1998) estas asociaciones se forman entre estados viscerales (señalados a través de aferencias viscerales) y estímulos externos (mediados por aferencias gustativas, olfativas, visuales y somatosensoriales). El aprendizaje de selección de alimento implica entonces relacionar las señales específicas del alimento (sabor, olor, textura o apariencia) con las consecuencias de su ingestión. Este tipo de aprendizaje durante el forrajeo tiene valor adaptativo (Batsell y Blankenship, 2002), se encuentra en todos los niveles filogenéticos y toma en cuenta tanto el valor nutricional de los alimentos como su accesibilidad en condiciones específicas (Bures et al., 1998).

A lo largo de la evolución, diferentes presiones de selección han influido en el comportamiento alimenticio, resultando en mecanismos neurales y humorales robustos que forman las bases de la motivación y de los fenómenos de aprendizaje y memoria

indispensables para la identificación de comestibles, cuyo consumo satisface necesidades diferentes (Bures et al., 1998).

Los procesos de asociación entre las propiedades del alimento y las consecuencias de su ingesta son eventos relevantes para los individuos (Revusky, 1971), tanto en el caso de consecuencias favorables, como la satisfacción de necesidades fisiológicas específicas, por ejemplo la reposición de calorías o la compensación de deficiencias vitamínicas, como de efectos desfavorables, tales como malestar gástrico e intoxicaciones. De acuerdo con Bures y colaboradores (1998) estas asociaciones sólo pueden lograrse mediante un proceso de aprendizaje riguroso, el cuál es considerado una forma de adaptación al ambiente cambiante (Staddon, 1983).

Aprendizaje Toxicofóbico

En el segundo caso, cuando las consecuencias de la ingesta son desfavorables, tras su recuperación los animales desarrollan una aversión específica al alimento ingerido, lo que se conoce como condicionamiento toxicofóbico, un fenómeno natural conservado en casi todas las especies animales (Lorden et al., 1970; Desgranges et al., 2008) en el que las propiedades organolépticas del alimento (estímulo condicionado, EC) se asocian con las consecuencias viscerales nocivas de su ingesta (estímulo incondicionado, EI) (Chapuis et al., 2007). Es una forma de aprendizaje asociativo que pertenece a la categoría de memoria no declarativa o implícita y es crucial para la supervivencia de los individuos, puesto que implica diferenciar los alimentos inocuos de aquellos que son tóxicos y rechazar estos últimos al verlos, olerlos o probarlos sin ingerirlos. La especificidad del aprendizaje (ya que la aversión no se generaliza a otros alimentos) es la base de un comportamiento alimenticio adaptativo (Chapuis et al., 2007).

Este fenómeno se produce artificialmente en el control de plagas, caso descrito en 1953 por Julian Rzóska, quien observó la evitación de cebos envenenados por ratas y describió el comportamiento de los roedores en la presentación sucesiva de cebos con distintos venenos y alimentos; encontró que la discriminación del alimento que se presenta con el veneno (alimento base), es responsable de la evitación; además, como se observó con mayor detalle en estudios posteriores, la aversión se desarrolla en un rango amplio de tiempo dependiendo del efecto del veneno, el grado de malestar y la naturaleza del alimento base, y que las experiencias sucesivas pueden reforzar o superponerse a las previas. Describió también variaciones individuales en el aprendizaje

y el comportamiento, y que la naturaleza del cebo (consistencia, gusto y sabor) influye en el grado y duración de la memoria.

- Condicionamiento Aversivo al Sabor.

Más adelante, el condicionamiento toxicofóbico como fenómeno de aprendizaje usando solamente un estímulo gustativo fue descrito por John García y colaboradores en 1955. Asociaron el sabor de la sacarina (EC) con el efecto nocivo (EI) provocado por radiación gamma en ratas y encontraron un decremento en la preferencia por el EC directamente proporcional a la cantidad de radiación, lo que se fortalece a través de apareamientos repetidos de los estímulos. El condicionamiento “parece ser” dependiente de la dosis en términos de la fuerza de la aversión a la sacarina y la persistencia de dicha aversión. Este modelo, con estímulos gustativos, es conocido como condicionamiento aversivo al sabor (CAS) y ha sido evaluado en numerosas especies, incluyendo al hombre (García et al., 1974; García et al., 1976).

En 1966 el mismo autor y otros colaboradores asociaron el sabor de la sacarina con trastornos gástricos provocados por apomorfina, retrasando la inyección de la droga desde los 5 y hasta los 180 minutos; también asociaron el sabor de la sacarina con descargas eléctricas, tres (con una duración de 0.5 segundos) en un minuto, inmediatamente después del consumo de sacarina. Encontraron que los animales son capaces de asociar el sabor de la sacarina con los efectos de la droga con retrasos de hasta 75 minutos, y que los animales que recibieron descargas eléctricas fueron incapaces de asociarlos con el mismo sabor, en cambio, asociaron las descargas con señales visuales y auditivas. Se observó en este y otros trabajos que la relevancia del aprendizaje aversivo al sabor permite la asociación entre estímulos con un solo entrenamiento, aún cuando el intervalo entre estímulos sea de varios minutos e incluso varias horas (Smith y Roll, 1967 en Domjan, 2005; Revusky, 1971; Palmerino et al., 1980). También se ha descrito en otros estudios que las señales olfativas son más efectivas que las gustativas en la evitación de descargas, mientras que las gustativas son más efectivas en la aversión a los alimentos provocada por intoxicación (sobre todo si se trata de un sabor nuevo) (García y Koelling, 1966; Domjan y Wilson 1972), lo que se ha considerado como una capacidad moldeada evolutivamente debido a la relación entre estos estímulos en condiciones naturales: es fácil asociar señales externas con dolor periférico y señales internas con dolor visceral.

- Condicionamiento Aversivo al Olor.

Para 1970, Lorden y colaboradores, con el fin de evaluar el papel de las señales olfativas por sí mismas, asociaron un estímulo exclusivamente olfativo o una combinación de olfativo y gustativo con un fármaco anticancerígeno, la ciclofosfamida, y encontraron que se puede producir aversión a un olor cuando se asocia de forma selectiva con los efectos tóxicos de la droga; encontraron también que la aversión es específica para dicho olor, como se había observado previamente para los estímulos gustativos (Tapper y Halpern, 1968), si bien ya en 1965 García y colaboradores habían mencionado la aversión al alimento mediante “un simple olfateo” (García y Koelling, 1965 en García y Koelling, 1966). Este tipo de aprendizaje, con estímulos puramente olfativos es conocido como condicionamiento aversivo al olor (CAO), en el cual el efecto de aversión puede observarse midiendo una respuesta distinta a la consumatoria, es decir, sin que la rata pruebe el agua.

Considerando que el olfato es un telorreceptor externo, Hankins y colaboradores (1973) realizaron una serie de experimentos para comparar las características del CAO con las del CAS. Evaluaron la habilidad de ratas intactas para asociar un olor con un malestar interno en diferentes condiciones: con el estímulo olfativo en un disco alrededor del tubo del bebedero, sin contacto directo, y con el mismo estímulo olfativo debajo del bebedero (impregnado en el cuarto de experimentación); y utilizando diferentes intervalos en el retraso del malestar. Se evaluó también la habilidad de ratas anósmicas para asociar a) gusto, b) olor y c) gusto y olor (sabor) con malestar interno y en asociaciones ruido-descarga eléctrica, comparando los efectos de dos métodos de producir anosmia: la ablación del bulbo olfativo (anosmia irreversible) y la aplicación tópica de sulfato de zinc en la mucosa olfativa (anosmia reversible). Encontraron que la aversión al olor se produce sólo cuando el EI se presenta rápida y repetidamente tras el EC, mientras que no se desarrolla aversión cuando el intervalo interestímulos alcanza los 30 minutos; por el contrario, la aversión al sabor se produce con un solo ensayo, es más evidente que la aversión al olor y persiste con el retraso del EI de 30 minutos, lo que, de acuerdo con ellos, indica que las señales olfativas son menos efectivas en relación a las gustativas en el condicionamiento toxicofóbico.

