



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
MAESTRÍA EN CIENCIAS (NEUROBIOLOGÍA)

**REGULACIÓN NEUOTRÓFICA DE LA FORTALEZA
DE LA MEMORIA**

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA

BIOL. MARÍA GUADALUPE BRIONES VIDAL

TUTORA PRINCIPAL: DRA. MARTHA L. ESCOBAR RODRÍGUEZ
FACULTAD DE PSICOLOGÍA

COMITÉ TUTOR: DRA. GINA LORENA QUIRARTE
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA
DR. PAVEL RUEDA OROZCO
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX., DICIEMBRE 2022



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Universidad Nacional Autónoma de México
Instituto de Neurobiología

Los miembros del Jurado certificamos que la tesis elaborada por: María Guadalupe Briones Vidal cuyo título es: Regulación neurotrófica de la fortaleza de la memoria, se presenta como uno de los requisitos para obtener el grado de Maestría en Ciencias (Neurobiología) y cumple con los criterios de originalidad y calidad requeridos por la División de Estudios de Posgrado de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Los miembros del Jurado

Firma

Presidente: Dra. Irma Yolanda del Río Portilla

Secretario (Tutora): Dra. Martha Lilia Escobar Rodríguez

Vocal: Dra. Kioko Rubí Guzmán Ramos

Suplente: Dra. Gina Lorena Quirarte

Suplente: Dra. María Isabel Miranda Saucedo

Aprobado por el Comité Académico

Dr. José Gerardo Rojas Piloni
Coordinador del Programa

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México y al Programa de Maestría en Ciencias (Neurobiología) por brindarme una formación de calidad y permitirme explorar el campo de las neurociencias.

A mi asesora, Dra. Martha Escobar, por sus invaluable y enriquecedores aportaciones para mi formación.

A los miembros del comité tutor: Dra. Martha Lilia Escobar Rodríguez, Dra. Gina Lorena Quirarte y Dr. Pavel Ernesto Rueda Orozco, por el apoyo que me brindaron a lo largo del proyecto.

A los miembros del jurado de tesis: Dra. Irma Yolanda del Río Portilla, Dra. Martha Lilia Escobar Rodríguez, Dra. Kioko Rubí Guzmán Ramos, Dra. Gina Lorena Quirarte y Dra. María Isabel Miranda Saucedo, por sus valiosos comentarios para enriquecer este trabajo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico otorgado durante el desarrollo de mi maestría (Número de becario: 1083434).

Al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT IN205622) por los recursos otorgados para el desarrollo del proyecto, así como la beca otorgada para la conclusión de la tesis (Número de becario B222508).

Al personal del bioterio de la Facultad de Psicología por proveer y mantener a los animales que fueron empleados en el desarrollo del presente trabajo.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

A mis padres por brindarme su apoyo incondicional en el desarrollo de este proyecto y permitirme llegar hasta aquí.

A mis compañeritos del laboratorio por compartirme su conocimiento, por las risas y el apoyo. A Salma por tu ayuda en cada paso de los experimentos, desde enseñarme a dar agua a hacer cirugías, no habría podido sin tu apoyo. A Bety por tu apoyo y consejos en el CAS y la inmuno, y porque me hiciste sentir bienvenida desde el primer día que llegué al laboratorio. Carlos y Simón por las interesantes pláticas y apoyo con las ratitas. A Esteban, Yec y Luis, aunque convivimos poco tiempo en el lab, siempre mostraron disposición en compartir su experiencia y conocimientos.

A mis amigos, Vane y Pablo, por escucharme y aconsejarme en este camino de la ciencia. A Oswi y Beto por seguir acompañándome. A mi nuevo amigo Jared, por hacer más tolerable el estudiar una maestría en tiempos de pandemia.

Y a todas las ratitas que me acompañaron en el camino.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	3
AGRADECIMIENTOS PERSONALES	4
RESUMEN	6
ABSTRACT	7
ANTECEDENTES	9
MEMORIA	9
NEUROTROFINAS.....	11
NEUROTROFINA 3.....	16
CONDICIONAMIENTO DE AVERSIÓN AL SABOR.....	23
ESTRUCTURAS ANATÓMICAS INVOLUCRADAS EN EL CAS.....	25
NEUROTROFINAS Y CAS.....	30
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	32
HIPÓTESIS.....	32
OBJETIVOS.....	33
OBJETIVO GENERAL.....	33
OBJETIVO ESPECÍFICO	33
DISEÑO EXPERIMENTAL	33
SUJETOS DE EXPERIMENTACIÓN.....	33
CIRUGÍA DE IMPLANTACIÓN DE CÁNULAS.....	33
ENTRENAMIENTO EN EL CONDICIONAMIENTO DE AVERSIÓN AL SABOR (CAS).....	34
ADMINISTRACIÓN DE FÁRMACOS.....	34
ANÁLISIS HISTOLÓGICO	35
TINCIÓN DE NISSL	35
INMUNOHISTOQUÍMICA PARA NT-3	35
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	36
DISEÑO EXPERIMENTAL.....	36
RESULTADOS.....	38
ANÁLISIS HISTOLÓGICO.....	38
RESULTADOS CONDUCTUALES	39
DISCUSIÓN	42
CONCLUSIONES.....	45
REFERENCIAS.....	46
ANEXO	56
CAS DÉBIL Y FUERTE EN RATAS HEMBRA DE LA CEPA WISTAR	57

RESUMEN

Las neurotrofinas son una familia de proteínas que participan en la regulación de la plasticidad sináptica en múltiples regiones del sistema nervioso. Esta capacidad les permite jugar un papel clave en la formación y mantenimiento de diferentes tipos de memoria. Un miembro prominente de esta familia es la Neurotrofina 3 (NT-3), la cual es capaz de inducir cambios en la transmisión y reorganización sináptica. Estudios previos de nuestro grupo de investigación demostró que la infusión intrahipocampal de NT-3 induce una potenciación de largo plazo *in vivo* en la vía que va del giro dentado al área CA3 (DG-CA3), que se acompaña de una reorganización estructural en el estrato oriens del área CA3 hipocampal en ratas. De manera similar se ha observado que la NT-3 es capaz de regular la transmisión sináptica en la corteza infralímbica y en la vía corticoestriatal. Sin embargo, a pesar de la capacidad de NT-3 para regular la transmisión sináptica, la exploración de su participación en el proceso de memoria, particularmente en áreas neocorticales, es aún incipiente. En el presente proyecto se evaluó el efecto de la NT-3 en la memoria del condicionamiento de aversión al sabor (CAS), un paradigma de aprendizaje en el cual los animales asocian un sabor novedoso con un malestar gástrico, y en el que la participación de la región neocortical denominada corteza insular es fundamental. Para ello, se entrenaron ratas en el CAS en su modalidad débil o fuerte (inducidos ya sea por LiCl 0.1M o 0.2M respectivamente), e inmediatamente después de la aplicación de LiCl durante la sesión de adquisición se administró NT-3 en la corteza insular. Los resultados muestran que la neurotrofina fortalece el CAS débil, convirtiéndolo en uno fuerte, a través de la activación de los receptores Trk. Estos hallazgos sugieren que NT-3 es un modulador de la fortaleza de una memoria aversiva en la que interviene de manera decisiva un área neocortical.

ABSTRACT

Neurotrophins are a family of trophic factors involved in the regulation of synaptic plasticity in multiple brain regions. A prominent member of this family is Neurotrophin 3 (NT-3), that has been shown to play a key role in long-term synaptic plasticity in the adult nervous system. Previous studies from our research group showed that the acute intrahippocampal microinfusion of NT-3 induces a long-term potentiation in the DG-CA3 projection accompanied by the structural reorganization of the hippocampal mossy fibers in adult rats *in vivo*. Likewise, NT-3 modulates the synaptic transmission in the infralimbic cortex and the striatum. Despite its well-documented role in modulating the synaptic transmission and connectivity, which are mechanisms underlying learning and memory processes, the role of Neurotrophin-3 in the modulation of cognitive processes, particularly in neocortical areas, remain largely unknown. The aim of the present study was to evaluate the effect of NT-3 on conditioned taste aversion (CTA) memory strength. CTA is a well established learning paradigm in which an animal learns to associate a novel taste with gastric malaise and where the participation of the insular cortex is crucial. To accomplish this, rats were trained in CTA, using a weak and strong version of the task (induced by 0.1M or 0.2M LiCl respectively). Immediately after the application of LiCl during the acquisition session, NT-3 was administered into the insular cortex. The results show that NT-3 strengthens a weak CTA memory, transforming it into a strong one, via the activation of Trk receptors. These findings provide compelling evidence indicating that NT-3 is a modulator of the strength of an aversive neocortex-dependent memory.

GLOSARIO DE ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado
ACh	Acetilcolina
Akt	Proteína Cinasa B
AP	Anteroposterior
BDNF	Factor Neurotrófico Derivado del Cerebro
CA1	Área 1 del Cuerno de Ammon hipocampal
CA3	Área 3 del Cuerno de Ammon hipocampal
CAS	Condicionamiento de Aversión al Sabor
CI	Corteza Insular
DAB	Diaminobenzidina
EC	Estímulo Condicionado
EI	Estímulo Incondicionado
ERK	Cinasas reguladas por señales extracelulares
IP3	Inositol trifosfato
JNK	Jun N-Terminal cinasa
K252a	Inhibidor de receptores a tropomiosina cinasa
kDa	Kilodalton
LiCl	Cloruro de Litio
LTD	Depresión de a largo plazo
LTP	Potenciación de largo plazo
MAPK	Proteína cinasa Activada por Mitógeno
mRNA	Ácido Ribonucleico Mensajero
NBM	Núcleo Basalis Magnocelularis
NF-κB	Factor Nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas
NGF	Factor de Crecimiento Neural
NPb	Núcleo Parabraquial del Puente
NT-3	Neurotrofina 3
NT-4/5	Neurotrofina 4 y 5
NTS	Núcleo del Tracto Solitario
p75NTR	Receptor a Neurotrofinas p75
PI3K	Fosfatidil inositol-3 cinasa
PKC	Proteína cinasa C
PLCγ	Fosfolipasa C
PMV	Núcleo posteromedial ventral parvocelular talámico
PTPα	Proteína tirosina-fosfatasa sigma
tPA	Activador tisular del plasminógeno
Trk	Receptor de Tropiomocina cinasa

ANTECEDENTES

MEMORIA

El aprendizaje es el cambio que ocurre en el comportamiento como resultado de la experiencia (McGaugh, 1973). La memoria es la serie de procesos por los cuales este conocimiento es codificado, almacenado y evocado (Abel & Lattal, 2001). Para su estudio, la memoria se clasifica dependiendo del curso temporal de su almacenamiento en memoria de corto y largo plazo; y por la naturaleza de la información almacenada en memoria declarativa y no declarativa (Squire, 2004).

El procesamiento de una memoria involucra múltiples etapas que inician con la adquisición, que es la codificación inicial de la memoria; posteriormente una memoria de corto plazo pasa a formar parte del largo plazo a través de un proceso denominado consolidación. Una vez consolidada, la memoria puede ser recuperada en la evocación (Figura 1) (Abel & Lattal, 2001; Opalka & Wang, 2020).

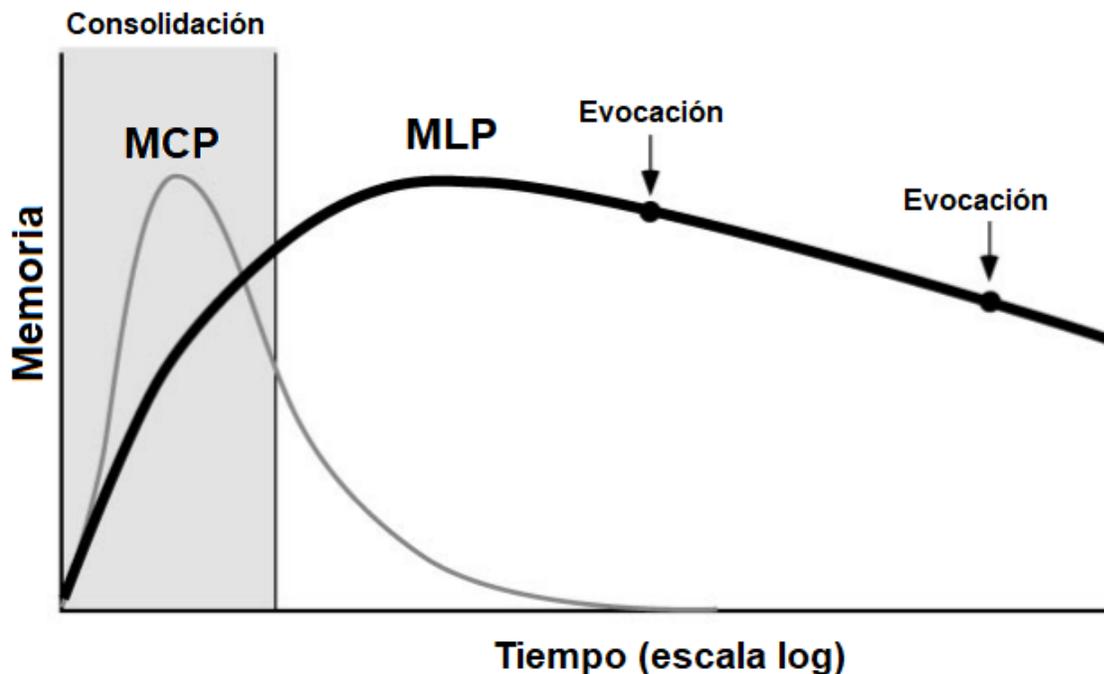


Figura 1. Clasificación temporal de la memoria. MCP: memoria de corto plazo, MLP: memoria de largo plazo. La memoria de corto plazo pasa a formar parte de largo plazo por un proceso de consolidación. Posteriormente, la memoria puede ser evocada (Modificado de Dudai, 2004).

Una de las preguntas clave en el estudio de la memoria es el entender cómo y dónde se almacena. El sustrato hipotético de almacenamiento de la información se conoce como engrama, idea concebida por Richard Semon, quien teorizó que el aprendizaje induce cambios persistentes en neuronas específicas que retienen la información y que subsecuentemente son reactivadas en la evocación. Originalmente Santiago Ramón y Cajal planteó que el fortalecimiento de las conexiones sinápticas entre las neuronas podría ser el mecanismo de almacenamiento de la memoria, y posteriormente Donald Hebb propuso que estas conexiones pueden fortalecerse si la activación del ensamble persiste: “las neuronas que se activan juntas permanecen conectadas” (Tonegawa et al., 2015; Hebb, 1949).

Este modelo implica que la formación de una memoria persistente en el tiempo requiere de un proceso que permita su estabilización progresiva a nivel celular en un proceso conocido como consolidación sináptica (Dudai, 2004). Este proceso implica una remodelación en la conectividad sináptica, mediado por modificaciones postraduccionales de proteínas sinápticas, activación de factores de transcripción, cambios en la expresión de genes y reorganización de proteínas sinápticas, como receptores y elementos del citoesqueleto (Abel & Lattal, 2001; Dudai, 2004).

A esta serie de cambios que ocurren en las sinapsis como producto de la actividad se les conoce como plasticidad sináptica y pueden expresarse como incrementos o decrementos de la eficiencia de la comunicación sináptica. Se considera que la potenciación de largo plazo (LTP) y la depresión de largo plazo (LTD) son mecanismos sinápticos clave que subyacen a los procesos de aprendizaje y memoria (Martin & Morris, 2002; Toyoda, 2020).

La LTP es un tipo de plasticidad sináptica caracterizada por el incremento duradero en la eficiencia sináptica, provocado por actividad neuronal. Para el mantenimiento de la LTP se requiere de expresión génica, síntesis proteica de novo y cambios morfológicos en las sinapsis, mecanismos que son regulados por las neurotrofinas (Escobar & Derrick, 2007; Malenka & Bear, 2004; Marco-Salazar et al., 2014; Ramos-Languren & Escobar, 2013). Por otro lado, la LTD es una disminución de largo plazo en la eficiencia sináptica, en respuesta a actividad previa (Pinar et al., 2017). Tanto la LTP como la LTD

se han logrado inducir en múltiples regiones cerebrales (Malenka & Bear, 2004; Martin & Morris, 2002; Bliss et al., 2018).

NEUROTROFINAS

Las neurotrofinas son una familia de proteínas que regulan la sobrevivencia, diferenciación, regeneración neuronal y plasticidad sináptica, tanto durante el desarrollo del sistema nervioso como en la vida adulta (Das et al., 2001; Lu, 2004; Nagappan & Lu, 2005).