En el caso de las ratas anósmicas, bajo ninguno de los procedimientos presentaron neofobia, es decir, reticencia a consumir un olor nuevo; las ratas bulbectomizadas

tuvieron deficiencias en la adquisición de aversión gustativa en comparación con las ratas con anosmia periférica y los animales control. A su vez, los animales con anosmia periférica adquirieron la aversión ligeramente más rápido que los controles. Para la asociación ruido-descarga eléctrica, encontraron que el desempeño de los animales bulbectomizados fue deficiente en comparación con los otros dos grupos, que no difirieron entre sí; además la extinción de la memoria se presentó más rápido en las ratas bulbectomizadas. También en estas pruebas el desempeño de los animales con anosmia periférica fue ligeramente superior que el de los controles.

De lo anterior concluyen que el gusto ejerce un control más poderoso y directo que el olor sobre la ingestión, ya que aún cuando los animales son capaces de asociar eventos del ambiente externo con eventos del medio interno, las respuestas condicionadas son cuantitativa y cualitativamente distintas. Mencionan también que aún cuando los animales pueden usar las señales olfativas para evitar el contacto con la lengua, el olfato no juega un papel indispensable en el ajuste de palatabilidad del alimento, lo que complementan con evidencia anatómica: la convergencia de aferencias gustativas en el núcleo del tracto solitario, igual que aferencias desde las vísceras y el área postrema - que monitorean los estados internos y los fluidos corporales-, mientras que las aferencias olfativas no se relacionan con el sistema de retroalimentación interna, sino con el sistema límbico, involucrado en respuestas afectivas, aunque, como se verá más adelante, estudios posteriores contrastan con esta idea (Slotnick et al., 1997).

De acuerdo con sus resultados, estos autores consideran como funciones olfativas la telerrecepción, la discriminación del alimento a distancia y las reacciones neofóbicas.

Para 1974 se consideran como principios inequívocos establecidos que: 1) la aversión inducida por la enfermedad es mayor cuando el sabor del alimento o la bebida es más fuerte; 2) dado un sabor constante, la aversión por el sabor es más fuerte si el malestar es más severo; 3) dados un sabor constante y la severidad del malestar equivalente, la fuerza de la aversión está inversamente relacionada con el lapso de tiempo entre el consumo y el malestar, considerando que el sabor del alimento es la única señal que las ratas asocian con malestares tardíos (García et al., 1974). Como se discutirá más adelante, esta última asunción contrasta con el estudio de Slotnick y cols. (1997) y con datos de nuestro laboratorio. Se asume además que el gusto, y no la olfacción, es la modalidad primaria y suficiente para la adquisición de aversiones alimenticias, y que, aún cuando el olfato está involucrado en la alimentación por su cercanía con la boca, no

juega un papel primario en el ajuste de los incentivos alimenticios y más bien está funcionalmente relacionado con el medio externo, la identificación de la comida y la activación del apetito.

- Potenciación de la Aversión al Olor por el Sabor.

En otros modelos de condicionamiento, cuando dos estímulos condicionados se presentan simultáneamente y son pareados con un estímulo incondicionado, el resultado típico, conocido como interferencia o superposición, es que la presencia de un estímulo condicionado interfiere con el condicionamiento del otro (Domjan, 2005). Contrario a este efecto, en el condicionamiento alimenticio ocurre un fenómeno interesante, Rusiniak y colaboradores (1979) asociaron gusto, olor y ambos con el malestar provocado por LiCl y, a diferencia de los experimentos realizados por Hankins y colaboradores, evaluaron la eficacia del olor y el gusto por separado, en ratas normales y anósmicas. Encontraron que cuando se condiciona el olor en conjunto con una señal gustativa efectiva, la presencia del gusto facilita el condicionamiento del olor, en lugar de interferir con él, de modo que la aversión al olor es aumentada, volviéndose por lo menos igual de fuerte, es decir, ocurre una potenciación sinérgica de la aversión al estímulo débil (olor) inducida por el estímulo fuerte (gusto), fenómeno conocido como potenciación de la aversión al olor por el sabor (POS). El patrón observado es opuesto al efecto de interferencia, en el cual el componente fuerte de un EC compuesto bloquea el condicionamiento del componente débil, ya que concentraciones mayores de sacarina no bloquean el condicionamiento del olor a almendra, sino que el olor se vuelve más aversivo en proporción directa a la concentración de sacarina. Cuando se combina con concentraciones gustativas más fuertes, el componente olfativo ha probado ser de hecho más fuerte que el gustativo, incluso tras una serie de pruebas de extinción.

Dichos autores mencionan que el efecto de interferencia se observa cuando ambos componentes de una señal compuesta juegan el mismo papel funcional; olor y gusto, en cambio, no son redundantes en la secuencia de ingestión, se trata de señales complementarias, cada una con una función específica.

Las respuestas observadas son consistentes con la noción de que el control conductual de las respuestas apetitivas y de consumación en la rata de laboratorio están dissociadas, suponiendo al olor como señal distal que guía las respuestas de acercamiento y al gusto como señal proximal que guía la ingestión. Estos autores consideraron que el fenómeno

es importante para los individuos en tanto que los animales forman una aversión selectiva para señales distales, lo que les permite evitar el riesgo de envenenamiento sin probar el fluido, de modo que, en términos de eficiencia resulta una mejor señal. Sus resultados muestran que olor y gusto en conjunto son un estímulo más poderoso que por sí solos.

En 1980 Palmerino y colaboradores examinaron el efecto de la exposición previa a los estímulos y del retraso en la presentación del EI en la POS, refiriéndose al olor como una señal débil por sí sola para venenos de acción lenta, cuyo condicionamiento es facilitado por estímulos gustativos fuertes. Expusieron a las ratas a nuevos estímulos olfativos y gustativos por separado y como estímulo compuesto (un ensayo), y a cada estímulo de manera secuencial (dos ensayos), condicionaron dichos estímulos tanto juntos como por separado en un solo ensayo y evaluaron la reacción aversiva de forma individual en pruebas independientes. De forma general, sus resultados indican la potenciación del olor por el sabor: encontraron que el estímulo olfativo se condiciona únicamente al presentarse junto con el gustativo. Por otra parte, la exposición previa a los estímulos de forma secuencial perturba el efecto de potenciación; la exposición al estímulo compuesto lo debilita un poco, lo que sugiere que la asociación de los estímulos durante el condicionamiento es más importante que durante la exposición previa.