Las neurotrofinas más estudiadas en mamíferos son el factor de crecimiento nervioso (NGF), el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), la neurotrofina 3 (NT-3) y la neurotrofina 4/5 (NT-4/5), siendo la NT-5 en mamíferos homóloga a la NT-4 encontrada en *Xenopus* (anfibio). Las neurotrofinas 6 y 7 se encuentran únicamente en algunos peces teleósteos y no cuentan con ortólogos en mamíferos o aves, aunque parece que interactúan con el mismo tipo de receptores que las neurotrofinas de mamíferos (Bartkowska et al., 2010; Binder, 2007; Hernández- Echeagaray, 2020; Murray et al., 2012).

Las neurotrofinas forman una familia de proteínas con alta homología en su estructura (Bartkowska et al., 2010). Estas proteínas son sintetizadas en un inicio como proneurotrofinas, que son precursores de alrededor de 270 aminoácidos y 30 kDa. La proneurotrofina tiene una pro-región, que es un fragmento N-terminal de ~120 aminoácidos, el cual es escindido por una proteína convertasa para formar la neurotrofina madura (Binder, 2007; Lu, 2003b; Seidaha et al., 1996). Por otro lado, la neurotrofina madura tiene un peso molecular de ~13 kDa y forma un complejo homodimérico (Gómez-Palacio Schjetnan & Escobar-Rodríguez, 2007). Una característica de su estructura es un “nudo de cisteína” formado por tres puentes disulfuro (Binder, 2007; Butte, 2001; Murray et al., 2012).

La pro-región participa en el correcto plegamiento de la proteína y su secuencia indica la vía de secreción que seguirá la neurotrofina (Lu, 2003b; Lu et al., 2005). La secreción puede ocurrir de manera constitutiva, donde la maduración de la neurotrofina se da en el retículo endoplásmico o la red trans-Golgi por enzimas furina o tipo furina. Por otro

lado, cuando la secreción depende de la actividad, sigue una vía regulatoria, donde la escisión de la proneurotrofina se da por proteínas convertasas, generalmente en un compartimento subcelular diferente a los de secreción constitutiva (Lu, 2003b; Mowla et al., 1999; Seidaha et al., 1996), o bien puede ser escindida por proteasas en el espacio extracelular (Pang et al., 2004; Yang et al., 2014). La secreción dependiente de actividad está relacionada con los cambios locales de la transmisión sináptica en sinapsis activas (Lu, 2003a; Schinder & Poo, 2000).

Tanto la proneurotrofina como la neurotrofina madura tienen actividad biológica, aunque difieren tanto en las características de unión a sus receptores como en los efectos celulares que generan (Bartkowska et al., 2010; Binder, 2007; Lu, 2003b; Lu et al., 2005). Las proneurotrofinas se unen preferentemente a los receptores p75NTR (*Neurotrophin receptor*), un miembro de la super familia del receptor del factor tumoral necrótico, mientras que la neurotrofina madura se une a éste con menor afinidad. La activación de este receptor desencadena respuestas celulares principalmente relacionadas con procesos apoptóticos (Chao, 2003; Gentry et al., 2004; Lu et al., 2005), mediante la activación de las vías JNK (Jun N-terminal cinasa) y NF- κ B (Chao, 2003).

Por otro lado, las neurotrofinas maduras actúan preferentemente sobre los receptores pertenecientes a la familia Trk (Tropomyosin-related kinase), que son receptores con actividad tirosina-cinasa. Cada neurotrofina presenta mayor afinidad por un receptor particular: NGF interactúa principalmente con TrkA, BDNF con TrkB, NT-3 interactúa preferentemente con TrkC y con menor afinidad con TrkB y TrkA, y NT-4/5 se une a TrkB (Figura 2) (Binder, 2007; Chao, 2003).

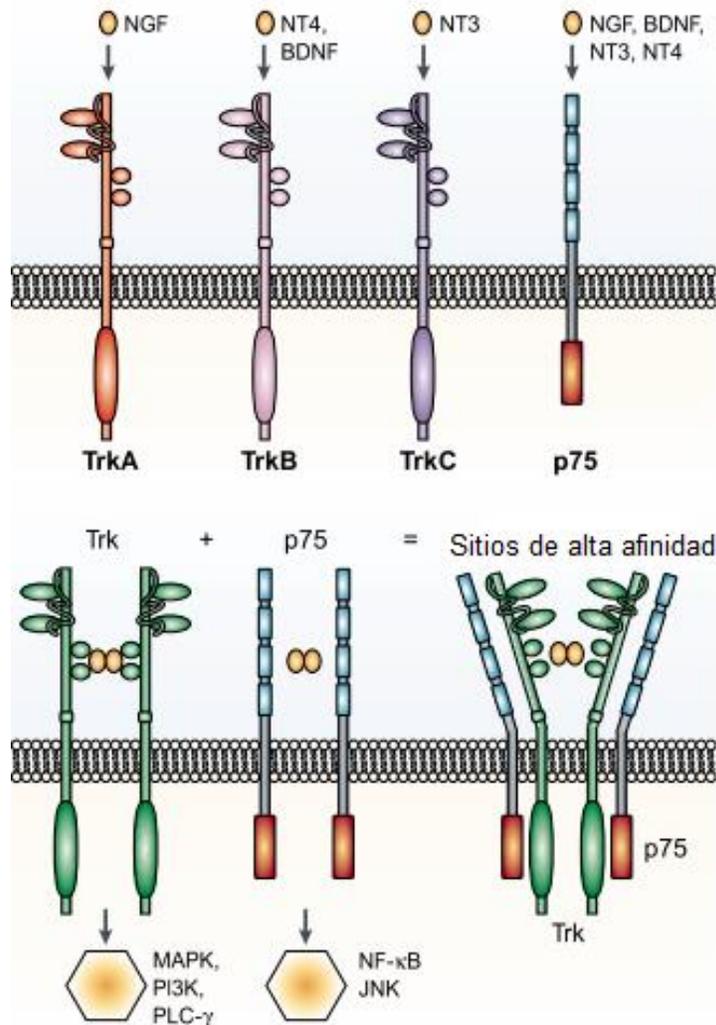


Figura 2. Neurotrofinas y sus receptores A) Cada neurotrofina muestra mayor afinidad por un tipo de receptor Trk y todas pueden activar al receptor p75^{NTR}. B) Señalización intracelular de los receptores Trk y p75. La interacción de ambos receptores incrementa su afinidad por la neurotrofina (Modificado de Chao, 2003).

La activación de los receptores Trk por la neurotrofina induce su dimerización y la activación de su dominio cinasa, lo que provoca su autofosforilación en múltiples residuos de tirosina, creando sitios de unión para diferentes proteínas intracelulares (Bramham & Messaoudi, 2005). Una de estas proteínas es Shc, la cual puede generar un incremento en la actividad de PI3K (fosfatidilinositol 3 cinasa) y Akt (proteína cinasa B), así como de Ras y ERK. Otra proteína capaz de interactuar con Trk es PLC-γ, la cual inicia una cascada de señalización que resulta en la activación de PKC (Figura 3) (Chao, 2003; Bohmwald et al., 2022).

Se ha identificado que estas vías de señalización están involucradas en la regulación de la transmisión y plasticidad sináptica (Minichiello et al., 2002; Yang et al., 2001), así como en la formación y mantenimiento de diferentes tipos de memoria (Alonso et al., 2005; Castillo & Escobar, 2011; Liu et al., 2019; Minichiello et al., 1999).

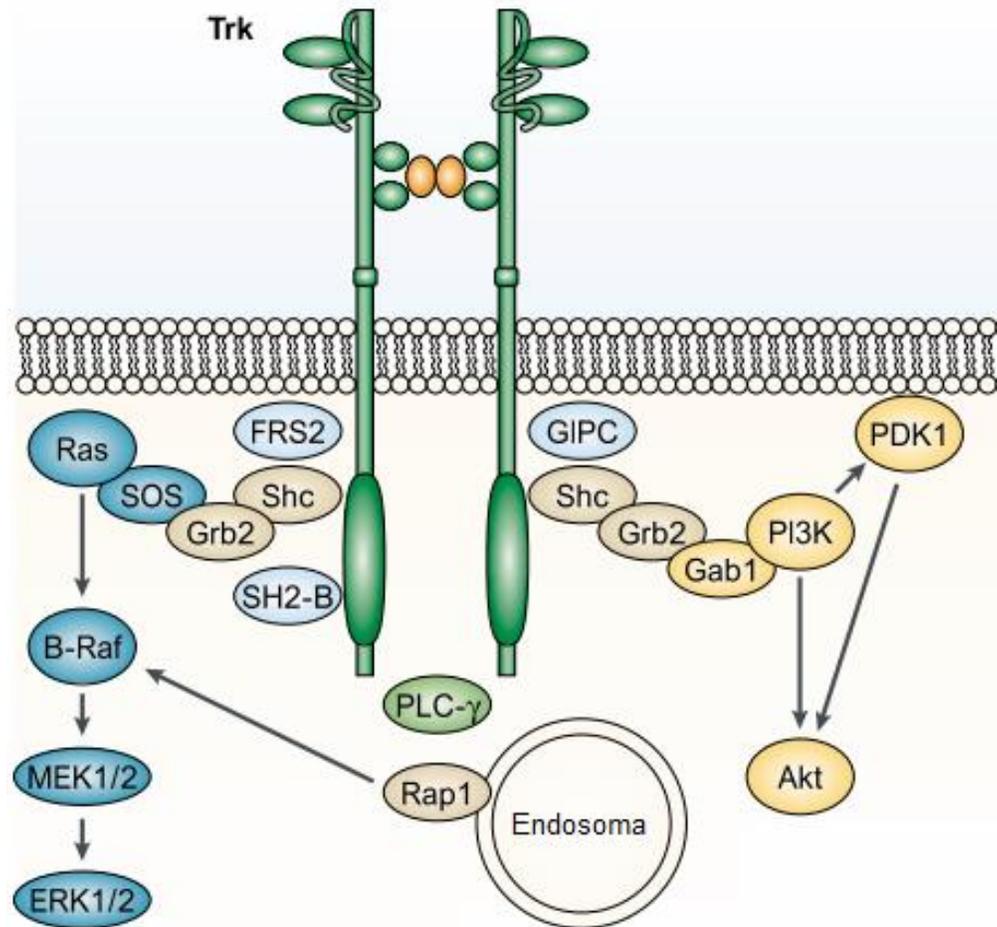


Figura 3. Vías de señalización activadas por los receptores Trk. La activación de los receptores Trk desencadena la señalización de las vías MEK/Erk, PLC γ y Akt, La activación de estas vías se relaciona a procesos de plasticidad sináptica y formación de la memoria (Modificado de Chao, 2003).

Las neurotrofinas pueden ser secretadas pre- y postsinápticamente y actuar de manera parácrina o autócrina (Fukumitsu et al., 1998; Pitts & Miller, 2000; Schinder & Poo, 2000). El efecto que muestran sobre la transmisión sináptica puede ser de tipo permisivo, donde la neurotrofina cumple funciones celulares para que los cambios inducidos por otros factores se lleven a cabo, y de manera instructiva, donde la acción directa de la neurotrofina genera cambios que llevan a la modificación persistente en la sinapsis

(Gómez-Palacio Schjetnan & Escobar, 2007; Schinder & Poo, 2000).

Además de su papel en la regulación de procesos de diferenciación y supervivencia neuronal, las neurotrofinas están implicadas en los procesos de plasticidad sináptica dependiente de actividad. En este sentido, se ha demostrado que la actividad neuronal repetitiva puede incrementar la expresión, secreción y actividad de las neurotrofinas, para modificar la transmisión y conectividad sinápticas (Schinder & Poo, 2000), tanto por mecanismos presinápticos como postsinápticos (Kang & Schuman, 1995; Lohof et al., 1993; Lu, 2004). Los efectos de este grupo de proteínas pueden verse tanto a corto como a largo plazo. En el corto plazo, por ejemplo, regulando la disponibilidad de vesículas sinápticas para ser liberadas (Lu, 2004; Pozzo-Miller et al., 1999), en tanto que los mecanismos a largo plazo involucran cambios morfológicos en la sinapsis (McAllister et al., 1996; Wang et al., 1995), así como cambios plásticos de largo plazo, como la inducción de LTP (Bramham & Messaoudi, 2005; Panja & Bramham, 2014).

En este sentido, se ha visto que para la expresión de la fase tardía de la LTP (L-LTP), la cual es dependiente de síntesis de proteínas, se requiere de la neurotrofina BDNF en su forma madura, cuyo procesamiento es mediado extracelularmente por tPA (activador tisular de plasminógeno) (Pang et al., 2004; Martínez-Moreno et al., 2020). Por el contrario, la forma inmadura de esta neurotrofina (proBDNF) logra facilitar el establecimiento de una LTD (Yang et al., 2014; Ma et al., 2022; Gibon et al., 2016).

Estudios previos de nuestro grupo de investigación mostraron que la microinfusión hipocampal de BDNF es suficiente para inducir LTP en la vía que va de las fibras musgosas al área CA3 del hipocampo, provocando un cambio estructural en la reorganización del *stratum oriens* del área CA3 (Gómez-Palacio Schjetnan & Escobar, 2008, 2012), y más recientemente que este proceso es independiente de la síntesis *de novo* de proteínas y de mRNA (Martínez-Moreno et al., 2020). En la corteza insular, una región implicada en la adquisición y almacenamiento de varios tipos de aprendizajes aversivos, la microinfusión aguda de esta neurotrofina también logra inducir una LTP, aunque aún no se determina si esta potenciación depende de la transcripción y traducción (Escobar et al., 2003; Rivera-Olvera et al., 2016).

Por otro lado, la participación de esta neurotrofina en el procesamiento de las diferentes fases de la memoria ha sido ampliamente documentada (Bekinschtein et al., 2014; Liu et al., 2019; Miranda et al., 2019). Se ha visto por ejemplo que, durante la formación de la memoria, la expresión de BDNF incrementa (Alonso et al., 2005; Tokuyama et al., 2000; Martínez-Moreno et al., 2011; Ma et al., 2011; Sartor et al., 2019). Además, se destaca su participación en el mantenimiento de la memoria (Bekinschtein et al., 2008; Linnarsson et al., 1997), así como para los procesos de reconsolidación (Gonzalez et al., 2019; Radiske et al., 2017) y extinción (Liu et al., 2019; Rivera-Olvera et al., 2018; Rodríguez-Serrano et al., 2014).

En este orden de ideas, trabajos previos de nuestro laboratorio han demostrado que la administración de BDNF en la corteza insular previa a un entrenamiento de condicionamiento de aversión al sabor mejora la retención de esta memoria (Castillo et al., 2006), mientras que, si la administración se hace antes del entrenamiento de extinción, ésta se ve facilitada (Rodríguez-Serrano et al., 2014). Además, el BDNF logra revertir el déficit de una memoria provocado por la inhibición de síntesis proteica, lo que sugiere que esta neurotrofina es un producto de síntesis esencial para el mantenimiento de la memoria de largo plazo (Moguel-González et al., 2008).

NEUROTROFINA 3

La neurotrofina 3 (NT-3) es un miembro prominente de la familia de las neurotrofinas presente en el sistema nervioso de mamíferos cuya relación con los procesos cognitivos es aún incipiente. En su forma madura, NT-3 tiene un tamaño de 119 aminoácidos y forma un homodímero de ~27 KDa (Figura 4) (Maisonpierre et al., 1990).

Es codificada por el gen *Ntf3* y su expresión inicia en las primeras etapas del desarrollo embrionario y continua en la vida adulta de mamíferos (Binder, 2007; Friedman et al., 1998; Marco-Salazar et al., 2014). Se expresa tanto en neuronas como en células gliales en varias regiones del sistema nervioso central y periférico, participando de manera importante en los procesos de proliferación, diferenciación y supervivencia neuronal (Hernández-Echeagaray, 2020; Yan et al., 2021). Asimismo, interviene en el crecimiento axonal y la sinaptogénesis (Ramos-Languren et al., 2013; Robertson et al., 2006; de

Fátima dos Santos Sampaio et al., 2021).

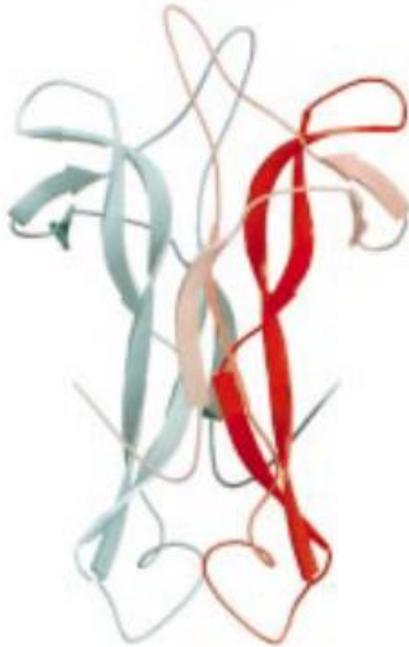


Figura 4. Estructura de la Neurotrofina 3. Modelo de la estructura de NT-3 -e en su forma homodimérica determinada por cristalografía de rayos X (Modificado de Butte et al., 1998).

En este sentido, diversos estudios han identificado la presencia tanto del mRNA que codifica a la NT-3 como a la neurotrofina madura tanto en células gliales como en neuronas del hipocampo, cuerpo calloso, estriado, cerebelo, *substantia nigra*, bulbo olfatorio, motoneuronas del sistema nervioso periférico, así como en varias regiones neocorticales, tales como las cortezas retrosplenial, visual, infralímbica e insular (Shinoda et al., 2019; Friedman et al., 1998; Vigers et al., 2000, Robertson et al., 2006).

Vigers y colaboradores (2000) analizaron el patrón de expresión de NT-3 en la corteza cerebral de ratones transgénicos, los cuales expresaban el gen *LacZ* bajo el promotor de NT-3, de tal forma que los animales heterocigotos NT-3^{lacZneo/+} expresan β -galactosidasa como proteína reportera de la expresión de NT-3. De esta manera, se mostró una expresión significativa del reportero de NT-3 en las cortezas orbital, insular, prelímbica, frontal y piriforme, así como en el hipocampo, tanto en el día postnatal 0 (P0) como en adultos de 8 semanas (Vigers et al., 2000). Posteriormente, Robertson y colaboradores (2006) encontraron que estas regiones reciben un gran número de proyecciones colinérgicas desde etapas tempranas del desarrollo, lo que sugiere que el

patrón de expresión de NT-3 es importante para el establecimiento de las aferencias corticales (Figura 5) (Robertson et al., 2006).

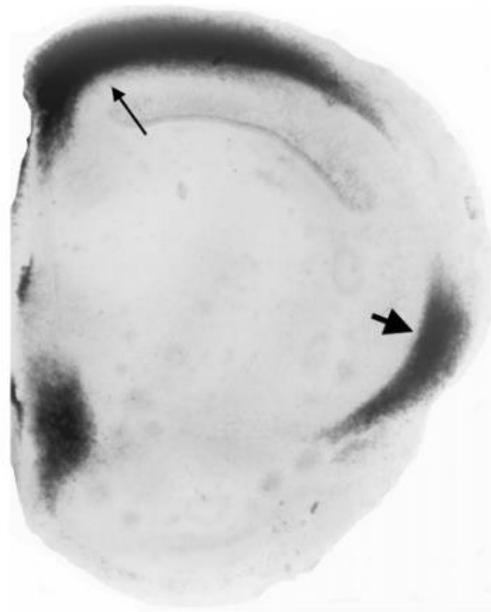


Figura 5. Expresión de NT-3 en regiones neocorticales. Cultivo de cortes de hemisferios organotípicos de ratones heterocigotos NT-3^{lacZneo/+} en el día postnatal P4. Las flechas indican una fuerte marca de expresión del reportero de NT-3 en las cortezas cingulada (flecha delgada) e insular (flecha gruesa) (Modificado de Robertson et al., 2006).

La NT-3 es capaz de activar a los tres tipos de receptores Trk, lo cual hace que un número potencialmente alto de neuronas pueda responder a esta neurotrofina. Por su parte, la activación de estos receptores desencadena diferentes procesos celulares que podrían actuar en sinergia (Hernández-Echeagaray, 2020; Naito et al. 2017). Sin embargo, la NT-3 muestra mayor afinidad por el receptor TrkC, el cual únicamente es activado por esta neurotrofina y su activación desencadena señales que regulan la transmisión sináptica y la plasticidad estructural. El receptor TrkC se expresa en hipocampo, corteza, cerebelo, estriado, así como en neuronas motoras y sensoriales del sistema nervioso periférico (Hernández-Echeagaray, 2020; Naito et al., 2017; Ramos-Languren & Escobar, 2013).

En relación con lo anterior, Pitts y Miller (2000) describieron el patrón de expresión de NT-3, BDNF y NGF en neuronas corticales de ratas adultas, particularmente de la corteza somatosensorial. En este estudio, se mostró que NT-3 se expresa de manera

heterogénea a lo largo de las capas corticales, con mayor abundancia en la capa V y menor en la capa IV. Además, se observó que las neuronas corticales expresan tanto NT-3 como sus receptores TrkC y p75, indicando que la neurotrofina puede ejercer efectos autocrinos y paracrinos (Figura 6) (Pitts & Miller, 2000).

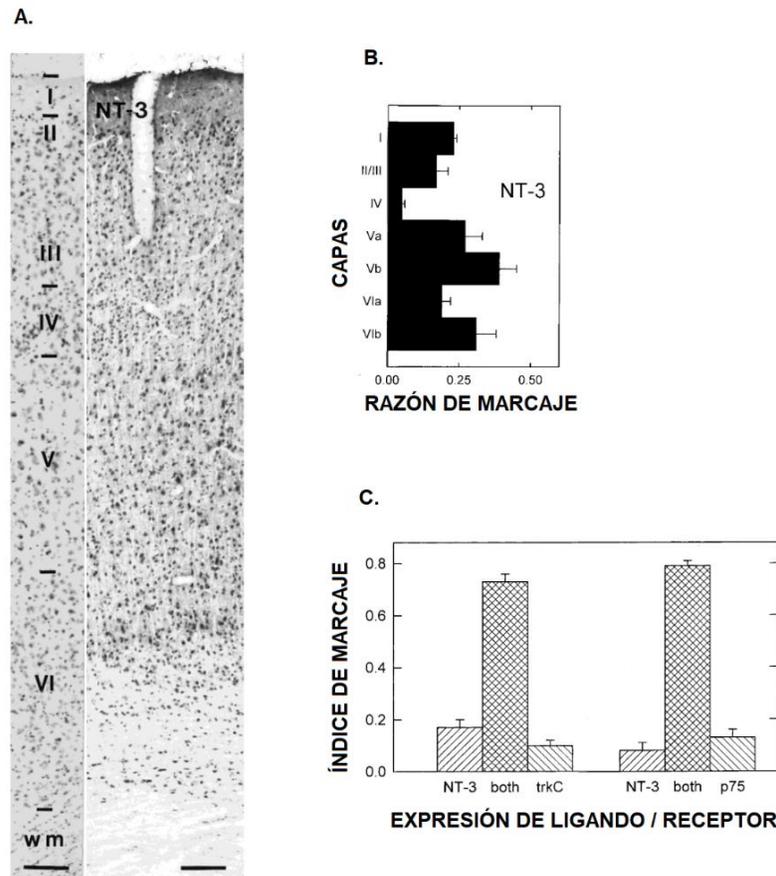


Figura 6. Expresión de NT-3 en neuronas corticales. Inmunohistoquímica para detectar la presencia de NT-3 y sus receptores en neuronas de la corteza somatosensorial. A-B) Distribución heterogénea de la neurotrofina a lo largo de las capas corticales. C) Coexpresión de NT-3 y los receptores TrkC y p75. (Modificado de Pitts y Miller, 2000).

Se ha reportado que el receptor TrkC transduce dos tipos de señales intracelulares a saber: en presencia de su ligando (NT-3) transduce una señal que lleva a la supervivencia y diferenciación, mientras que en ausencia del ligando, se inicia la señalización de muerte celular programada (Pan et al., 2013). Al igual que los demás receptores Trk, la unión de la neurotrofina a TrkC induce su dimerización y desencadena las cascadas de señalización intracelulares de MAPK, PI3K y PLC γ (Figura 7) (Han et al., 2016).

En este sentido, en un estudio reciente de Ateaue y colaboradores (2022) se exploraron las diferencias en la señalización de los receptores TrkB y TrkC desencadenada por NT-3 en neuronas diferenciadas de células troncales humanas, dado que normalmente las neuronas coexpresan ambos receptores. Para ello se efectuó una manipulación genética empleando CRISPR-Cas9 con el fin de silenciar la expresión de TrkB obteniendo neuronas que únicamente expresaran TrkC. De manera interesante, los resultados muestran que la concentración de NT-3 requerida para inducir la activación de TrkC alcanza la saturación con la administración de 100 pM, en tanto que las neuronas que coexpresan ambos receptores requieren hasta 400 pM para su activación (Ateaue et al., 2022).

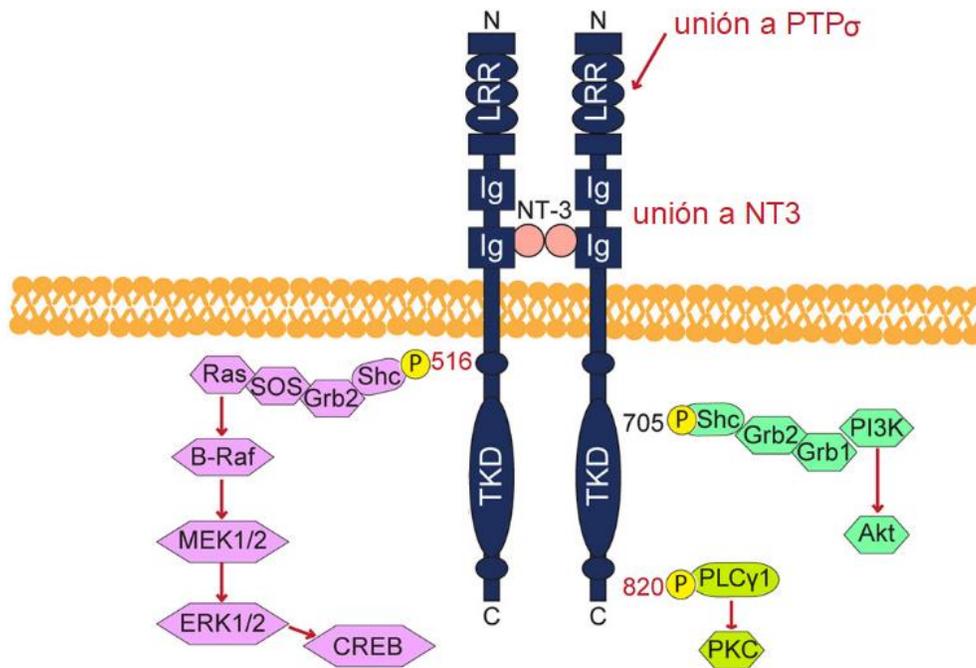


Figura 7. Señalización de TrkC inducida por NT-3. Esquema de la señalización intracelular desencadenada por la unión de NT-3 al receptor TrkC. Se muestran los sitios de unión a PTP σ y a NT-3 en el espacio extracelular, así como los residuos de unión a la proteína adaptadora Shc y a la Fosfolipasa C (PLC γ 1). Al igual que para los otros receptores Trk, las vías de señalización desencadenadas son MAPK, PI3K y PLC γ (Modificado de Han et al., 2016).

Recientemente se ha descrito la participación de los receptores TrkC y NT-3 en la organización sináptica. Los receptores Trk cuentan con dominios de tipo inmunoglobulina en su estructura, aunque la secuencia particular de estos dominios en

los receptores TrkC le permite interactuar con la proteína tirosina-fosfatasa sigma ($PTP\sigma$), formando un complejo que induce la diferenciación de sinapsis excitatorias glutamatérgicas en hipocampo durante el desarrollo (Naito et al., 2017).

Por otro lado, a pesar de que el papel de la NT-3 en la modulación de la transmisión sináptica ha sido mucho menos estudiado que el de BDNF, se cuenta con varias evidencias sobre la participación regulatoria que cumple en diferentes regiones del sistema nervioso. Por ejemplo, se ha visto que la exposición aguda a la NT-3 en la placa neuromuscular genera una potenciación en la transmisión sináptica (Lohof et al., 1993). También se ha observado que los niveles de mRNA de NT-3 incrementan tras la estimulación capaz de inducir LTP en neuronas piramidales de la región CA1 del hipocampo (Patterson et al., 1992).

En este orden de ideas, estudios previos de nuestro grupo de investigación mostraron que la microinfusión hipocampal de NT-3 induce una potenciación de largo plazo *in vivo* acompañada de la reorganización estructural de las fibras musgosas hipocampales. Además, se observó que la infusión de esta neurotrofina produce un efecto metaplástico que impide la subsecuente potenciación producida por estimulación de alta frecuencia (Ramos-Languren & Escobar, 2013).

Por otro lado, en la vía corticoestriatal se ha estudiado la participación de NT-3 en la regulación de la plasticidad sináptica. En un trabajo realizado por Gómez-Pineda y colaboradores (2018) se observó que esta neurotrofina es capaz de modular la respuesta sináptica glutamatérgica diferencialmente dependiendo de su asociación con los receptores TrkB o TrkC (Gómez-Pineda et al., 2018).

En neuronas corticales también se ha investigado la capacidad de NT-3 para modular la transmisión sináptica. Por ejemplo, Kim y colaboradores observaron que NT-3 es capaz de modular la transmisión sináptica en neuronas corticales en cultivo mediante la inhibición de la transmisión GABAérgica (Kim et al., 1994).

Al igual que para otras neurotrofinas, los efectos de NT-3 sobre la transmisión sináptica se pueden observar tanto en el corto como en el largo plazo. Estas diferencias han sido

particularmente estudiadas en la placa neuromuscular. En este sentido, se ha observado que la potenciación aguda en la transmisión sináptica es independiente de la síntesis de proteínas (Chang & Popov, 1999), se relaciona con mecanismos de liberación vesicular (Wang et al., 1995) y es modulado por las vías de señalización de PI3K e IP3 (Yang et al., 2001). Por otro lado, los efectos a largo plazo provocados por la NT-3 involucran cambios estructurales en las terminales sinápticas (Lu, 2004), los cuales son dependientes de síntesis de proteínas (Je et al., 2005) y están mediados por la vía de señalización de Rap1-MAPK (Je et al., 2006).

Si bien la relevancia de la NT-3 en la transmisión sináptica ha sido documentada, su participación en la modulación de procesos cognitivos es incipiente. En este sentido, su participación ha sido explorada fundamentalmente en modelos patológicos. Tal es el caso del estudio de Durany y colaboradores donde se reportan diferencias entre los niveles de la proteína NT-3 de pacientes con esquizofrenia y de sujetos sanos en las cortezas prefrontal y occipital, lo que se asocia con anomalías morfológicas que subyacen a las alteraciones cognitivas de esta enfermedad (Durany et al., 2001); mientras que en pacientes con enfermedad de Alzheimer no se encontraron diferencias en estas regiones (Durany et al., 2000).

Asimismo, se ha reportado que el incremento en la expresión de NT-3 en el hipocampo está asociado a una recuperación del déficit de memoria, inducido por un modelo de meningitis neonatal, en las tareas de laberinto acuático de Morris y en un entrenamiento de evitación pasiva (Liu et al., 2019). De manera similar, recientemente se mostró que la sobreexpresión de esta neurotrofina en células troncales mesenquimales derivadas de médula ósea, promueve su diferenciación en neuronas, así como una recuperación de la función cognitiva en un modelo experimental de Alzheimer (Yan et al., 2021). En este orden de ideas, se ha observado que la sobreexpresión del receptor TrkC produce un fenotipo similar al desorden de pánico, en el cual los animales no son capaces de extinguir una memoria aversiva. En este escenario, la infusión de NT-3 en la corteza infralímbica, logra rescatar la memoria de extinción al miedo condicionado al contexto activando la vía de señalización de ERK (D'Amico et al., 2017). Si bien estas evidencias sugieren que la NT-3 participa de manera importante en los procesos de aprendizaje y

memoria, la regulación que ejerce en los procesos cognitivos en ausencia de condiciones patológicas ha sido poco explorada.

CONDICIONAMIENTO DE AVERSIÓN AL SABOR

El condicionamiento de aversión a los sabores (CAS) es un tipo de aprendizaje asociativo que consiste en la asociación de un sabor novedoso [estímulo condicionado (EC)] seguido de malestar gástrico [estímulo incondicionado (EI)], que ocasiona que el animal evite ingerir ese alimento cuando se le presenta nuevamente (Figura 8) (Foy & Foy, 2016). Desde un punto de vista evolutivo, la habilidad para distinguir diferentes sabores y sus consecuencias se relaciona con la supervivencia del animal, de tal forma que este aprendizaje evita que el animal consuma sustancias potencialmente nocivas (Nakai et al., 2020; Welzl et al., 2001; Yamamoto et al., 1994; Molero-Chamizo & Rivera-Urbina, 2020).