Considerando la perturbación del aprendizaje asociativo al extender el intervalo entre estímulos, se han propuesto dos posibles explicaciones: 1) que la huella de la memoria olfativa decae con el paso del tiempo hasta perderse y, por lo tanto, ya no está disponible cuando se presenta el EI retrasado, lo que impide su asociación, y 2) que hay eventos distractores (interferencia) durante el intervalo interestímulos que obstruyen la asociación. La segunda explicación considera a la olfacción como un canal congestionado, ya que las ratas están oliendo constantemente diversas señales olfativas ambientales, en tanto que el gusto se considera más efectivo para intervalos interestímulos largos debido a que está “protegido” de dicha interferencia. Con el propósito de determinar si en la POS los olores quedan también “protegidos” de la interferencia, estos autores examinaron el efecto de intervalos interestímulos variados sobre un olor, condicionado sólo o junto con un estímulo gustativo, sin exposición previa. Hallaron que la POS ocurre con retrasos del EI de hasta dos horas, de lo que concluyen que cuando un olor es acompañado por un gusto y seguido por

retroalimentación visceral por una toxina, el olor adquiere algunas de las propiedades mnémicas del gusto; al asociarse con el gusto como propiedad sensorial del alimento (categorizado como estímulo alimenticio), queda “protegido” de la interferencia con otros olores y permanece disponible para el condicionamiento tras intervalos interestímulos largos. Sin embargo, no se ha explicado como ocurriría dicha “protección”. Se discute el papel que el olor y el gusto jugaron en la evolución, considerando a la olfacción como un canal de información multipropósito, que debido a su relación con el sistema límbico ha sido implicado en gran variedad de emociones, y al gusto idealmente adecuado para indicar olores acompañantes como señales relacionadas con la comida. Sin embargo, las dos explicaciones planteadas sobre la perturbación del aprendizaje con intervalos interestímulos largos contrastan también con datos recientes de nuestro laboratorio (Tovar-Díaz et al., 2010).

En 1986 Bouton y colaboradores describieron diferencias en la interacción entre olor y gusto, generadas por la forma de presentación del olor en el CAO. Encontraron que el sabor a sacarina potenció la aversión al olor de almendra cuando éste se presentó cerca del bebedero, mientras que al presentarlo mezclado en el agua se presentó el fenómeno de interferencia. Esta diferencia depende de la forma de administración del olor durante el condicionamiento más que durante la prueba.

El olor como señal distal (cercano al bebedero) suprimió el acercamiento al bebedero y se condicionó más débilmente que el olor como señal proximal (mezclado en el agua), que suprimió el consumo.

Cuando se trató de potenciar un olor con otro, a diferencia del sabor proximal a sacarina, el olor proximal no fue capaz de potenciar otro olor colocado distalmente.

De acuerdo con sus resultados, sugieren que la diferencia en la facilidad de condicionamiento de los olores colocados distal y proximalmente puede ser crítica en la producción de la potenciación. El sabor a sacarina potencia particularmente aquellos estímulos que se condicionan débilmente.

Tomando en cuenta tal diferencia en la efectividad del olor cuando éste forma parte del fluido y cuando se encuentra en una ubicación próxima (Bouton et al., 1986), Slotnick y colaboradores (1997) realizaron pruebas para comparar la efectividad del olor y el gusto cuando ambos constituyen atributos intrínsecos de la ingesta. Encontraron que cuando el olor se encuentra mezclado en la bebida, sin propiedades gustativas (por debajo del

umbral de detección), la efectividad del olor está directamente relacionada con su concentración, igual que como ocurre con el gusto; la fuerza de la aversión obtenida con un gusto es equiparable a la de un olor utilizando una concentración apropiada, es decir, un olor puede ser tan efectivo como un gusto con un solo entrenamiento. Encontraron también que el olor fue tan efectivo como el gusto en pruebas con intervalos interestímulos de una y cuatro horas.

También evaluaron el grado en el que olor y gusto potencian la aversión del contrario: confirmaron que la potenciación de la aversión al olor por el sabor (gusto) es dependiente del uso de una señal olfativa débil. El nuevo hallazgo fue que también el olor es capaz de potenciar la aversión por el gusto con las concentraciones más bajas de sacarina. En concentraciones mayores para ambos estímulos se observó superposición.

Discuten que las diferencias en el trabajo de Bouton y colaboradores (1986) con respecto a la potenciación de la aversión al olor se debieron a la “condicionabilidad” del olor más que a su localización espacial (interpretación que contrasta con la de Chapuis y colaboradores (2007)), lo cual, de acuerdo con ellos, se confirma con la potenciación de la aversión al gusto por el olor cuando el gusto es débilmente asociable con el malestar y no cuando es fuertemente asociable.

Finalmente, evaluaron si la potenciación de la aversión al gusto por el olor fue resultado de co-ocurrencia del olor y el gusto, o bien, debido a la posibilidad de la generalización de la aversión del olor al gusto; encontraron que la aversión al gusto es potenciada por el olor y que esta se debe a la co-ocurrencia del olor y el gusto y no a una generalización.

Discuten también que los mecanismos neurales que se presumía mediaban la “ventaja” del gusto en la aversión alimenticia (convergencia de aferencias gustativas y viscerales a nivel del núcleo del tracto solitario) no han sido corroborados con datos conductuales; de hecho, y también ellos lo comentan, es en realidad la amígdala (que recibe aferencias tanto gustativas como olfativas) la estructura que parece tener un papel crítico en la adquisición de aversiones (e.g. Roldán-Roldan et al., 1994; Ferry et al., 1999; Desgranges et al., 2008). De acuerdo con ellos, deben existir interacciones sensoriales entre olor y gusto en la boca que crean la percepción de un sabor para la rata, igual como sucede para los humanos; la aversión al compuesto provoca una mayor evitación. Se acepta que los olores en la boca comparten otras propiedades de los sabores en el aprendizaje aversivo al alimento, pudiendo señalar la inocuidad del fluido o su potencial toxicidad.

Las condiciones experimentales distintas utilizadas en estas pruebas generan resultados que contrastan con los datos previos (e.g. Hankins et al., 1973; García et al., 1974; Rusiniak et al., 1979; Palmerino et al., 1980), retando el papel privilegiado de los estímulos gustativos en la aversión alimenticia.

Chapuis y colaboradores (2007) complementaron el experimento anterior (Slotnick et al., 1997) siguiendo la afirmación de que el olor es una señal menos efectiva para el malestar como consecuencia de un sesgo metodológico al colocar los olores cerca y no en el fluido consumido. Evaluaron el papel de la experiencia olfativa orthonasal (en la cual el olor llega a la mucosa olfativa a través de los nostrilos) y retronasal (cuando el estímulo se introduce en la boca, la estimulación de receptores olfativos se alcanza a través de la nasofaringe) en el CAO, para lo cual compararon las características inducidas por ambas formas de presentación del estímulo: cerca del bebedero (estimulación orthonasal) y tanto cerca del bebedero como mezclado con el agua (ambos tipos de estimulación). Sus experimentos evalúan: 1) el efecto del incremento del intervalo interestímulos y el cambio del modo de presentación del olor durante la adquisición y la evocación; también investigaron la evocación a largo plazo del aprendizaje y la especificidad del olor, y 2) la importancia del modo de presentación del olor en la extinción del CAO y sus consecuencias en el largo plazo.

En el primer experimento encontraron un claro condicionamiento aún con intervalos interestímulos largos (hasta 120 minutos) cuando el estímulo olfativo se presenta orthonasal y retronasalmente, sin embargo, la fuerza de la aversión depende del retraso entre estímulos, siendo mayor con retrasos menores. Cuando el olor no es una característica intrínseca del líquido, el condicionamiento sólo tiene lugar con intervalos cortos, lo que confirma la importancia de la ingestión del EC para el desarrollo de un CAO fuerte y estable. El desarrollo de una aversión resistente a un retraso interestímulos de varias horas depende de la ingestión del olor durante el condicionamiento, no durante la evocación, ya que el reconocimiento olfativo distal en la sesión de prueba fue suficiente para que la rata evitara el fluido. Una vez adquirido, el CAO es de larga duración (50 días) y específico para el olor condicionado, ya que no se presentó aversión hacia un olor control, sin importar la forma en que fue adquirido.

En el segundo experimento observaron que la aversión se perdió de forma gradual para ambas presentaciones a lo largo de 5-6 días de pruebas-extinción. La extinción es descrita como el declive en la expresión de una respuesta condicionada consecutivo a la

exposición repetida al EC en ausencia del EI; no refleja un borrado o “desaprendizaje”, sino un proceso de reaprendizaje: asociación entre el EC y la ausencia del reforzador original. Ambos grupos recuperaron espontáneamente la aversión al olor 50 días después de su extinción.

Consideran que el aprendizaje con intervalos interestímulos largos mediante la ingestión del olor está relacionado con la diferente percepción y procesamiento del estímulo durante el consumo del líquido; asimismo, sugieren la posibilidad de que existan diferencias en patrones de activación neuronal, considerando que la naturaleza y dirección de la “corriente” del olor a través de la mucosa olfativa pueden ser factores importantes en la discriminación de los olores. Asumen que un olor proximal es almacenado de forma más efectiva en la memoria de corto plazo que uno distal, y retoman la propuesta de Ferry y colaboradores (1996) de que la MCP del EC es la que se asocia con el EI. Su interpretación contrasta con resultados de nuestro laboratorio (Tovar-Díaz et al., 2010), en donde la presentación distal del estímulo olfativo genera una clara aversión (evaluada a corto plazo). Según estos autores, posiblemente la diferente percepción y procesamiento del estímulo en la presentación retronasal tengan un efecto sobre la consolidación.

De acuerdo con sus resultados, la olfacción retronasal es importante para asociar el consumo de un alimento con un olor nuevo y el malestar gástrico posterior, mientras que la olfacción ortonasal permite la evitación del alimento sin consumirlo. Asimismo, más que una dualidad que podría implicar sistemas olfativos completamente separados, sus datos resaltan una complementariedad ecológica entre las dos estimulaciones olfativas creada a través del aprendizaje.

- Relevancia ecológico – evolutiva.

El aprendizaje toxicofóbico tiene valor adaptativo porque permite a los animales evitar comida tóxica (y el envenenamiento resultante) en encuentros posteriores, lo que prolonga la supervivencia (Lucas y Sclafani, 1995; Bures et al., 1998; Maren, 2001), que a su vez puede permitir una reproducción mayor, promoviendo la adecuación directa o indirectamente (Domjan, 2005). Una ventaja en el caso del CAO es que la intoxicación puede evitarse incluso sin probar el alimento (Lorden et al., 1970; Rusiniak et al., 1979). Además, de acuerdo con Rozin (1982), la olfacción es la única modalidad sensorial dual, en la que se detectan tanto los objetos en el mundo externo como en el

cuerpo, de modo que la misma estimulación olfativa puede ser percibida y evaluada en dos formas cualitativamente diferentes.

Aunque en otras formas de condicionamiento clásico el EC puede ser arbitrario o neutral con respecto al EI, en el caso del condicionamiento toxicofóbico el EC no es neutral, ya que se trata de señales directamente relacionadas con el alimento (sus propiedades sensoriales), de gran relevancia biológica (Slotnick, 1997; Domjan, 2005), que despiertan respuestas más vigorosas. Los efectos condicionados varían en función de la relevancia ecológica del EC: estímulos relacionados de forma natural (como los del condicionamiento alimenticio) podrían ser más intensos o “salientes” y por lo tanto menos susceptibles de ser bloqueados (Domjan, 2005), lo que probablemente le brinda a este condicionamiento sus propiedades particulares, como la especificidad del aprendizaje a las señales e información específica sobre la relación temporal entre los estímulos (Kehoe et al., 1989; Blaisdell et al., 1998; Denniston et al., 1998; Savastano et al. 1998, en Domjan, 2005).

- Relevancia como modelo de estudio.

El condicionamiento clásico es el modelo más utilizado para el estudio del aprendizaje asociativo, ya que involucra la vinculación entre el EC y el EI, que se puede identificar por sus consecuencias conductuales: el surgimiento y/o el cambio de respuestas (respuestas condicionadas) frente al EC (Domjan, 2005). En este modelo particular, el decremento significativo del consumo de agua, en comparación con el grupo control, se interpreta como la demostración conductual de la adquisición de un CAO efectivo.

Aún cuando el CAO puede ser un fenómeno artificial, considerando que en condiciones naturales difícilmente se ingieren alimentos sin propiedades gustativas, éste y otros modelos de aprendizaje olfativo se han utilizado por varias décadas para el estudio de la memoria (Sánchez-Andrade y cols., 2005), ya que representan una forma relativamente simple de aprendizaje, que es además rápido, robusto y genera memorias de larga duración que se pueden probar experimentalmente de forma sencilla; además el sistema olfativo está relativamente bien caracterizado.

Adicionalmente, este modelo permite realizar manipulaciones antes, entre y después de los estímulos, lo que representa una ventaja para el análisis de las etapas (teóricas) del proceso de adquisición y/o formación de la memoria.

JUSTIFICACIÓN

Como se evidenció en la crónica precedente, las señales olfativas fueron largamente consideradas como inefectivas (Hankins et al., 1973) o débiles (Rusiniak et al., 1979) en el condicionamiento aversivo, a excepción de estudios en condiciones especiales, como la presentación del olor mezclado en el fluido de consumo (Bouton et al., 1986; Slotnick et al., 1997; Chapis et al., 2007), que muestran resultados distintos. Sin embargo, incluso en estudios recientes se considera que la debilidad de la memoria olfativa bajo condiciones subóptimas de aprendizaje, como intervalos interestímulos largos, se debe a una imposibilidad de asociación entre los estímulos (e.g. Ferry et al., 1999; Ferry et al., 2007), -ya sea porque la huella de la memoria olfativa decae rápidamente en el tiempo, imposibilitando la asociación, o porque hay interferencia de otros estímulos durante el intervalo. Sin embargo, esta conclusión se basa en experimentos que evalúan la memoria a largo plazo, al menos 48 horas después del entrenamiento, lo que excluye la posibilidad de discernir entre una falta de asociación o una consolidación inadecuada de la memoria.

Datos recientes de nuestro laboratorio (Tovar-Díaz et al., 2010) muestran que la memoria aversiva al olor se mantiene aún con intervalos interestímulos largos, presentando el estímulo olfativo distalmente, cuando se evalúa la memoria a corto plazo (cuatro horas después del entrenamiento), lo que indica que la falta de MLP se debe a un problema de consolidación y no de asociación.

Existe entonces una seria controversia en cuanto al papel del olor en el condicionamiento toxicofóbico: por una parte se considera como débil e inefectivo (incapaz de asociarse con el EI en condiciones subóptimas de aprendizaje) y por otra, se ha encontrado que puede ser tan efectivo como el sabor, dependiendo del modo en que se presenta el estímulo. De acuerdo con datos de nuestro laboratorio, una evaluación a corto plazo de la memoria puede darnos más información sobre el papel del estímulo olfativo en este modelo.