A pesar de que el CAS es descrito comúnmente como un condicionamiento clásico (asociación entre dos estímulos), presenta algunas características típicas del condicionamiento instrumental (asociación entre una conducta y una consecuencia). Es decir, en el condicionamiento clásico, la contingencia entre el EC y el EI no puede ser cambiada por el sujeto, lo que ocurre durante la fase de asociación (en la que el sabor novedoso es asociado con el malestar gástrico subsecuente), sin embargo, el animal determina la exposición al EC por su propia acción de beber, disminuyendo el consumo para evitar un castigo (malestar interno), lo que es característico de un condicionamiento instrumental (Bures, 1998; Fouquet et al., 2001; Li et al., 2013; Schier & Spector, 2019).

De manera experimental, este condicionamiento comúnmente se establece mediante la presentación de un sabor novedoso, generalmente sacarina (EC), seguido de la administración intraperitoneal de una solución de cloruro de litio (LiCl) (EI), la cual provoca malestar gástrico a los pocos minutos de administrarse (Figura 8) (Nakai et al., 2020; Yamamoto et al., 1994). La subsecuente reexposición al estímulo condicionado (sacarina) lleva a la evocación de la memoria adquirida. A nivel conductual, la respuesta condicionada se caracteriza por la evitación del estímulo condicionado, cuantificado como una reducción en el consumo de sacarina (Hadamitzky et al., 2015; Yiannakas &

Rosenblum, 2017; Cheng et al., 2022).

Esta disminución en el consumo es un indicador de que la palatabilidad del sabor condicionado experimenta un cambio transitando de una valencia positiva a una negativa, lo que, a su vez, incrementa la expresión de respuestas aversivas orofaciales y corporales, como abrir la boca, frotarse la barbilla, sacudir las extremidades anteriores y la cabeza (Lin et al., 2014; Schier & Spector, 2019; Lavi et al., 2018; Breslin et al., 1992).

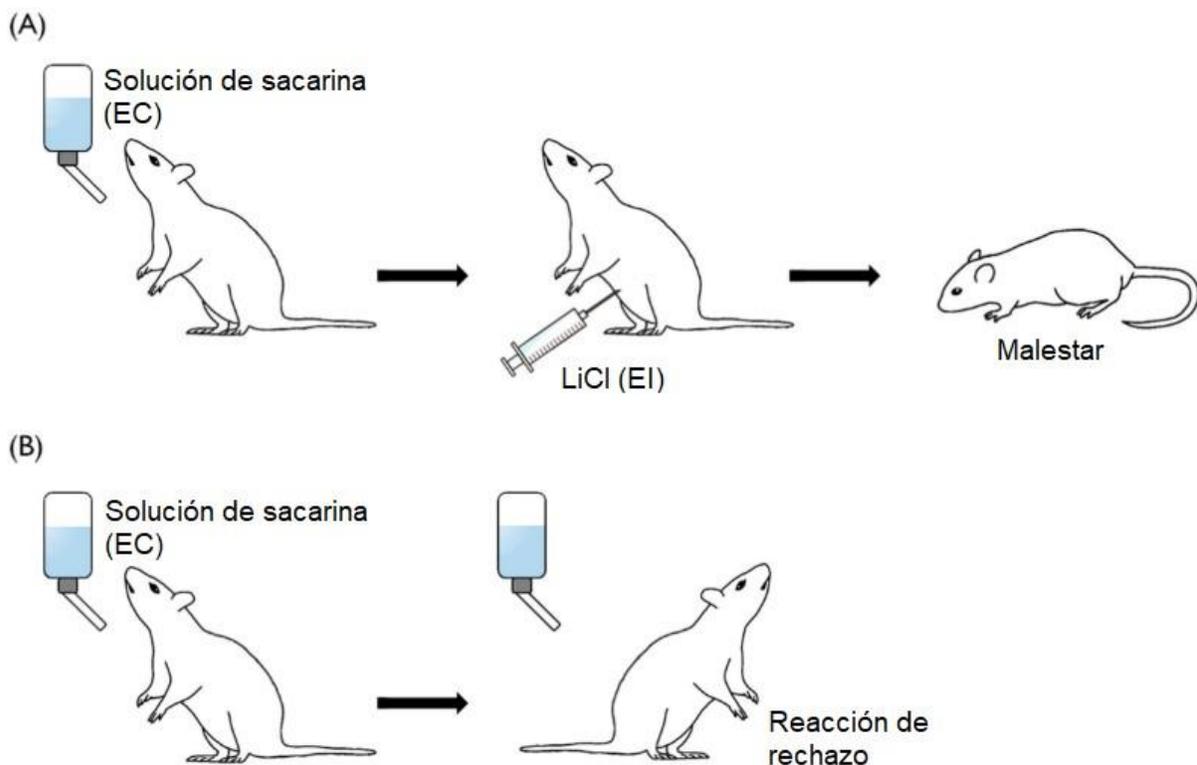


Figura 8. Condicionamiento de aversión al sabor (CAS) A) Durante la adquisición del CAS se presenta sacarina como sabor novedoso, posteriormente se administra LiCl que provoca malestar gástrico al animal. B) Al presentar nuevamente la sacarina, el animal evita su consumo (Modificado de Nakai et al., 2020).

Este paradigma fue establecido por García y Koelling (1966), quienes describieron que la asociación entre un estímulo gustativo se da preferentemente con un malestar interno (al que nombraron náusea condicionada), a diferencia de la presentación de un estímulo nocivo externo, por ejemplo, choques en las patas (García & Koelling, 1966). El CAS es un tipo de condicionamiento que presenta ciertas particularidades que le permiten ser un modelo experimental ampliamente utilizado para el estudio de los sustratos

moleculares, celulares y anatómicos de la memoria en sus diferentes fases (adquisición, consolidación, evocación y extinción) (Bermúdez-Rattoni, 2004; Ma et al., 2011; Gonzalez et al., 2015; Osorio-Gómez et al., 2021; Rivera-Olvera et al., 2018). Una de sus características es que puede ser adquirido en una sola sesión, a diferencia de otros tipos de aprendizaje asociativo que requieren múltiples presentaciones. Otra peculiaridad es el amplio intervalo entre estímulos que puede emplearse en esta tarea, llegando a ser incluso de horas, mientras que, para otros tipos de aprendizaje asociativo, un intervalo demasiado largo (varios segundos) puede afectar el establecimiento de la asociación (Foy & Foy, 2016; Molero-Chamizo & Rivera-Urbina, 2020).

Por otro lado, la intensidad del estímulo incondicionado, es decir, la concentración administrada de LiCl, influye en la expresión de la memoria. En este sentido, se ha demostrado que el nivel de aversión aprendida depende de la dosis de LiCl administrada y no de la vía de administración (Nachman & Ashe, 1973). En relación con esto, diversos grupos han mostrado que se puede inducir un condicionamiento débil o moderado con concentraciones bajas de LiCl (entre 0.075 M-0.15 M), mientras que el establecimiento de un condicionamiento fuerte se consigue administrando dosis más altas de LiCl (entre 0.2 M-0.4 M) (Miranda et al., 2008; García-Medina, et al., 2015; Martínez-Moreno et al., 2016, Wu et al., 2021).

También se ha observado que dosis bajas de LiCl forman una memoria lábil y dosis más altas forman una memoria más robusta y duradera (Haupt & Berlin, 1999; Martínez-Moreno et al., 2016). Asimismo, un condicionamiento fuerte inducido por tres sesiones de entrenamiento produce mayor expresión del marcador de actividad neuronal *c-fos* en el núcleo del tracto solitario, el núcleo parabraquial del puente y el núcleo central de la amígdala, regiones implicadas en el procesamiento de este tipo de condicionamiento (Navarro et al., 2000).

ESTRUCTURAS ANATÓMICAS INVOLUCRADAS EN EL CAS

Los sustratos neurales que subyacen a este tipo de aprendizaje han sido bien caracterizados. Debido a que la asociación que se forma se establece entre un estado visceral y estímulos gustativos, la información ascendente del sistema gustativo corre

en paralelo con la información visceral (Figura 9) (Bures, 1998; García-Medina et al., 2015; Schier & Spector, 2019; Osorio-Gómez et al., 2021; Molero-Chamizo & Rivera-Urbina, 2020).

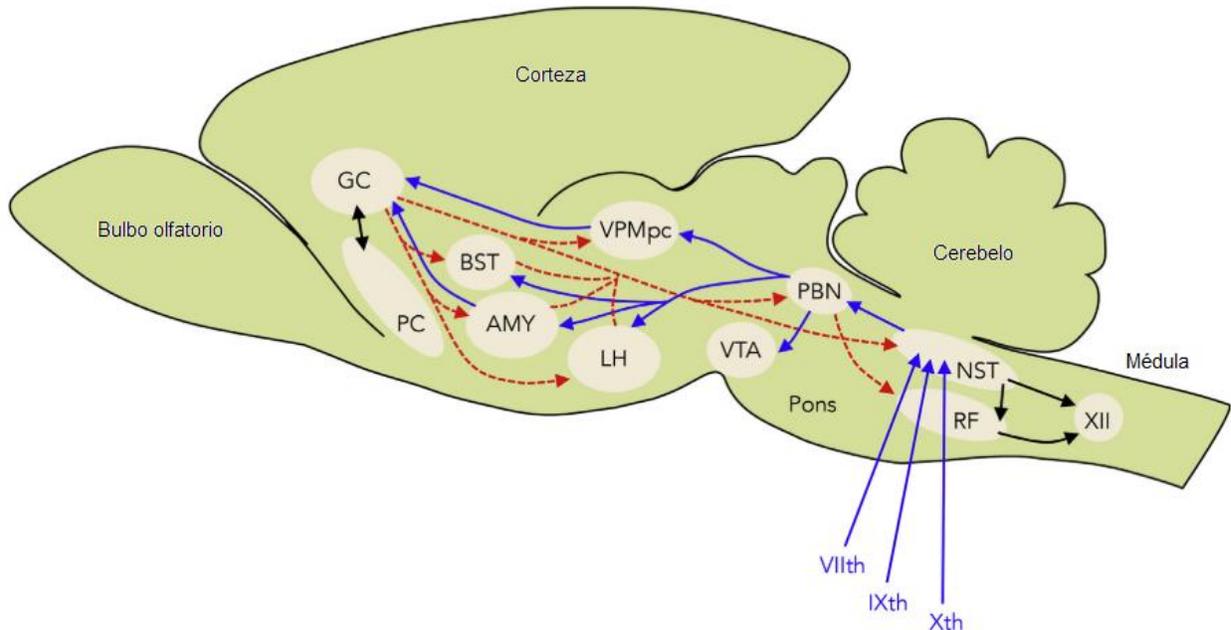


Figura 9. Esquema de la vía gustativa en roedores. La información gustativa proveniente cavidad oral se transmite por los nervios VII, IX y X (Facial, glossofaríngeo y vago, respectivamente) y la información visceral (transmitida por el nervio vago) llegan al núcleo del tracto solitario (NTS) rostral y ventral, respectivamente, desde donde es llevada hasta su relevo final en la corteza insular. NST: núcleo del tracto solitario, RF: formación reticular, PbN: núcleo parabraquial del puente, VTA: área ventral tegmental, VPM: núcleo posteromedial ventral del tálamo, AMY: amígdala, LH: hipotálamo lateral, BST: núcleo del lecho de la estria terminal, GC: corteza gustativa localizada en la corteza insular, PC: corteza piriforme (Modificado de Staszko & Boughter, 2020).

Por un lado, la información gustativa de la lengua y cavidad oral se transmite por las ramificaciones de los nervios craneales VII, IX y X (facial, glossofaríngeo y vago, respectivamente) hasta la zona gustativa (rostral) del núcleo del tracto solitario (NTS) (Staszko & Boughter, 2020; Cheng et al., 2022). A su vez, la mayoría de las neuronas del NTS que responden a estímulos gustativos, proyectan al área gustativa (caudal) ipsilateral del Núcleo Parabraquial del puente (NPb) (Cho et al., 2002). Algunas proyecciones del NPb llevan información a la amígdala central y basolateral, *stria terminalis* y, escasamente, al hipotálamo lateral y la *substantia innominata* (Chiang, et al., 2019; Chen et al., 2018), aunque la mayoría de las proyecciones del NPb ascienden ipsilateralmente al núcleo posteromedial ventral parvocelular talámico (PMV) (Holtz et al.,

2015).

Finalmente, la información gustativa llega por proyecciones del PMV a su último relevo en la corteza insular (CI), la cual a su vez mantiene proyecciones descendentes a casi todos los relevos gustativos, incluyendo al PMV, a los núcleos central y basolateral de la amígdala, elNPb y el NTS (Gogolla, 2017; Staszko & Boughter, 2020; Schier & Spector, 2019).

La formación del trazo de memoria del sabor novedoso involucra la liberación de acetilcolina (ACh) por el núcleo *basalis magnocellularis* (NBM) hacia los receptores muscarínicos presentes en la CI (Miranda y Bermúdez-Rattoni, 1999; Miranda et al., 2000). Asimismo, la presentación de un sabor novedoso incrementa la expresión de *c-fos* (Bernstein & Koh, 2007), así como en la cantidad de dopamina y norepinefrina en la CI (Osorio-Gómez, et al., 2021).

Por otro lado, la náusea provocada por el LiCl activa al nervio vago y área postrema, que transmiten la información visceral a la parte caudal del NTS. En este sentido, se ha demostrado que la estimulación por alto K^+ o glutamato en el NTS inmediatamente después de la estimulación visceral generada por una concentración baja de LiCl, es suficiente para fortalecer un CAS débil (García-Medina, et al., 2015).

Algunas proyecciones del NTS llegan al núcleo hipotalámico paraventricular y a los núcleos central y basolateral de la amígdala (Bermúdez-Rattoni, 2004; Schier & Spector, 2019). Otras proyecciones llegan a la subdivisión lateral externa del NPb. En este orden de ideas, se ha reportado que la administración de LiCl incrementa la expresión del marcador de actividad neuronal *c-fos* en esta región (St. Andre et al., 2007), particularmente en las neuronas que expresan el péptido relacionado al gen de calcitonina (CGRP) (Carter et al., 2015; Chen et al., 2018). Por su parte, estas neuronas transmiten la información visceral a los núcleos central y basolateral de la amígdala y al núcleo del lecho de la estría terminal (BST) (Chen et al., 2018).

A su vez, la amígdala emite proyecciones glutamatérgicas hacia la corteza insular, que están involucradas en el procesamiento de las consecuencias viscerales post-ingesta

(Lavi et al., 2018; Bermúdez-Rattoni, 2014). Aunado a lo anterior, se ha reportado que la administración de LiCl incrementa significativamente la expresión de *c-fos* (St. Andre et al., 2008), y la liberación de glutamato en el núcleo basolateral de la amígdala (BLA) (Miranda et al., 2002). De manera interesante, se ha mostrado que la administración de glutamato en la BLA, en asociación con una dosis baja de LiCl, logra fortalecer la memoria del CAS (Miranda et al., 2002).

Recientemente Morin y colaboradores (2021) demostraron que los receptores muscarínicos en el BLA también juegan un papel importante en la adquisición y consolidación del CAS, ya que la infusión de escopolamina (antagonista de los receptores muscarínicos) previo al entrenamiento, impide la formación de las memorias de corto y largo plazo del CAS (Morin et al., 2021).

Estas evidencias muestran que la corteza insular es un sitio donde converge la información sensorial y visceral, lo que la constituye como una región clave para la integración multimodal y la formación de memorias aversivas como el CAS (Gogolla, 2017).

CORTEZA INSULAR Y CAS

Las conexiones anatómicas de la CI con las diferentes regiones cerebrales hacen que sea una estructura clave en la integración de la información visceral con las entradas sensoriales primarias (Gogolla, 2017; Gehrlach et al., 2020; Livneh & Andermann, 2021), participando en la asociación de respuestas gustativas y viscerales (Foy & Foy, 2016).