El presente estudio se diseñó con el objeto de evaluar la existencia de memoria aversiva al olor de corto plazo en otra forma de aprendizaje débil. Utilizamos dosis bajas del EI, en este caso LiCl, condición en la que no se forma MLP, con el fin de estimar la generalización del fenómeno (no sólo en aprendizaje débil por intervalos interestímulos largos), es decir, suponemos que en un aprendizaje débil se forma una MCP que no llega a consolidarse a MLP. Finalmente, buscamos evaluar la MLP tras la evocación a

corto plazo, con el fin de determinar el efecto de dicha prueba de evocación a corto plazo sobre la consolidación de la memoria.

OBJETIVOS

- Evaluar la memoria aversiva al olor a diferentes intervalos después del entrenamiento, con dosis bajas de LiCl en grupos independientes.
- Evaluar la MLP tras la evocación de la MCP en estas condiciones de aprendizaje.

HIPÓTESIS

- 1) Existe asociación entre estímulos y se genera MCP aún cuando se trata de una forma de aprendizaje débil en la que no existe consolidación de la MLP.
- 2) La evocación a corto plazo favorece la consolidación.

MÉTODO

Sujetos

Ratas macho de la cepa Wistar con un peso entre 250 y 300 gramos, obtenidas del bioterio de la Facultad de Medicina, fueron alojadas tres días antes del experimento por parejas de peso similar en cajas de acrílico de 34x24x15.5 cm en el bioterio del laboratorio, con un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas (luz 8:00 a 20:00) y temperatura controlada.

Dispositivos de Pruebas Conductuales

Cajas de acrílico rectangulares de 50x40x18.5cm, con perforaciones circulares de 1.8 cm de diámetro en los lados cortos, situadas centralmente y a 11 cm. de altura desde la base. Al exterior de estos orificios se colocaron cilindros de plástico de tres cm de diámetro conteniendo los discos de olor –en los casos correspondientes. El agua fue dispuesta en pipetas graduadas de 27 ml sostenidas verticalmente por barras de acrílico, con la punta a 0.6 cm frente a las perforaciones de la caja. Esta disposición permite la exposición continua al olor durante el consumo de agua. Las pruebas se realizaron en una habitación separada del bioterio, aislada acústicamente y con extractor de aire (encendido entre sesiones).

Procedimiento Experimental

- Habitación.

Los animales permanecieron con agua y comida *ad libitum* durante dos días y fueron privados de agua 24 horas previas al experimento. El día uno se les permitió beber agua pura durante diez minutos en las cajas de condicionamiento, se comprobó que todos los sujetos aprendieran a beber de las pipetas. El segundo día se les permitió beber agua durante diez minutos en presencia de olor vainilla sin consecuencias viscerales (olor inocuo, OI).

- Sesión de condicionamiento.

El día del entrenamiento (tercer día) se les permitió beber agua durante diez minutos en las cajas de condicionamiento en presencia de olor a almendra (olor aversivo, OA); cinco minutos después se les administró LiCl 0.15M en dosis bajas: 0.5 y 1% del peso corporal (equivalente a 5 y 10 mililitros por kilogramo de peso) por vía intraperitoneal

(i.p.) como agente inductor de malestar visceral (la dosis estándar para obtener un condicionamiento óptimo es de 2% del peso corporal).

En este estudio un solo entrenamiento fue suficiente para inducir aversión.

- Pruebas de preferencia: evaluación de la memoria.

En las pruebas de preferencia se les permitió beber agua durante diez minutos en presencia de ambos olores (OI contra OA), uno a cada lado de la caja, colocados al azar, o bien contrario a la predisposición diestra/siniestra de los animales para ir hacia uno de los lados. Se registró la cantidad de agua consumida en cada pipeta. Este diseño nos permitió cuantificar de forma precisa la aversión al olor a almendra.

- Sesión de recuperación.

El cuarto día, en los grupos evaluados 48 horas después del entrenamiento, bebieron agua durante diez minutos en las cajas de condicionamiento sin estímulo alguno.

- Experimento 1.

Evaluación de la memoria de corto, intermedio y largo plazo en grupos independientes condicionados con dosis bajas de LiCl: 0.5 y 1% bw. Se realizaron pruebas de preferencia con ambos olores 4, 8, 12 y 48 horas después del entrenamiento. El tamaño de los grupos fue: LiCl 0.5%: 4 hrs (n=10), 8 hrs (n=10), 12 hrs (n=9), 48 hrs (n=12); LiCl 1%: 4 hrs (n=11), 8 hrs (n=12), 12 hrs (n=10) y 48 hrs (n=10).

- Experimento 2.

Evaluación de la MLP en grupos previamente probados a corto e intermedio plazo. Se realizaron pruebas de preferencia con ambos olores 48 horas después del entrenamiento tras las pruebas de 4, 8 y 12 horas. El tamaño de los grupos fue el mismo, salvo para el grupo LiCl 1%: 4-48 hrs (n=10), en el que se descartó a uno de los sujetos debido a un error en la manipulación.

Análisis de Datos

A partir del registro de la cantidad de agua consumida se obtuvo un índice de preferencia al olor aversivo mediante la fórmula siguiente: $IP \text{ al OA}(\%) = \left[\frac{\text{ml OA}}{\text{ml OI} + \text{ml OA}} \right] \times 100$, donde OA: olor aversivo (almendra), OI: olor inocuo (vainilla). Se realizaron pruebas de análisis de varianza, ANOVA, seguidas de la prueba de comparación múltiple de Newman-Keuls.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Experimento 1

Los resultados de la evaluación de la memoria a diferentes intervalos en grupos independientes, condicionados con dosis bajas de LiCl: 0.5 y 1% bw, se presentan en la Figura 2. Se muestra el IP por el olor aversivo 4, 8 12 y 48 horas después del condicionamiento. Un índice de preferencia de 50% indica “no aversión”, en tanto que aquellos valores por debajo del 10% se consideran como aversivos; se hicieron comparaciones entre los grupos evaluados a 4,8 y 12 horas contra los grupos evaluados a 48 horas para la dosis respectiva. No se observó MLP, evaluada 48 horas después del entrenamiento, para ninguna de las dosis: IP 43.71% y 37.87% respectivamente.

En la evaluación de la memoria de corto plazo, cuatro horas después del condicionamiento, observamos una clara aversión al olor: IP 3.6% y 2.1% (0.5 y 1% bw respectivamente), lo que indica que los estímulos **sí se asocian** a pesar de la dosis baja de LiCl, de modo que la falta de aversión en el largo plazo se debe a una consolidación inadecuada y no a una imposibilidad de asociación. Aunque sí hay aprendizaje, se observa la pérdida gradual de la capacidad de reconocer al olor como aversivo a medida que se incrementa el tiempo de evocación (IP 18.7% y 11.4%, 8 horas después del condicionamiento y 46% y 17%, 12 horas después del condicionamiento, para 0.5 y 1% bw, respectivamente), sugiriendo que el aprendizaje es lábil y por lo tanto la memoria de la asociación de los estímulos se va perdiendo paulatinamente conforme pasa el tiempo, es decir, no se consolida adecuadamente. La diferencia observada entre los grupos evocados a 4 y 8 horas (0.5% bw) y a 4, 8 y 12 horas (1% bw) en comparación con el grupo evocado a 48 horas de la dosis respectiva, fue significativa.

Se observó una ligera diferencia en la aversión para las distintas dosis de LiCl en la evaluación a 4 y 8 horas, mientras que la diferencia fue significativa en la evaluación a las 12 horas después del condicionamiento (★ en la Figura 2), lo cual coincide con otras observaciones de una mayor aversión a mayor concentración del EI (García et al., 1955; Andrews y Braveman, 1975).

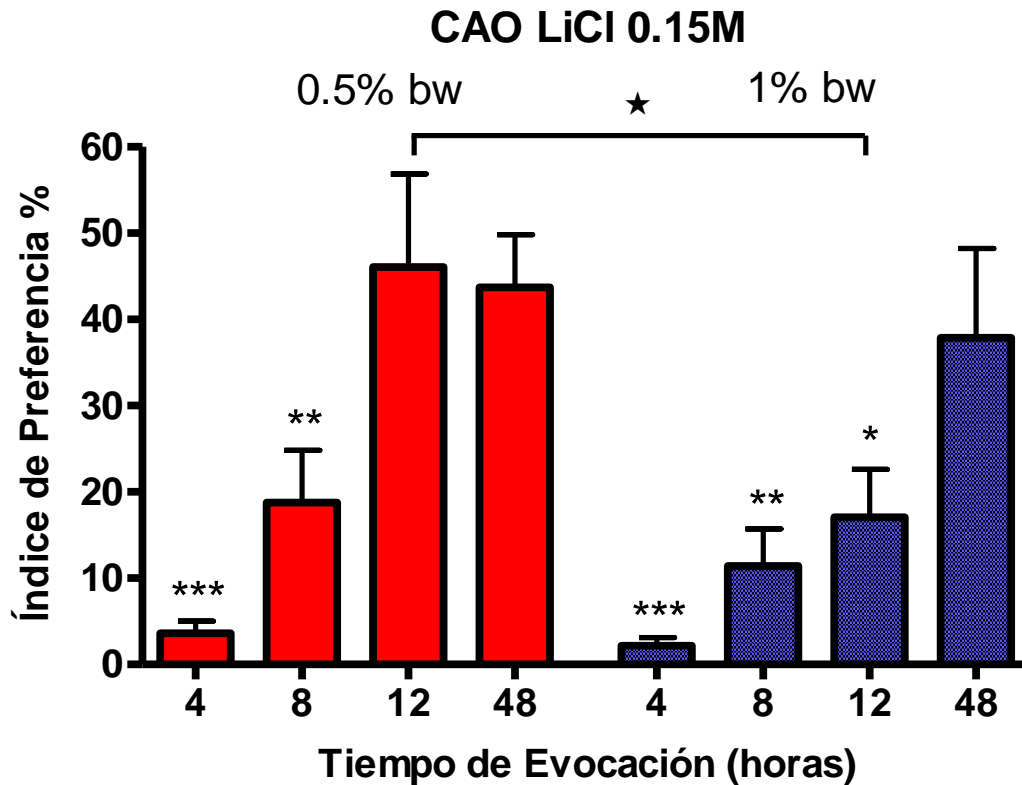


Figura 2. IP por el olor aversivo 4, 8, 12 y 48 horas después del entrenamiento. Se muestra media \pm EE. Anova + Newman-Keuls. *** = $p < 0.001$, ** = $p < 0.01$, * = $p < 0.05$ en comparación con el grupo evocado a 48 horas para la misma dosis. ★ = diferencia significativa entre los grupos evaluados a las 12 horas después del condicionamiento. $n \geq 9$ (ver texto).

La diferencia entre los grupos evaluados a diferentes intervalos sugiere la importancia de la temporalidad en el proceso de aprendizaje en este modelo, ya que aún en condiciones subóptimas, los estímulos se asocian formando una MCP, lo cual concuerda con la noción de Ambrogio y colaboradores (1999) de que aprendizaje y la formación correcta de la memoria son funciones dependientes del tiempo.

Estos resultados muestran que el estímulo olfativo es suficiente para generar aprendizaje a corto (4 horas) y mediano (8 horas) plazos con dosis bajas de LiCl, lo que sugiere que no se trata de un estímulo tan débil como se ha supuesto -contrastando con la consideración de que la olfacción ejerce un control menos efectivo-, y que la deficiencia en condiciones subóptimas de aprendizaje no se debe a problemas de asociación.

Experimento 2

Los resultados de la evaluación de la MLP en grupos probados previamente a corto o intermedio se presentan en la Figura 3. Se muestra el IP por el olor aversivo 48 horas después del condicionamiento tras las pruebas a 4, 8 y 12 horas. Observamos la

presencia de aversión al olor en los grupos evocados previamente 4 horas tras el condicionamiento: IP 11.5% y 5.4% para 0.5 y 1% bw de LiCl respectivamente; en tanto que la aversión se pierde de forma gradual para los grupos previamente evocados a 8 y 12 horas (IP 31.1% y 18.2%, tras la evocación a 8 horas; IP 35.6% y 30.5%, tras la evocación a 12 horas para 0.5 y 1% bw respectivamente), lo que señala que la prueba de retención a corto plazo favorece la consolidación (aún cuando se trata de un ensayo de extinción), siempre que la primera evocación (prueba de corto plazo) se realice cuando la memoria aún exista. Las diferencias observadas entre los grupos sin evocación previa y aquellos evaluados previamente a las 4 horas fueron significativas.

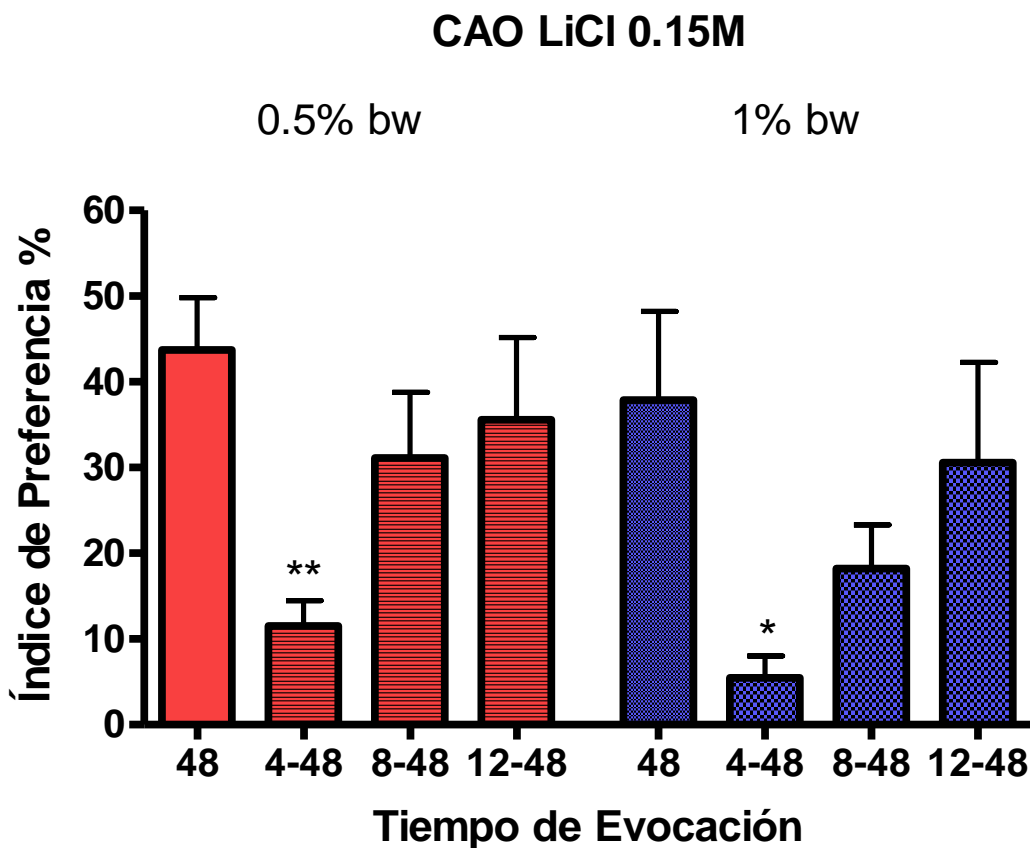


Figura 3. IP por el olor aversivo 48 horas después del condicionamiento tras las pruebas a 4, 8 y 12 horas. Media \pm EE. Anova + Newman-Keuls. **= $p < 0.01$, *= $p < 0.05$ en comparación con el grupo sin evocación previa de la dosis respectiva. $n \geq 9$ (ver texto).