La corteza insular tiene tres áreas que difieren en su citoarquitectura, llamadas granular, disgranular y agranular, haciendo referencia a la pérdida progresiva de la capa 4 cortical (Figura 10) (Bermúdez-Rattoni, 2014; Gogolla, 2017). Se ha visto que la región posterior del área granular y disgranular son las principales áreas corticales que reciben entradas sensoriales gustativas y viscerales provenientes de los núcleos talámicos VPM y VPL (Gehrlach et al., 2020; Livneh & Andermann, 2021). Sin embargo, aferencias multimodales llegan a todas las áreas de la CI, por lo que no existe un consenso sobre la existencia de una representación topográfica de la información sensorial en la CI (Livneh

& Andermann, 2021; Fletcher et al., 2017; Chen et al., 2021).

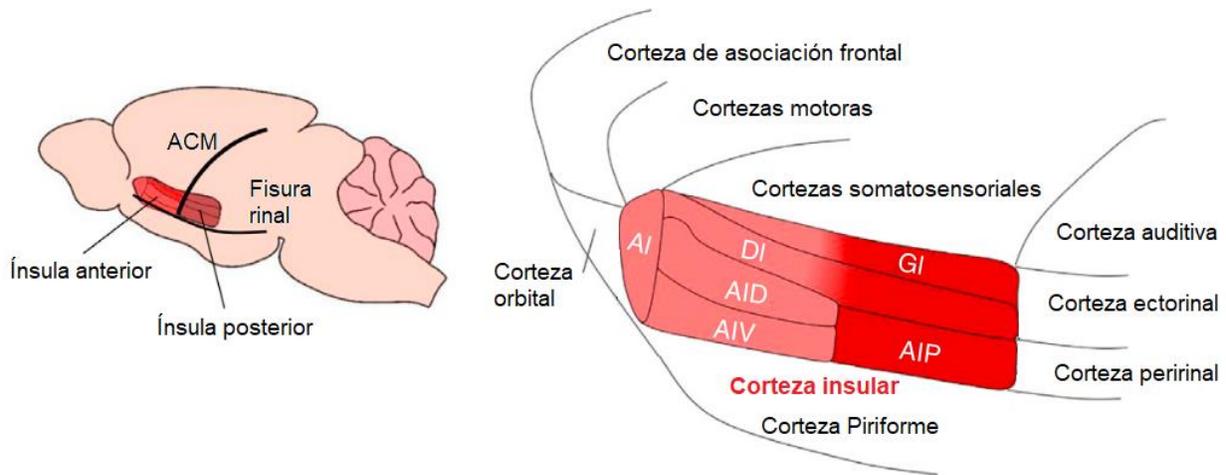


Figura 10. Representación esquemática de la corteza insular en roedores, señalando las subdivisiones citoarquitectónicas (granular, Disgranular y agranular); así como regiones corticales que la rodean. ACM: arteria cerebral media, AI: corteza insular agranular, DI: corteza insular disgranular; GI: corteza insular granular (Modificado de Gogolla, 2017).

Por otro lado, la región anterior de la corteza insular (aCI) juega un papel prominente en el procesamiento de estímulos salientes y la gestión de las respuestas conductuales apropiadas, integrando los estados interoceptivos y emocionales para guiar las respuestas (Wu et al., 2020).

Lesiones en esta región resultan en alteraciones de la representación mnemónica de los sabores y sus consecuencias gastrointestinales (malestar), sin alterar la sensibilidad gustativa o gástrica, lo que se ve reflejado en una disminución en la adquisición y retención del CAS (Bermúdez-Rattoni & Yamamoto, 1998; Foy & Foy, 2016). En este sentido, se demostró que lesiones bilaterales de la CI inducidas 1 o 6 semanas después de la adquisición del CAS tienen un efecto amnésico, provocando que los animales respondan al sabor como si fuera novedoso (Stehberg & Simon, 2011).

Asimismo, manipulaciones farmacológicas en la CI pueden afectar la adquisición o consolidación de la memoria del CAS. Por ejemplo, la administración de APV antes de la presentación de sacarina, impide la adquisición y consolidación del CAS, mientras que la inhibición de los receptores D1/D5 impide su consolidación (Osorio-Gómez, et al., 2021).

Como se mencionó previamente, la CI tiene importantes conexiones glutamatérgicas recíprocas con el BLA, de tal forma que la comunicación entre ambas regiones es importante para la adquisición, consolidación y extinción de la memoria del CAS (Morin et al., 2021; Ferreira et al., 2005; Escobar & Bermúdez-Rattoni, 2000). En relación con lo anterior, estudios previos de nuestro laboratorio han demostrado que la inducción de LTP previa al entrenamiento en el CAS facilita la retención de la tarea, mientras que la inducción de LTD facilita su extinción (Escobar & Bermúdez-Rattoni, 2000, Rodríguez-Durán et al., 2017).

NEUROTROFINAS Y CAS

Como se ha evidenciado hasta aquí, las neurotrofinas juegan un papel clave en los procesos de formación de la memoria. Particularmente, en la formación de la memoria del condicionamiento de aversión al sabor, se ha observado que la infusión de BDNF en la CI puede revertir el déficit de memoria de CAS producido por la inhibición de síntesis de proteínas en esta región (Moguel-González et al., 2008).

Como se mencionó anteriormente, la microinfusión de BDNF en la CI antes del entrenamiento en el CAS, favorece la retención de esta memoria (Castillo et al., 2006), sin embargo, la infusión efectuada antes del entrenamiento de extinción favorece este nuevo aprendizaje (Rodríguez-Serrano et al., 2014), mostrando que la regulación neurotrófica es clave para el mantenimiento de la memoria de aversión al sabor. En una investigación realizada por nuestro grupo de trabajo, se observó que la administración de BDNF en la CI puede intensificar la memoria de aversión. Estos hallazgos muestran que el BDNF es capaz de fortalecer la memoria del CAS y que la magnitud de éste depende de la regulación neurotrófica en la CI (Figura 11) (Martínez-Moreno et al., 2016).

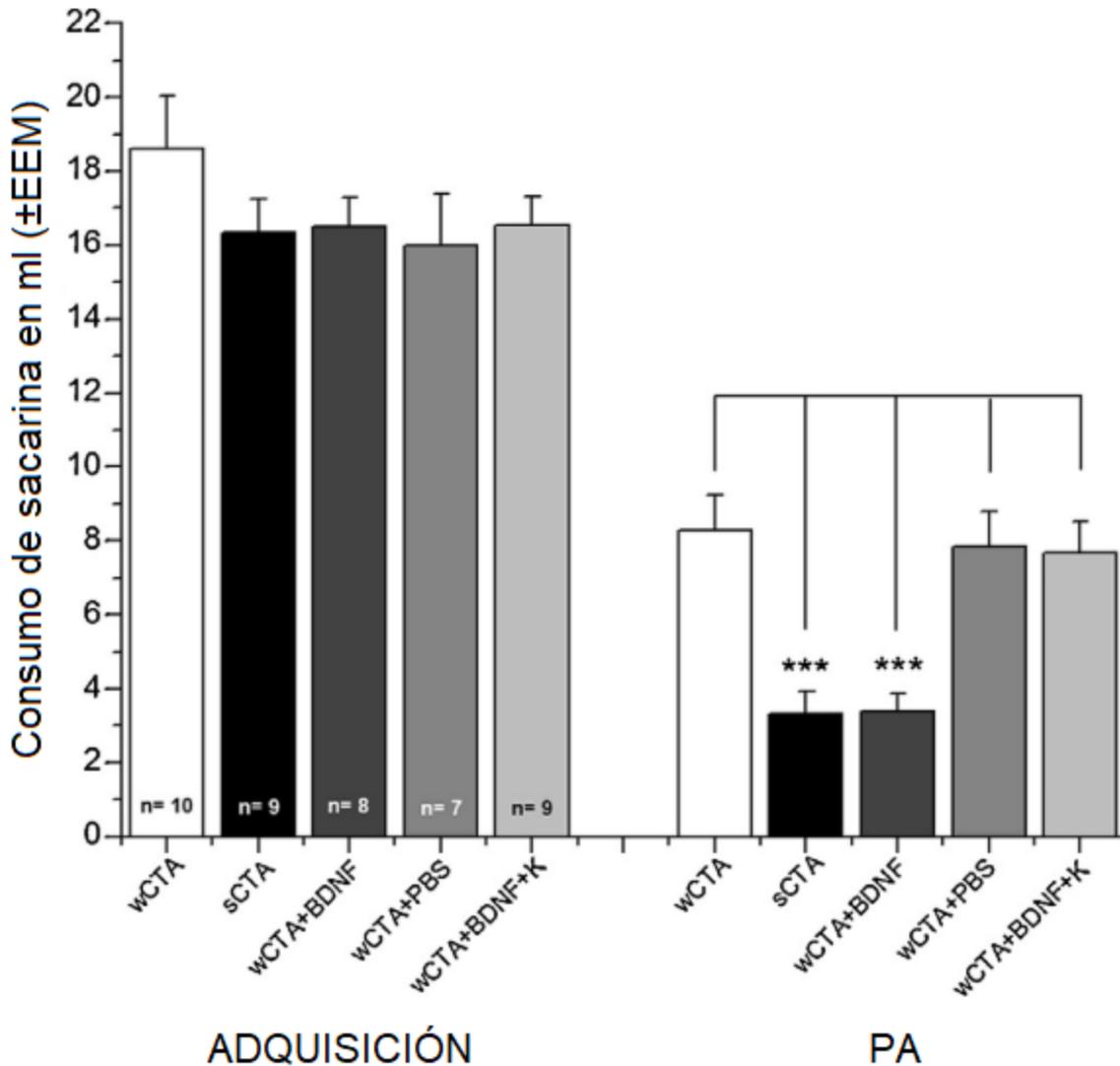


Figura 11. Fortalecimiento de la memoria de CAS tras la administración de BDNF. La administración de BDNF convierte un CAS débil (wCTA) a uno fuerte (sCTA), lo que se ve reflejado en el nivel de consumo de sacarina durante la prueba de aversión (Modificado de Martínez- Moreno et al., 2016).

Esta evidencia indica que la regulación neurotrófica, particularmente en la CI, es clave para la formación y expresión de una memoria de aversión. Si bien el papel del BDNF en esta área ha sido bien documentado, la exploración en torno al potencial de la Neurotrofina-3 para regular la plasticidad sináptica, inducir plasticidad estructural y modular la expresión de otros tipos de memoria es aún incipiente.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La memoria es la capacidad de un animal para almacenar y utilizar la información que previamente ha adquirido para adecuar su conducta y asegurar su supervivencia, por lo que resulta relevante conocer los mecanismos capaces de regularla. En este sentido, las neurotrofinas cobran particular importancia en virtud de su capacidad de modificar la plasticidad sináptica, tanto a nivel morfológico como funcional (Yamada et al., 2002).

Investigaciones previas de nuestro equipo de trabajo han demostrado que la microinfusión de las neurotrofinas BDNF y NT-3, de manera independiente, son capaces de inducir un incremento a largo plazo en la transmisión sináptica acompañado de una reorganización estructural en las fibras musgosas del hipocampo (Martínez-Moreno et al., 2020; Ramos-Languren & Escobar, 2013). Mientras que, a nivel conductual, la administración de BDNF es capaz de intensificar y mejorar la retención de una memoria de aversión al sabor (Castillo et al., 2006; Martínez-Moreno et al., 2016).

Sin embargo, a pesar de la capacidad de NT-3 para regular la transmisión sináptica y de su presencia en la neocorteza cerebral, aún no se ha explorado su efecto sobre la expresión de memorias aversivas y de hecho su participación en áreas neocorticales es aún incipiente. Debido a esto, en el presente trabajo se evaluó el efecto de esta neurotrofina sobre el fortalecimiento de una memoria de aversión al sabor.

HIPÓTESIS

La administración de la Neurotrofina-3 en la corteza insular fortalecerá la memoria de aversión al sabor.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la neurotrofina NT-3 sobre el fortalecimiento de la memoria de aversión al sabor.

OBJETIVO ESPECÍFICO

Evaluar el efecto de la administración de la NT-3 en la corteza insular sobre la consolidación de la memoria del condicionamiento de aversión al sabor, empleando la modalidad débil y fuerte de dicha tarea

DISEÑO EXPERIMENTAL

SUJETOS DE EXPERIMENTACIÓN

Se utilizaron ratas Wistar macho entre 350-380 g, mantenidas en cajas individuales con ciclo de luz oscuridad 12:12 a 22°C, con agua y alimento disponible *ad libitum*, salvo en los periodos en los que se indique lo contrario. La manipulación de los animales se llevó a cabo de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana y los lineamientos del Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL) de la Facultad de Psicología.

CIRUGÍA DE IMPLANTACIÓN DE CÁNULAS

Se implantaron de manera bilateral cánulas guía de acero inoxidable de 1 cm de largo (calibre 23) en los animales anestesiados con pentobarbital (50 ml/kg vía intraperitoneal), usando un instrumento estereotáxico estándar (RWD). La punta de las cánulas guía se colocó a 2 mm sobre la CI usando las siguientes coordenadas respecto a Bregma: anteroposterior (AP)= +1.2 mm; medio-lateral (ML)= +5.5 mm; dorsoventral (DV)= 3 mm (Paxinos & Watson, 2007).

Las cánulas fueron fijadas al cráneo utilizando acrílico dental de secado rápido. Al interior de las cánulas se colocó un estilete de alambre de acero inoxidable para evitar

acumulación de material orgánico en la luz de la cánula. Posterior a la cirugía, se aplicó de manera tópica un medicamento bactericida (Furacine) para evitar infecciones dérmicas. Se permitió la recuperación postoperatoria de los animales por 7 días, para posteriormente iniciar el entrenamiento en el CAS.

ENTRENAMIENTO EN EL CONDICIONAMIENTO DE AVERSIÓN AL SABOR (CAS)

Los animales fueron privados de agua por 24 horas y después fueron habituados a beber agua de un cilindro graduado (30 ml), dos veces al día (a las 10 y 18 h) durante 10 minutos por tres días, para registrar el consumo basal de agua. El día de adquisición, los animales fueron privados de alimento dos horas antes del condicionamiento y el agua fue sustituida por una solución de sacarina al 0.1% como sabor novedoso y presentada a los animales durante 10 minutos. Después de 10 minutos, se administró por vía intraperitoneal una solución de cloruro de litio (9.37 ml/kg; LiCl 0.1 o 0.2 M para establecer la modalidad de CAS débil y fuerte, respectivamente) (Martínez-Moreno et al., 2016). Posterior a la sesión de adquisición se procedió al restablecimiento de la línea base de consumo de agua por tres días, después de los cuales se presentó nuevamente la solución de sacarina al 0.1% para probar la memoria de aversión. La cantidad de sacarina consumida en la prueba de aversión se usó como medida de intensidad de la aversión.

ADMINISTRACIÓN DE FÁRMACOS

Para evaluar el efecto de la NT-3 en el fortalecimiento de la memoria, los grupos canulados fueron infundidos bilateralmente en la corteza insular con la neurotrofina (2 µg/ 2 µl, en PBS como vehículo) inmediatamente después de la adquisición. Para ello, se utilizaron microinyectores contruidos con agujas dentales (calibre 30), introducidos 2 mm por debajo de la posición de las cánulas, alcanzando la corteza insular. Los microinyectores fueron conectados a través de tubos de polietileno a una microjeringa de 10 µl (Hamilton). La infusión fue dosificada mediante una bomba de microadministración (Cole-Palmer Instrument Co.), a una velocidad de flujo de 0.2 µl/min. Una vez inyectado el volumen total de la solución administrada, los microinyectores permanecieron al interior de la cánula durante un minuto más, con el fin

de asegurar la adecuada difusión de la solución en el tejido.

Tres días antes del entrenamiento en el CAS, los animales fueron manipulados para habituarlos al sonido de la bomba de infusión y a la sujeción correspondiente.

ANÁLISIS HISTOLÓGICO

TINCIÓN DE NISSL

Una vez concluida la fase conductual, se llevó a cabo un análisis histológico para verificar la correcta localización de los inyectores. Para ello, los animales recibieron una dosis letal de pentobarbital. Inmediatamente después se realizó la perfusión intracardial con 500 ml solución salina 0.9%, seguido de solución fijadora (paraformaldehído 4%, glutaraldehído 0.2% en PBS 0.1 M pH7.4). Una vez fijado el tejido, los cerebros fueron transferidos a una solución de sucrosa al 30% durante 48 h y mantenidos a 4°C. Posteriormente se obtuvieron cortes coronales de 40µm empleando un microtomo de congelación (Leica SM200R). El tejido fue teñido con violeta de cresilo y examinado bajo el microscopio óptico (Nikon Eclipse E600). En el presente estudio sólo se incluyeron los animales con una colocación adecuada de los inyectores.

INMUNOHISTOQUÍMICA PARA NT-3

Con el propósito de corroborar la difusión de la NT-3 infundida de manera exógena en la corteza insular, se analizó por inmunohistoquímica la presencia de la neurotrofina 15 minutos después de su infusión. Para ello, los animales fueron sacrificados mediante una sobredosis del anestésico pentobarbital. Se realizó perfusión transcardial con 500 ml de solución salina al 0.9%, seguida por 500 ml de paraformaldehído al 4% y glutaraldehído 0.2% en buffer de fosfatos 0.1 M (pH 7.4). La exposición a los fijadores durante la perfusión fue de 30 min, seguido de un periodo post-fijación de 24 h a 4°C. Posteriormente los cerebros fueron transferidos a una solución de sacarosa al 30% en PBS 0.1 M (pH 7.4). Se tomaron secciones coronales de 40 µm, las cuales fueron incubadas por 3 días con el anticuerpo primario, conejo anti-NT-3, (1:300; Abcam) a 4°C. Para revelar el anticuerpo se usó el método de inmuno peroxidasa complejo avidina-biotina. Brevemente, las secciones fueron lavadas en PBS, se incubaron por 2 horas con

el anticuerpo secundario anti-conejo (1: 200; Vectastain® ABC Elite Kit, Vector Labs., Burlingame, CA, EUA), fueron lavadas nuevamente y se incubaron por 2 h con el complejo avidina-biotina-peroxidasa. La marca de peroxidasa fue revelada por la reacción con diaminobenzidina (DAB) en 50 mM de Tris, pH 7.6/0.01% H₂O₂ (0.6 ml DAB (10 mg/ml) 30 ml PBS 0.1M y 5 µl de H₂O₂). Por último, los cortes fueron lavados tres veces con una solución de PBS al 0.3% por 10 minutos en cada ocasión. La reacción inmunohistoquímica se desarrolló usando un estuche Vectastain® ABC Elite (Vector Labs., Burlingame, CA, EUA). Finalmente, las secciones se montaron en portaobjetos de cristal bañados en gelatina y se analizaron con microscopio óptico.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis de los datos conductuales se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de dos vías. Esta prueba permite analizar simultáneamente los efectos de dos fuentes de variación, en este caso se considera la sesión (adquisición y prueba de aversión) y el tratamiento administrado (NT-3 o vehículo). Posteriormente se utilizó la prueba *post hoc* de Fisher para identificar qué grupos difieren entre sí.

DISEÑO EXPERIMENTAL

Para evaluar el efecto de la microinfusión de la NT-3 en la corteza insular sobre la fortaleza de la memoria de un CAS débil, se emplearon los siguientes grupos experimentales:

- Grupo CAS débil (CASd): Fue entrenado en el CAS y en la sesión de adquisición recibió una dosis por vía intraperitoneal de la solución 0.1 M LiCl (Martínez-Moreno et al., 2016).
- Grupo CAS fuerte (CASf): Fue entrenado en el CAS y en la sesión de adquisición recibió por vía intraperitoneal la solución 0.2 M LiCl (Martínez-Moreno et al., 2016).
- Grupos CAS débil + NT-3 (CASd+NT3): Recibió el mismo entrenamiento que el grupo CASd e inmediatamente después de la adquisición se le administró una microinfusión bilateral de NT-3 (2 µg/ 2 µl; 0.2 µl/min en PBS como

vehículo) (Martínez-Moreno et al., 2016; Ramos-Languren & Escobar, 2013).

- Grupos CAS débil + Vehículo (CASd+VEH): Recibió el mismo entrenamiento que el grupo CASd e inmediatamente después de la adquisición recibió una microinfusión PBS como vehículo (2 μ l por lado; 0.2 μ l/min; Martínez-Moreno et al., 2016; Ramos-Languren & Escobar, 2013).
- Grupos CAS débil + NT-3+K252a (CASd+NT-3+K252a): Al igual que el grupo CASd+NT-3, recibió el mismo entrenamiento en el CASd seguido de la microinfusión bilateral de NT-3 en conjunto con K252a, inhibidor de los receptores Trk (2 μ g NT-3 / 2 μ l K252a 20 μ M, 0.2 μ l/min; Martínez-Moreno et al., 2016; Ramos-Languren & Escobar, 2013).

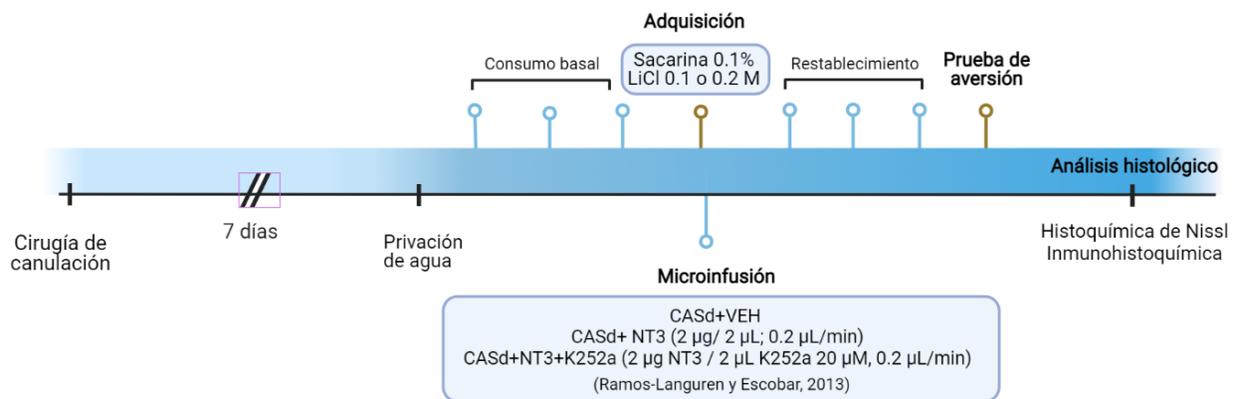


Figura 12. Diagrama del procedimiento experimental.

RESULTADOS

ANÁLISIS HISTOLÓGICO

Se efectuó un análisis histológico por la técnica de Nissl de cortes coronales de los animales con el fin de verificar la correcta localización de los microinyectores en la corteza insular (Figura 13B). Adicionalmente, con el propósito de observar la difusión de NT-3 exógeno en la corteza insular, se realizó un análisis inmunohistoquímico que reveló la presencia de la neurotrofina en el área de la corteza insular (Figura 13C).

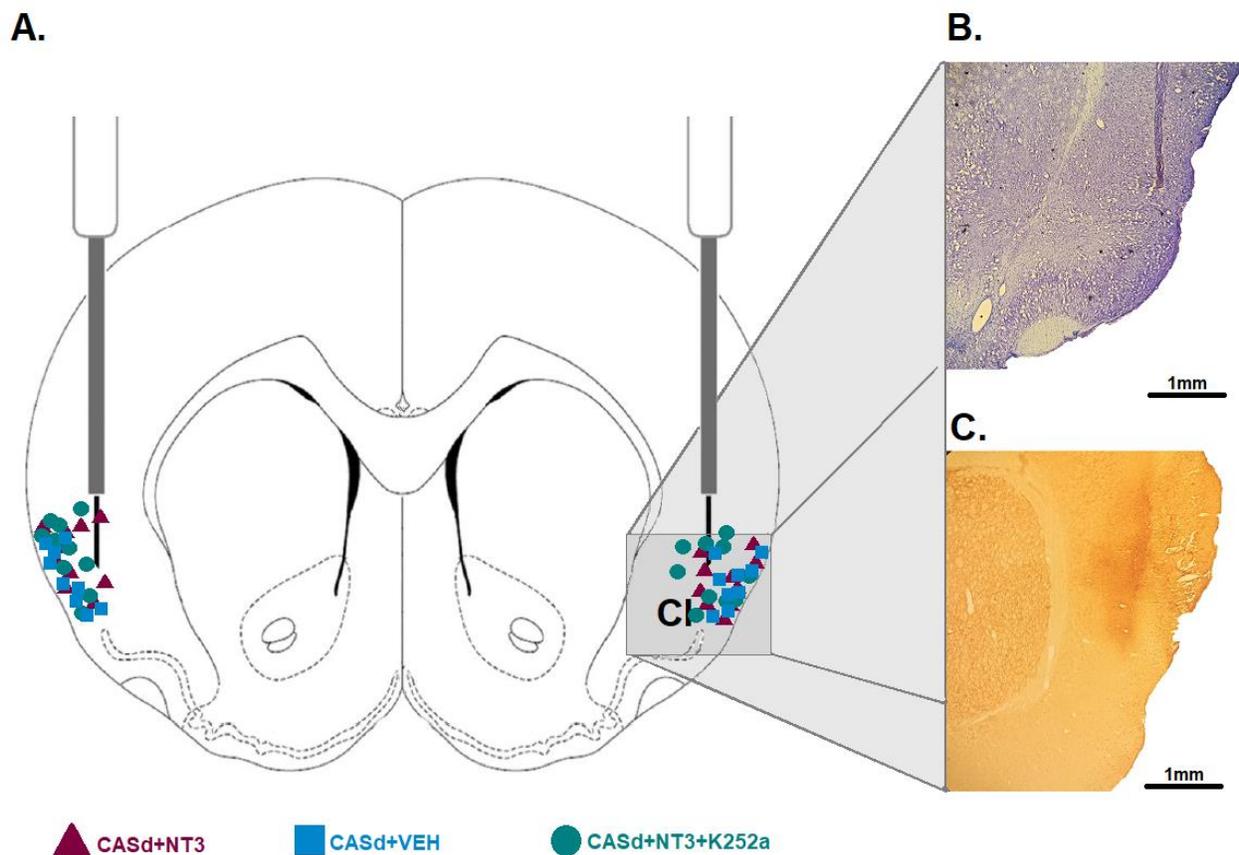


Figura 13. Microinfusión de NT-3 en la corteza insular. A. Representación esquemática de la localización de los inyectores en la corteza insular (los puntos señalan la localización de los inyectores en los diferentes grupos, correspondiente a Bregma 0.96 a 1.44). B. Corte coronal representativo teñido con la técnica de Nissl que muestra la colocación del inyector. C. Corte coronal representativo de la marca de NT-3 (2 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) en la corteza insular.

RESULTADOS CONDUCTUALES

El consumo basal de agua fue similar entre los cinco grupos, así como el consumo de sacarina durante la sesión de adquisición. En promedio, el consumo de agua en ml (\pm E.E.M.) para los grupos CASd, CASf, CASd+NT3, CASd+VEH y CASd+NT3+K252a fue de 16.10 ± 0.80 , 15.85 ± 0.48 , 17.17 ± 0.43 , 17.59 ± 0.52 y 17.81 ± 0.85 , respectivamente. Mientras que el consumo de sacarina en ml (\pm E.E.M.) durante la sesión de adquisición fue de 13.60 ± 0.87 , 13.64 ± 0.43 , 14.60 ± 0.42 , 14.44 ± 0.53 y 13.86 ± 0.67 , respectivamente.

El ANOVA de dos vías mostró que el consumo de sacarina durante la prueba de aversión fue significativamente diferente entre los grupos ($F_{(4,84)}=7.18$, $p<0.0001$). La prueba *post hoc* de Fisher mostró que el consumo de sacarina en los grupos CASf y CASd+NT3 fue significativamente menor que el de los grupos CASd, CASd+VEH y CASd+NT3+K252a ($p<0.001$); mientras que los grupos CASf y CASd+NT3 no difieren significativamente en su consumo ($p=0.177$). Este resultado indica que la infusión de NT-3 en la corteza insular puede fortalecer un CAS débil, permitiendo que exprese un nivel de aversión similar al generado por un entrenamiento fuerte. Asimismo, los presentes resultados muestran que los efectos de NT3 requieren de la activación de los receptores de alta afinidad (Figura 14).

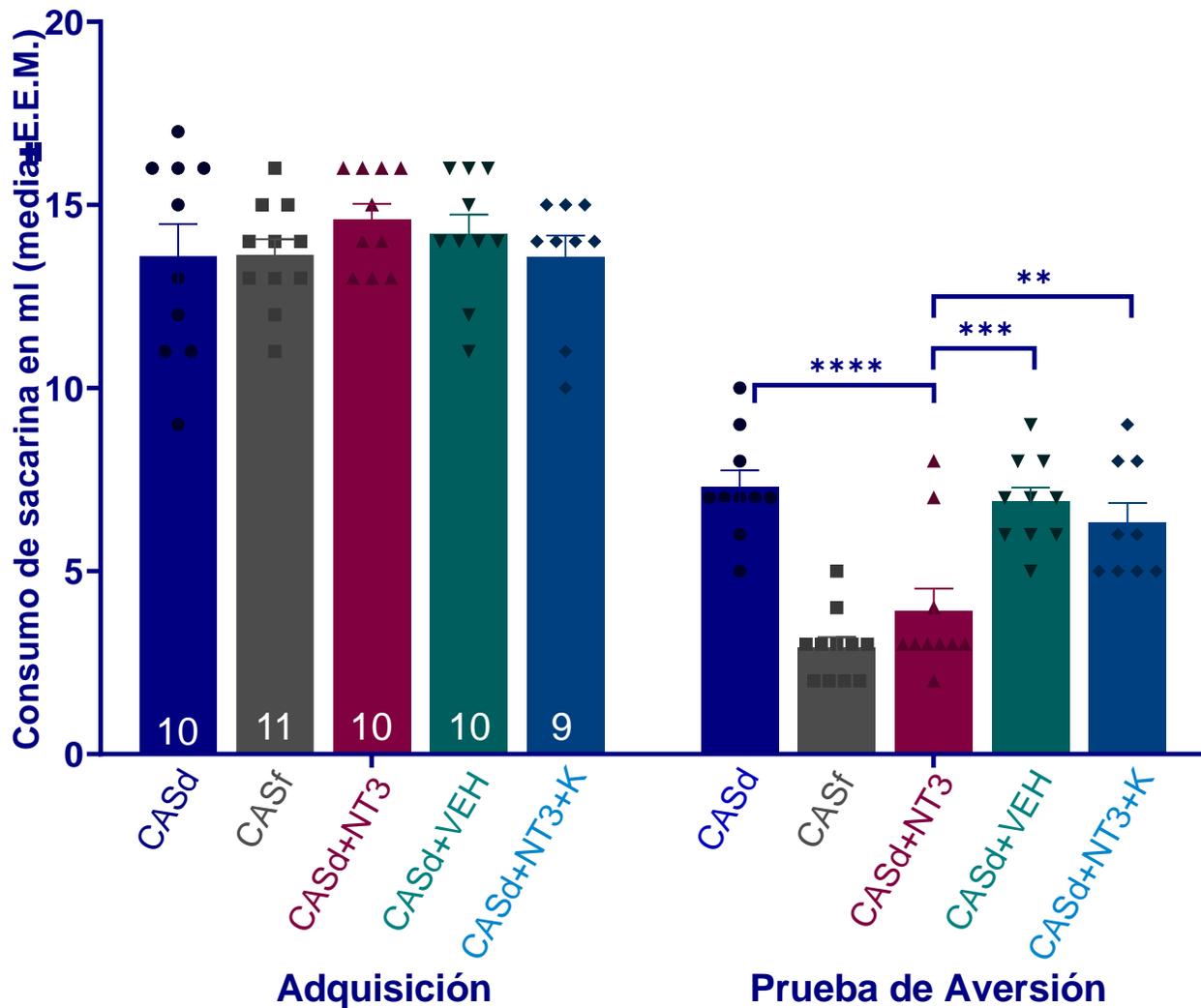


Figura 14. La infusión de NT-3 en la corteza insular fortalece la memoria de un CAS débil. La gráfica muestra el consumo de sacarina durante la sesión de adquisición y prueba de aversión. Los animales fueron entrenados en la modalidad de CAS débil (LiCl 0.1M) y fuerte (0.2 M). La infusión de NT3 fortalece el trazo de memoria del grupo CAS débil, permitiendo que los animales que recibieron un entrenamiento débil muestren un grado de aversión similar al grupo con entrenamiento fuerte (**= $p < 0.01$; ***= $p < 0.001$; ****= $p < 0.0001$).

El efecto de la neurotrofina en la memoria del CAS también se observa al comparar el porcentaje de consumo de sacarina en la prueba de aversión respecto al de la sesión de adquisición (Figura 15).