Estos resultados indican que la evocación de una experiencia recientemente adquirida puede tener un efecto facilitador sobre la consolidación de esa misma experiencia en una MLP. Dicho fenómeno no se ha documentado en la literatura especializada por lo

cual podemos considerarlo como un hallazgo novedoso que podría tener relevancia teórica por varias razones: en primer lugar, el hecho de que en la prueba de evocación a corto plazo se presente solo el EC constituye un ensayo de extinción, como ya se ha indicado anteriormente. Por lo tanto, lo que se esperaría tras dicho ensayo no sería el mejoramiento de la memoria, sino por el contrario, su debilitamiento. La única explicación plausible a esta paradoja es que en nuestro experimento no se probó la retención de una memoria ya consolidada, sino de una memoria “fresca”. Entonces, es posible que los procesos que subyacen a estas dos situaciones de evocación sean distintos: en el primer caso el ensayo de extinción (evocación de una memoria consolidada) representa nueva información en el que el sujeto asocia el EC con la ausencia del EI (la falta de efectos nocivos); en el segundo, la evocación de una MCP aún no consolidada podría “reactivar” la experiencia reciente y facilitar así los procesos que conducen a la consolidación de dicha memoria, mismos que están ocurriendo precisamente en esos momentos. Se podría especular respecto a algunos procesos bioquímicos y moleculares que se supone tienen lugar durante la consolidación, como la activación de factores de transcripción, cambios locales en las sinápsis -como alteración morfológica- (Lamprecht y LeDoux, 2004) o la síntesis de proteínas; al respecto se ha propuesto recientemente que hay dos oleadas de síntesis de proteínas durante la consolidación de una memoria olfativa, una alrededor de las horas 1 y 2 y la segunda entre las horas 6 y 18 (Richter et al., 2005; Engelmann, 2009; Wanisch et al., 2009). Sin embargo, a pesar de la gran cantidad de reportes que hay sobre el tema, las evidencias siguen siendo endebles cuando se trata de establecer una relación causal entre estos mecanismos y la consolidación de la memoria y todavía persiste una gran controversia sobre este tema. Por lo tanto no es intención del presente trabajo especular en este sentido; cualesquiera que sean los mecanismos activos durante la consolidación, la percepción del EC durante dicho proceso podría reactivarlos, permitiendo su fortalecimiento.

Es interesante notar que si bien es un hecho conocido que la MCP (aún no consolidada) es susceptible a múltiples manipulaciones que impiden su consolidación, también podría ser susceptible a manipulaciones que tengan el efecto contrario para llegar al largo plazo, puesto que se trata de una memoria en estado de formación.

Por otra parte, desde el punto de vista ecológico, el encuentro consecutivo con un mismo estímulo en un corto periodo de tiempo, sugeriría la abundancia de dicho estímulo en el medio; tratándose de un estímulo tóxico, aquellos animales capaces de

percibirlo como nocivo y reconocerlo y evitarlo en un segundo encuentro cercano en el tiempo, aún antes de consolidar la memoria, y capaces también de estabilizar la información de los eventos previos y el engrama ante un probable encuentro posterior, sobrevivirían, lo que pone de manifiesto el valor adaptativo de este fenómeno.

Se han descrito procesos semejantes como los llamados “*memory reinstatement*” y “*memory reactivation*” (Blozovski y Buser, 1988; Adler et al., 2000; Parker y McDonald, 2000; Kim y Richardson, 2007; Graham y Richardson, 2009), pero ninguno corresponde al efecto que hemos descrito aquí. Resta resolver preguntas como si la exposición previa sin ingestión podría funcionar de forma similar, o si se trata de una característica exclusiva del condicionamiento aversivo o del aprendizaje alimenticio.

CONCLUSIÓN

Observamos memoria aversiva de corto plazo, lo que indica que es posible la asociación entre los estímulos, de modo que la falta de aversión en el largo plazo se debe a la consolidación inadecuada de la memoria y no a la imposibilidad de asociación.

La aversión se pierde de forma gradual, se consolida deficientemente.

Tras la evaluación de la memoria de corto plazo, observamos memoria aversiva de largo plazo, lo que indica que la evocación, aún cuando se trata de un evento de extinción (ya que sólo se presenta el EC sin el EI como refuerzo), facilita la consolidación de la memoria.

REFERENCIAS

- Adler, S., Wilk, A. y Rovee-Collier, C. 2000. Reinstatement versus reactivation effects on active memory in infants. *J. Exp. Child Psychol.*; 75: 93-115.
- Ambrogio Lorenzini C. G., Baldi E., Bucherelli C., Sacchetti B. y Tassoni G. 1999. Neural topography and chronology of memory consolidation: a review of functional inactivation findings. *Neurobiol. Learn. Memory*; 71: 1-18.
- Andrews Emir Anne y Braveman Norman S. 1975. The combined effects of dosage level and interstimulus interval on the formation of one-trial poison-based aversions in rats. *Anim. Learn. Behav.*; 3: 287-289.
- Batsell, W. Robert y Blankenship, Aaron G. 2002. Beyond potentiation: synergistic conditioning in flavor-aversion learning. *Brain and Mind*; 3: 383-408.
- Bear, M. F., Connors, B. W. y Paradiso, M. A. 2001. Neuroscience. Exploring the brain. 2nd ed. Lippincott Williams & Wilkins. E. U. A.
- Blozovski, D. y Buser, P. 1988. Passive avoidance memory consolidation and reinstatement in the young rat. *Neurosci. Letters*; 89: 114-119.
- Bouton, M. E., Jones, D. L., McPhillips, S. A. y Swartzentruber, D. 1986. Potentiation and overshadowing in odor-aversion learning: role of method of odor presentation, the distal-proximal cue distinction, and the conditionability of odor. *Learn. Motivation*; 17: 115-138.
- Bures, J., Bermúdez-Rattoni, F. y Yamamoto, T. 1998. Conditioned taste aversion. Memory of a special kind. Oxford University Press. E. U. A.
- Carlson N. R. 2006. Fisiología de la Conducta 8^a ed. Pearson Educación. Madrid.
- Chapuis, J., Messaoudi, B., Ferreira, G. y Ravel, N. 2007. Importance of retronasal and orthonasal olfaction for odor aversion memory in rats. *Behav. Neurosci.*; 121: 1383-1392.
- Csaba, G., Németh, G. y Vargha, P. 1984. Receptor memory in tetrahymena: does it satisfy the general criteria of memory? *Exp. Cell. Bio*; 52: 320-325.
- Curtis, H., Barnes, N. S., Schnek, A. y Flores, G. 2000. Biología. 6a ed. Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina.
- Davis, R. L. 2004. Olfactory learning. *Neuron*; 44: 31-48.
- Davis, R. L. 2005. Olfactory memory formation in Drosophila: from molecular to systems neuroscience. *Annu. Rev. Neurosci.*; 28: 275-302.
- Desgranges, B., Lévy, F., y Ferreira, G. 2008. Anisomycin infusión in amygdala impairs consolidation of odor aversion memory. *Brain Res.*; 1236: 166-175.