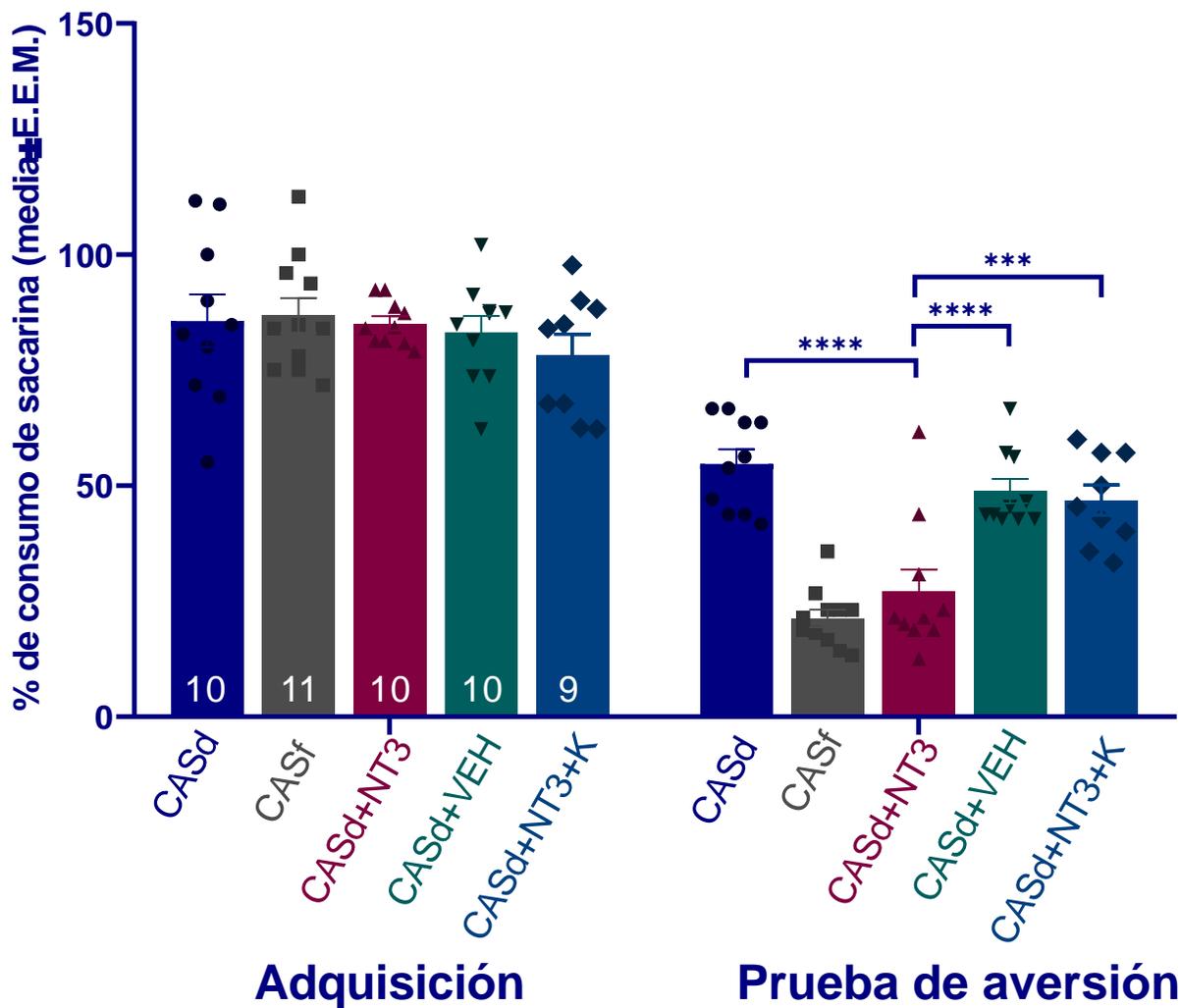


Figura 15. Porcentaje de consumo de sacarina respecto a la adquisición. La gráfica muestra el porcentaje de consumo de sacarina respecto a la adquisición. Los animales fueron entrenados en la modalidad de CAS débil (LiCl 0.1 M) y fuerte (0.2 M). La infusión de NT-3 fortalece el trazo de memoria del grupo CAS débil, permitiendo que los animales que recibieron un entrenamiento débil muestren un grado de aversión similar al grupo con entrenamiento fuerte (**= $p < 0.001$; ****= $p < 0.0001$).

DISCUSIÓN

La formación de memorias requiere de modificaciones a largo plazo en la transmisión y organización sinápticas. El estudio de los mecanismos moleculares que subyacen a estos fenómenos señala a la familia de las neurotrofinas como potentes reguladores de estos procesos. Particularmente, la Neurotrofina-3 ha mostrado la capacidad de inducir cambios en la transmisión y reorganización sináptica en regiones como el hipocampo (Ramos-Languren & Escobar, 2013), el estriado (Gómez-Pineda et al., 2018) y la corteza infralímbica (D'Amico et al, 2017).

Los resultados derivados del presente estudio indican que la infusión de NT-3 en la corteza insular fortalece la consolidación de la memoria del condicionamiento de aversión al sabor, permitiendo que los animales que recibieron un entrenamiento débil (LiCl 0.1 M) muestren una fuerte aversión. En concordancia con estos hallazgos, estudios previos de nuestro grupo de investigación han demostrado la capacidad de la NT-3 (en la misma dosis empleada en el presente trabajo) , de inducir cambios en la fortaleza de la transmisión sináptica así como en la estructura de las fibras musgosas hipocampales (Ramos-Languren & Escobar, 2013). Ambos procesos involucrados de manera determinante en la consolidación de la memoria (Dudai, 2004).

En este orden de ideas, investigaciones recientes han comenzado a explorar el efecto de la NT-3 en las alteraciones de la memoria observados en modelos patológicos, principalmente en el hipocampo. En este sentido, Yan y colaboradores (2021) indujeron la sobreexpresión de NT-3 en células troncales mesenquimales derivadas de médula ósea, las cuales fueron trasplantadas en el hipocampo de ratas en un modelo experimental de Alzheimer. Las ratas que recibieron este trasplante mostraron mayores niveles de NT-3 en el tejido cerebral, además de una mejora en la memoria del laberinto acuático de Morris (Yan et al., 2021). Recientemente Liu y colaboradores (2019) mostraron que el incremento en la expresión del mRNA que codifica para NT-3 en el hipocampo, genera un mejor desempeño tanto en el laberinto acuático de Morris como en la prueba de evitación pasiva en un modelo experimental de meningitis (Liu et al., 2019). Estos trabajos concuerdan con las observaciones de Shimazu y colaboradores

(2006), quienes reportaron que en ratones KO para NT-3 se presentan déficits en tareas de memoria espacial, acompañados con una disminución de la diferenciación neuronal en el giro dentado y alteraciones en la transmisión y plasticidad sináptica (Shimazu et al., 2006).

Por otro lado, como mencionamos en líneas anteriores, la participación de la NT-3 en la neocorteza ha sido menos explorada. Referente a esto, D'Amico y colaboradores demostraron que la administración de la NT-3 en la corteza infralímbica logra recuperar la memoria de extinción en un modelo de desorden de pánico, a través de la activación de la vía de señalización ERK. Adicionalmente, demostraron que la NT-3 también rescata la potenciación de largo plazo inducida por estimulación de alta frecuencia en este mismo modelo patológico (D'Amico et al, 2017). En este mismo estudio se observó que, en animales sanos, los niveles de NT-3 y de su receptor TrkC incrementan tras el entrenamiento en el condicionamiento de miedo al contexto, así como tras la extinción de éste (D'Amico et al, 2017).

Conforme lo anterior, los presentes hallazgos muestran que el fortalecimiento de la memoria del CAS generado por la NT-3 depende de la activación de los receptores Trk, puesto que la administración del inhibidor de estos receptores bloquea este efecto. Si bien la NT-3 es capaz de activar a los tres tipos de receptores Trk, recientemente se ha explorado las diferencias en la señalización de los receptores TrkB y TrkC desencadenados por esta neurotrofina. Al respecto, Ateaque y colaboradores (2022) reportaron que NT-3 activa a los receptores TrkC a concentraciones menores que las necesarias para activar a los receptores TrkB, sin embargo, los cambios en la expresión génica derivados de la activación de TrkC son similares a los que resultan de la activación de TrkB por BDNF. En este trabajo se observaron incrementos significativos en la expresión de genes relacionados a la plasticidad, como *Arc/Arg3.1*, *fos* y *ATF3* (Ateaque et al., 2022). En concordancia con esto, Guzmán-Ramos y colaboradores (2018) observaron que la síntesis *de novo* de la proteína Arc en la amígdala es necesaria para la consolidación de la memoria del CAS. De manera interesante, encontraron que la formación de la memoria del CAS es independiente de la síntesis de Arc en la corteza insular, sin embargo, mencionan que no se puede descartar la participación de Arc en

una ventana temporal diferente a la analizada (Guzmán-Ramos et al., 2018).

La activación de los receptores Trk por NT-3 induce su dimerización y autofosforilación en el dominio intracelular, desencadenando las cascadas de señalización MAPK, PI3K y PLC γ (Han et al., 2016; Chao, 2003), las cuales convergen en la activación de factores de transcripción como CREB, que inducen la expresión de genes que participan en los cambios que subyacen a la plasticidad sináptica (Stern & Alberini, 2013). En este sentido, se ha observado un incremento en la fosforilación de Erk y CREB en la CI y la amígdala posterior al entrenamiento en el CAS (Swank, 2000). Asimismo, se ha demostrado que la sobreexpresión de CREB en la CI fortalece la memoria del CAS, enfatizando la importancia de este factor en la formación de esta memoria (Sano et al., 2014). Por otro lado, durante la evocación del CAS se observó una mayor activación en la subpoblación neuronal que presenta la sobreexpresión de CREB, mientras que la inhibición quimiogénica de estas neuronas impide la evocación de la memoria, mostrando la importancia de CREB en el proceso de alocación de las neuronas de la CI para la codificación de la memoria del CAS (Sano et al., 2014).

Se ha demostrado que los efectos de la NT-3 que involucran cambios estructurales de largo plazo en las terminales sinápticas de la placa neuromuscular, están mediados por la vía de señalización de Rap1-MAPK (Je et al., 2006). En relación con esto, Han y colaboradores (2016) reportaron que la NT-3 regula la organización sináptica de neuronas hipocámpales en cultivo mediante la interacción de su receptor TrkC y PTP σ , además mostraron que diferentes dosis de NT-3 activan diferentes vías de señalización a saber: 25 ng/ml activa las vías de señalización ERK y Akt, mientras que 100 ng/ml desencadena la activación de PLC γ (Han et al., 2016). De manera interesante, en la recuperación de la memoria de extinción reportada por D'Amico y colaboradores (2017), la cual tiene lugar mediante la activación de la vía ERK, se empleó una dosis de 1 μ g/ μ l, similar a la empleada en el presente estudio (D'Amico et al (2017)). En este orden de ideas, un trabajo previo de nuestro laboratorio demostró que la infusión de la neurotrofina BDNF (3 μ g/ 3 μ l) en la corteza insular favorece la retención de la memoria del CAS, activando las vías de señalización de las MAPK y PI3K (Castillo & Escobar, 2011).

El fortalecimiento del trazo de memoria del CAS generado por la administración de NT-

3, reportado en la presente investigación, abre la interrogante acerca de cuáles son las vías de señalización intracelular involucradas en este efecto, así como acerca de cuáles son las repercusiones de esta neurotrofina en la expresión de plasticidad sináptica en la vía BLA-CI.

En suma, los resultados obtenidos en el presente estudio muestran que la NT-3 es un modulador importante de la consolidación de la memoria, capaz de fortalecer el trazo de una memoria aversiva en un área neocortical. Estos hallazgos dan paso a la futura exploración del papel que ejerce esta neurotrofina en otras etapas de la memoria, así como a los mecanismos intracelulares que subyacen a sus efectos.

CONCLUSIONES

- La infusión de la NT-3 en la corteza insular adulta fortalece la memoria de aversión al sabor, transformando un CAS débil en uno fuerte.
- El fortalecimiento de la memoria del CAS inducido por la administración de la NT-3 en la corteza insular depende de la activación de sus receptores Trk.

REFERENCIAS

- Abel, T., & Lattal, K. M. (2001). Molecular mechanisms of memory acquisition, consolidation and retrieval. *Current Opinion in Neurobiology*, 11(2), 180–187. [https://doi.org/10.1016/S0959-4388\(00\)00194-X](https://doi.org/10.1016/S0959-4388(00)00194-X)
- Alonso, M., Bekinschtein, P., Cammarota, M., Vianna, M. R. M., Izquierdo, I., & Medina, J. H. (2005). Endogenous BDNF is required for long-term memory formation in the rat parietal cortex. *Learning and Memory*, 12(5), 504–510. <https://doi.org/10.1101/lm.27305>
- Ateaque, S., Merkouris, S., Wyatt, S., Allen, N. D., Xie, J., DiStefano, P. S., ... Barde, Y. A. (2022). Selective activation and down-regulation of Trk receptors by neurotrophins in human neurons co-expressing TrkB and TrkC. *Journal of Neurochemistry*, 161(6), 463–477. <https://doi.org/10.1111/jnc.15617>
- Bartkowska, K., Turlejski, K., & Djavadian, R. L. (2010). Neurotrophins and their receptors in early development of the mammalian nervous system. *Acta Neurobiologiae Experimentalis*, 70(4), 454–467.
- Bekinschtein, P., Cammarota, M., Katche, C., Slipczuk, L., Rossato, J. I., Goldin, A., Izquierdo, I., & Medina, J. H. (2008). BDNF is essential to promote persistence of long-term memory storage. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(7), 2711–2716. <https://doi.org/10.1073/pnas.0711863105>
- Bekinschtein, P., Cammarota, M., & Medina, J. H. (2014). BDNF and memory processing. *Neuropharmacology*, 76(PART C), 677–683. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2013.04.024>
- Bermúdez-Rattoni, F. (2004). Molecular mechanisms of taste-recognition memory. *Nature Reviews Neuroscience*, 5(3), 209–217. <https://doi.org/10.1038/nrn1344>
- Bermúdez-Rattoni, F., & Yamamoto, T. (1998). Neuroanatomy of CTA: lesion studies. In *Conditioned Taste Aversion* (Vol. 15, Issue 1, pp. 26–45). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780198523475.003.0003>
- Bermúdez-Rattoni, Federico. (2014). The forgotten insular cortex: Its role on recognition memory formation. *Neurobiology of Learning and Memory*, 109, 207–216. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2014.01.001>
- Bernstein, I. L., & Koh, M. T. (2007). Molecular Signaling during Taste Aversion Learning. *Chemical Senses*, 32(1), 99–103. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjj032>
- Binder, D. K. (2007). Neurotrophins in the dentate gyrus. In *Progress in Brain Research* (Vol. 163, pp. 371–397). [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(07\)63022-2](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(07)63022-2)
- Bliss, T. V. P., Collingridge, G. L., Morris, R. G. M., & Reymann, K. G. (2018). Long-term potentiation in the hippocampus: Discovery, mechanisms and function. *Neuroforum*, 24(3), A103–A120. <https://doi.org/10.1515/nf-2017-A059>
- Bohmwald, K., Andrade, C. A., Mora, V. P., Muñoz, J. T., Ramírez, R., Rojas, M. F., & Kalergis, A. M. (2022). Neurotrophin Signaling Impairment by Viral Infections in the Central Nervous System. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(10). <https://doi.org/10.3390/ijms23105817>
- Bramham, C. R., & Messaoudi, E. (2005). BDNF function in adult synaptic plasticity: The synaptic consolidation hypothesis. *Progress in Neurobiology*, 76(2), 99–125. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2005.06.003>
- Breslin, P. A. S., Spector, A. C., & Grill, H. J. (1992). A Quantitative Comparison of Taste Reactivity Behaviors to Sucrose Before and After Lithium Chloride Pairings: A Unidimensional Account of Palatability. *Behavioral Neuroscience*, 106(5), 820–836. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.106.5.820>