- Domjan, M. 2005. Pavlovian conditioning: a functional perspective. *Ann. Rev. Psychol.*; 56: 179-206.
- Domjan, M. y Wilson, N. E. 1972. Specificity of cue to consequence in aversion learning in the rat. *Psychon. Sci.*; 26:143-145.
- Einsenstein, E. M. 1997. Selecting a model system for neurobiological studies of learning and memory. *Behav. Brain Res.*; 82: 121-132.
- Einsenstein, E. M., Brunder, D. G., Blair, H. J. 1982. Habituation and sensitization in aneural cell: some comparative and theoretical considerations. *Neurosci. Biobehav. Rev.*; 6: 183-194.
- Engelmann, M. 2009. Competition between two memory traces for long-term recognition memory. *Neurobiol. Learn. Memory*; 91: 58-65.
- Ferry, B., Oberling, P., Jarrard, L. E. y Di Scala, G. 1996. Facilitation of conditioned odor aversion learning by entorhinal cortex lesions in the rat. *Behav. Neurosci.*; 110: 443-450.
- Ferry, B., Wirth, S. y Di Scala, G. 1999. Functional interaction between entorhinal cortex and basolateral amygdala during trace conditioning of odor aversion in the rat. *Behav. Neurosci.*; 113: 118-125.
- Ferry, B., Herbeaux, K., Cosquer, B., Traissard, N., Galani, R., y Cassel, J-C. 2007. Immunotoxic cholinergic lesions in the basal forebrain reverse the effects of entorhinal cortex lesions on conditioned odor aversion in the rat. *Neurobiol. Learn. Memory*; 88: 114-126.
- García, J., Kimeldorf, D. J., y Koelling, R. A. 1955. Conditioned aversion towards saccharin resulting from exposure to gamma radiation. *Science*; 122: 157-159.
- García, J. y Koelling, R. A. 1966. Relation of cue to consequence in aversion learning. *Psychon. Sci.*; 4: 123-124.
- García, J., Ervin, F. R. y Koelling, R. A. 1966. Learning with prolonged delay of reinforcement. *Psychon. Sci.*; 5: 121-122.
- García, J., Hankins, W. G., Rusikiak, K. W. 1974. Behavioral regulation of the milieu interne in man and rat. Food preferences set by delayed visceral effects facilitate memory research and predator control. *Science*; 185: 824-831.
- Garcia, J., Hankins, W. G., Rusiniak, K. W, y Bitterman, M. E. 1976. Flavor aversion studies. *Science, New Series*; 192: 265-267.
- Graham, B. y Richardson, R. 2009. Acute systemic fibroblast growth factor-2 enhances long-term extinction of fear and reduces reinstatement in rats. *Neuropsychopharmacology*; 34: 1875-1882.

Hankins, W. G., García, J., y Rusiniak, K. W. 1973. Dissociation of odor and taste in baitshyness. *Behav. Biol.*; 8: 407-419.

Kandel, E. R., Schwartz, J. H. y Jessell, T. M. 2001. Principios de Neurociencia. 4ª ed. Mc Graw Hill/Interamericana de España, S. A. U.

Kim, J. y Richardson, R. 2007. A developmental dissociation in reinstatement of an extinguished fear response in rats. *Neurobiol. Learn. Memory*; 88: 48-57.

Lamprecht, R. y LeDoux, J. 2004. Structural plasticity and memory. *Nat. Rev. Neurosci.*; 5:45-54.

Lorden, J. F., Kenfield, M. y Braun J. J. 1970. Response suppression to odors paired with toxicosis. *Learn. Motivation*; 1: 391-400.

Lucas, F. y Sclafani, A. 1995. Carbohydrate-conditioned odor preferences in rats. *Behav. Neurosci.*; 109: 446-454.

McGaugh, J. L. 1966. Time-dependent processes in memory storage. *Science*; 153: 1351-1358.

Maren, S. 2001. Neurobiology of pavlovian fear conditioning. *Annu. Rev. Neurosci.* 24:897-931

Núñez-Farfán, J. y Eguiarte, L. comps. 1999. Evolución biológica. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Ciencias. Instituto de Ecología. México.

Palmerino, C. C., Rusiniak, K. W., y García, J. 1980. Flavor-illness aversions: the peculiar roles of odor and taste in memory for poison. *Science*; 208: 753-755.

Parker, L. y McDonald, R. 2000. Reinstatement of both a conditioned place preference and a conditioned place aversion with drug primes. *Pharmacol. Biochem. Behav.*; 66: 559-561.

Revusky, S. H. 1971. The role of interference in association over a delay. En Honig W. K. y James P.H.R. (Eds.), *Animal memory*. New York: Academic Press.

Richter, K., Wolf, G. y Engelmann, M. 2005. Social recognition memory requires two stages of protein synthesis in mice. *Learn. Mem.*; 12: 407-413

Roldán, G. y Bures, J. 1994. Tetrodotoxin blockade of amygdala overlapping with poisoning impairs acquisition of conditioned taste aversion in rats. *Behav. Brain Res.*; 65: 213-219.

Rozin, P. 1982. "Taste-smell confusions" and the duality of the olfactory sense. *Percept. Psychophys.*; 31: 397-401.

Rzóska, J. 1953. Bait shyness, a study in rat behaviour. *Br. J. Anim. Behav.*; 1: 128-135.

Rusiniak, K. W., Hankins, W. G., García, J., y Brett, L. P. 1979. Flavor-illness aversions: potentiation of odor by taste in rats. *Behav. Neural Biol.*; 25: 1-17.

Sánchez-Andrade, G., James, B. M. y Kendrick, K. M. 2005. Neural encoding of olfactory recognition memory. *J. Reprod. Dev.*; 51: 547-558.

Scalafani, A. 1997. Learned controls of ingestive behaviour. *Appetite*; 29: 153-158.

Slotnick B.M., Westbrook F., Darling F. M. C. 1997. What the rat's nose tells the rat's mouth: long delay aversion conditioning with aqueous odors and potentiation of taste by odors. *Anim. Learn. Behav.*; 25: 357-369.

Staddon, J. E. R. 1983. Adaptive behavior and learning. Cambridge: Cambridge University Press.

Tapper, D. N. y Halpern, B. P. 1968. Taste stimuli: a behavioral categorization. *Science*; 161: 708-710.

Tovar-Díaz, J., González-Sánchez, H. y Roldán-Roldán, G. 2010. Association of stimuli at long intervals in conditioned odor aversion. *Physiol. Behav.* En prensa.

Wanisch, K., Wotjak, C., y Engelmann, M. 2008. Long-lasting second stage of recognition memory consolidation in mice. *Behav. Brain Res.*; 186: 191-196.

Recursos electrónicos.

Diccionario de la lengua española. Vigésima segunda edición. Disponible desde Internet en www.rae.es

Diccionarios de *elmundo*. Disponible desde Internet en: www.elmundo.es/diccionarios