- Bures, J. (1998). Ethology, physiological psychology, and neurobiology of CTA. In *Conditioned Taste Aversion* (Vol. 15, Issue 1, pp. 1–13). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780198523475.003.0001>
- Butte, M. J. (2001). Neurotrophic factor structures reveal clues to evolution, binding, specificity, and receptor activation. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 58(8), 1003–1013. <https://doi.org/10.1007/PL00000915>
- Carter, M. E., Han, S., & Palmiter, R. D. (2015). Parabrachial calcitonin gene-related peptide neurons mediate conditioned taste aversion. *Journal of Neuroscience*, 35(11), 4582–4586. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3729-14.2015>
- Castillo, D. V., & Escobar, M. L. (2011). A role for MAPK and PI-3K signaling pathways in brain-derived neurotrophic factor modification of conditioned taste aversion retention. *Behavioural Brain Research*, 217(1), 248–252. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2010.10.013>
- Castillo, D. V., Figueroa-Guzmán, Y., & Escobar, M. L. (2006). Brain-derived neurotrophic factor enhances conditioned taste aversion retention. *Brain Research*, 1067(1), 250–255. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2005.10.085>
- Chang, S., & Popov, S. V. (1999). Long-range signaling within growing neurites mediated by neurotrophin-3. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96(7), 4095–4100. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.7.4095>
- Chao, M. V. (2003). Neurotrophins and their receptors: A convergence point for many signalling pathways. *Nature Reviews Neuroscience*, 4(4), 299–309. <https://doi.org/10.1038/nrn1078>
- Chen, K., Kogan, J. F., & Fontanini, A. (2021). Spatially Distributed Representation of Taste Quality in the Gustatory Insular Cortex of Behaving Mice. *Current Biology*, 31(2), 247–256.e4. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.10.014>
- Chen, J. Y., Campos, C. A., Jarvie, B. C., & Palmiter, R. D. (2018). Parabrachial CGRP Neurons Establish and Sustain Aversive Taste Memories. *Neuron*, 100(4), 891–899.e5. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.09.032>
- Cheng, W., Gordian, D., Ludwig, M. Q., Pers, T. H., Seeley, R. J., & Myers, M. G. (2022). Hindbrain circuits in the control of eating behaviour and energy balance. *Nature Metabolism*, 4(7), 826–835. <https://doi.org/10.1038/s42255-022-00606-9>
- Chiang, M. C., Bowen, A., Schier, L. A., Tupone, D., Uddin, O., & Heinricher, M. M. (2019). Parabrachial complex: A hub for pain and aversion. *Journal of Neuroscience*, 39(42), 8225–8230. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1162-19.2019>
- Cho, Y. K., Li, C. S., & Smith, D. V. (2002). Gustatory projections from the nucleus of the solitary tract to the parabrachial nuclei in the hamster. *Chemical Senses*, 27(1), 81–90. <https://doi.org/10.1093/chemse/27.1.81>
- Das, K. P., Chao, S. L., White, L. D., Haines, W. T., Harry, G. J., Tilson, H. A., & Barone, S. (2001). Differential patterns of nerve growth factor, brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 mRNA and protein levels in developing regions of rat brain. *Neuroscience*, 103(3), 739–761. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(01\)00011-2](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(01)00011-2)
- D'Amico, D., Gener, T., de Lagrán, M. M., Sanchez-Vives, M. V., Santos, M., & Dierssen, M. (2017). Infralimbic Neurotrophin-3 Infusion Rescues Fear Extinction Impairment in a Mouse Model of Pathological Fear. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 42(2), 462–472. <https://doi.org/10.1038/npp.2016.154>
- de Fátima dos Santos Sampaio, M., Santana Bastos Boechat, M., Augusto Gusman Cunha, I., Gonzaga Pereira, M., Cysne Coimbra, N., & Giraldo-Guimarães, A. (2021). Neurotrophin-3 upregulation associated with intravenous transplantation of bone marrow mononuclear cells induces axonal sprouting and motor functional recovery in

- the long term after neocortical ischaemia. *Brain Research*, 1758(January).
<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2021.147292>
- Dudai, Y. (2004). The neurobiology of consolidations, or, how stable is the engram? Annual review of Psychology, 55, 51–86.
<https://doi.org/10.1146/annurev.psych.55.090902.142050>
- Durany, N., Michel, T., Kurt, J., Cruz-Sánchez, F. F., Cervós-Navarro, J., & Riederer, P. (2000). Brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 levels in Alzheimer's disease brains. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 18(8), 807–813.
[https://doi.org/10.1016/S0736-5748\(00\)00046-0](https://doi.org/10.1016/S0736-5748(00)00046-0)
- Durany, N., Michel, T., Zöchling, R., Boissl, K. W., Cruz-Sánchez, F. F., Riederer, P., & Thome, J. (2001). Brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin 3 in schizophrenic psychoses. *Schizophrenia Research*, 52(1–2), 79–86.
[https://doi.org/10.1016/S0920-9964\(00\)00084-0](https://doi.org/10.1016/S0920-9964(00)00084-0)
- Escobar, M. L., & Bermúdez-Rattoni, F. (2000). Long-term potentiation in the insular cortex enhances conditioned taste aversion retention. *Brain Research*, 852(1), 208–212.
[https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(99\)02134-4](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(99)02134-4)
- Escobar, M. L., & Derrick, B. E. (2007). Long-Term Potentiation and Depression as Putative Mechanisms for Memory Formation. In F. Bermudez-Rattoni (Ed.), *Neural Plasticity and Memory: From Genes to Brain Imaging*. (pp. 830–830).
https://doi.org/10.1007/978-3-540-68706-1_3420
- Escobar, M. L., Figueroa-Guzmán, Y., & Gómez-Palacio-Schjetnan, A. (2003). In vivo insular cortex LTP induced by brain-derived neurotrophic factor. *Brain Research*, 991(1–2), 274–279. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2003.08.015>
- Ferreira, G., Miranda, M. I., De La Cruz, V., Rodríguez-Ortiz, C. J., & Bermúdez-Rattoni, F. (2005). Basolateral amygdala glutamatergic activation enhances taste aversion through NMDA receptor activation in the insular cortex. *European Journal of Neuroscience*, 22(10), 2596–2604. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2005.04440.x>
- Fletcher, M. L., Ogg, M. C., Lu, L., Ogg, R. J., & Boughter, J. D. (2017). Overlapping representation of primary tastes in a defined region of the gustatory cortex. *Journal of Neuroscience*, 37(32), 7595–7605. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0649-17.2017>
- Foy, M. R., & Foy, J. G. (2016). Conditioned taste aversion. *The Curated Reference Collection in Neuroscience and Biobehavioral Psychology*, December 2015, 35–41.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809324-5.02599-2>
- Fouquet, N., Oberling, P., & Sandner, G. (2001). Differential effect of free intake versus oral perfusion of sucrose in conditioned taste aversion in rats. *Physiology and Behavior*, 74(4–5), 465–474. [https://doi.org/10.1016/S0031-9384\(01\)00585-6](https://doi.org/10.1016/S0031-9384(01)00585-6)
- Friedman, W. J., Black, I. B., & Kaplan, D. R. (1998). Distribution of the neurotrophins brain-derived neurotrophic factor, neurotrophin-3, and neurotrophin-4/5 in the postnatal rat brain: An immunocytochemical study. *Neuroscience*, 84(1), 101–114.
[https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(97\)00526-5](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(97)00526-5)
- Fukumitsu, H., Furukawa, Y., Tsusaka, M., Kinukawa, H., Nitta, A., Nomoto, H., Mima, T., & Furukawa, S. (1998). Simultaneous expression of brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 in Cajal-Retzius, subplate and ventricular progenitor cells during early development stages of the rat cerebral cortex. *Neuroscience*, 84(1), 115–127.
[https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(97\)00505-8](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(97)00505-8)
- Garcia, J., & Koelling, R. A. (1966). Relation of cue to consequence in avoidance learning. *Psychonomic Science*, 4(1), 123–124. <https://doi.org/10.3758/bf03342209>
- García-Medina, N. E., Vera, G., & Miranda, M. I. (2015). Chemical stimulation or glutamate injections in the nucleus of solitary tract enhance conditioned taste aversion.

- Behavioural Brain Research, 278, 202–209. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.09.023>
- Gehrlach, D. A., Weiland, C., Gaitanos, T. N., Cho, E., Klein, A. S., Hennrich, A. A., ... Gogolla, N. (2020). A whole-brain connectivity map of mouse insular cortex. *ELife*, 9, 1–78. <https://doi.org/10.7554/ELIFE.55585>
- Gentry, J. J., Barker, P. A., & Carter, B. D. (2004). The p75 neurotrophin receptor: Multiple interactors and numerous functions. *Progress in Brain Research*, 146, 25–39. [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(03\)46002-0](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(03)46002-0)
- Gibon, J., Barker, P. A., & Séguéla, P. (2016). Opposing presynaptic roles of BDNF and ProBDNF in the regulation of persistent activity in the entorhinal cortex. *Molecular Brain*, 9(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s13041-016-0203-9>
- Gogolla, N. (2017). The insular cortex. *Current Biology*, 27(12), R580–R586. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.05.010>
- Gómez-Palacio Schjetnan, A., & Escobar Rodríguez, M. L. (2007). Codificación y retención de la memoria: el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) en la plasticidad sináptica. *Revista de Neurología*, 45(07), 409. <https://doi.org/10.33588/rn.4507.2006551>
- Gómez-Palacio Schjetnan, A., & Escobar, M. L. (2008). In vivo BDNF modulation of adult functional and morphological synaptic plasticity at hippocampal mossy fibers. *Neuroscience Letters*, 445(1), 62–67. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2008.08.069>
- Gómez-Palacio Schjetnan, A., & Escobar, M. L. (2012). In vivo BDNF modulation of hippocampal mossy fiber plasticity induced by high frequency stimulation. *Hippocampus*, 22(1), 1–8. <https://doi.org/10.1002/hipo.20866>
- Gómez-Pineda, V. G., Torres-Cruz, F. M., Vivar-Cortés, C. I., & Hernández-Echeagaray, E. (2018). Neurotrophin-3 restores synaptic plasticity in the striatum of a mouse model of Huntington's disease. *CNS Neuroscience and Therapeutics*, 24(4), 353–363. <https://doi.org/10.1111/cns.12824>
- Gonzalez, M. C., Radiske, A., & Cammarota, M. (2019). On the Involvement of BDNF Signaling in Memory Reconsolidation. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 13(August), 1–7. <https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00383>
- Gonzalez, M. C., Villar, M. E., Igaz, L. M., Viola, H., & Medina, J. H. (2015). Dorsal medial prefrontal cortex contributes to conditioned taste aversion memory consolidation and retrieval. *Neurobiology of Learning and Memory*, 126, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2015.10.007>
- Guzmán-Ramos, K., Venkataraman, A., Morin, J. P., Osorio-Gómez, D., & Bermúdez-Rattoni, F. (2018). Differential requirement of de novo Arc protein synthesis in the insular cortex and the amygdala for safe and aversive taste long-term memory formation. *Behavioural Brain Research*, 342(June 2017), 89–93. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2018.01.006>
- Hadamitzky, M., Böschke, K., Engler, A., Schedlowski, M., & Engler, H. (2015). Extinction of conditioned taste aversion is related to the aversion strength and associated with c-fos expression in the insular cortex. *Neuroscience*. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.06.040>
- Han, K. A., Woo, D., Kim, S., Choi, G., Jeon, S., Won, S. Y., ... Ko, J. (2016). Neurotrophin-3 regulates synapse development by modulating TrkC-PTP σ synaptic adhesion and intracellular signaling pathways. *Journal of Neuroscience*, 36(17), 4816–4831. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4024-15.2016>
- Hebb, D. (1949) *The organization of behavior; a neuropsychological theory*. Wiley. New York.
- Hernández-Echeagaray, E. (2020). Neurotrophin-3 modulates synaptic transmission. *Vitamins and Hormones*, 114, 71–89. <https://doi.org/10.1016/bs.vh.2020.04.008>
- Holtz, S. L., Fu, A., Loflin, W., Corson, J. A., & Erisir, A. (2015). Morphology and connectivity of parabrachial and cortical inputs to gustatory thalamus in rats. *Journal of Comparative*

- Neurology, 523(1), 139–161. <https://doi.org/10.1002/cne.23673>
- Houpt, T. A., & Berlin, R. A. (1999). Rapid, labile, and protein synthesis-independent short-term memory in conditioned taste aversion. *Learning and Memory*, 6(1), 37–46. <https://doi.org/10.1101/lm.6.1.37>
- Je, H. S., Yang, F., Zhou, J., & Lu, B. (2006). Neurotrophin 3 induces structural and functional modification of synapses through distinct molecular mechanisms. *Journal of Cell Biology*, 175(6), 1029–1042. <https://doi.org/10.1083/jcb.200603061>
- Je, H. S., Zhou, J., Yang, F., & Lu, B. (2005). Distinct mechanisms for neurotrophin-3-induced acute and long-term synaptic potentiation. *Journal of Neuroscience*, 25(50), 11719–11729. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4087-05.2005>
- Kang, H., & Schuman, E. M. (1995). Long-lasting neurotrophin-induced enhancement of synaptic transmission in the adult hippocampus. *Science*, 267(5204), 1658–1662. <https://doi.org/10.1126/science.7886457>
- Kim, H. G., Wang, T., Olafsson, P., & Lu, B. (1994). Neurotrophin 3 potentiates neuronal activity and inhibits gamma-aminobutyrate synaptic transmission in cortical neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91(25), 12341–12345. <https://doi.org/10.1073/pnas.91.25.12341>
- Lavi, K., Jacobson, G. A., Rosenblum, K., & Lüthi, A. (2018). Encoding of Conditioned Taste Aversion in Cortico-Amygdala Circuits. *Cell Reports*, 24(2), 278–283. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.06.053>
- Li, K. C., Hsiao, S., & Li, J. S. (2013). Conditioned taste aversion as instrumental punishment. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 39(3), 294–297. <https://doi.org/10.1037/a0031822>
- Lin, J. Y., Arthurs, J., & Reilly, S. (2014). Conditioned taste aversion, drugs of abuse and palatability. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 45, 28–45. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.05.001>
- Linnarsson, S., Björklund, A., & Ernfors, P. (1997). Learning deficit in BDNF mutant mice. *European Journal of Neuroscience*, 9(12), 2581–2587. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.1997.tb01687.x>
- Liu, D. B., Yang, J. S., Lu, Q. B., Zhu, Z. F., & Fang, Q. (2019). Effect of NT-3 on infection-induced memory impairment of neonatal rats. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 23(5), 2182–2187. https://doi.org/10.26355/eurrev_201903_17264
- Liu, D. W., Ma, L., Zhang, X. H., & Wang, Y. Y. (2019). Conditioned taste aversion memory extinction temporally induces insular cortical BDNF release and inhibits neuronal apoptosis. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 15, 2403–2414. <https://doi.org/10.2147/NDT.S215289>
- Livneh, Y., & Andermann, M. L. (2021). Cellular activity in insular cortex across seconds to hours: Sensations and predictions of bodily states. *Neuron*, 109(22), 3576–3593. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2021.08.036>
- Lohof, A. M., Ip, N. Y., & Poo, M. M. (1993). Potentiation of developing neuromuscular synapses by the neurotrophins NT-3 and BDNF. *Nature*, 363(6427), 350–353. <https://doi.org/10.1038/363350a0>
- Lu, B. (2003a). BDNF and activity-dependent synaptic modulation. *Learning and Memory*, 10(2), 86–98. <https://doi.org/10.1101/lm.54603>
- Lu, B. (2003b). Pro-region of neurotrophins: Role in synaptic modulation. *Neuron*, 39(5), 735–738. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(03\)00538-5](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(03)00538-5)
- Lu, B. (2004). Acute and long-term synaptic modulation by neurotrophins (pp. 135–150). [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(03\)46010-X](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(03)46010-X)
- Lu, B., Pang, P. T., & Woo, N. H. (2005). The yin and yang of neurotrophin action. *Nature Reviews Neuroscience*, 6(8), 603–614. <https://doi.org/10.1038/nrn1726>

- Ma, L., Wang, D. D., Zhang, T. Y., Yu, H., Wang, Y., Huang, S. H., Lee, F. S., & Chen, Z. Y. (2011). Region-specific involvement of BDNF secretion and synthesis in conditioned taste aversion memory formation. *Journal of Neuroscience*, 31(6), 2079–2090. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5348-10.2011>
- Ma, X., Vuyyuru, H., Munsch, T., Endres, T., Lessmann, V., & Meis, S. (2022). ProBDNF Dependence of LTD and Fear Extinction Learning in the Amygdala of Adult Mice. *Cerebral Cortex*, 32(7), 1350–1364. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhab265>
- Maisonpierre, P. C., Belluscio, L., Squinto, S., Ip, N. Y., Furth, M. E., Lindsay, R. M., & Yancopoulos, G. D. (1990). Neurotrophin-3: A neurotrophic factor related to NGF and BDNF. *Science*, 247(4949), 1446–1451. <https://doi.org/10.1126/science.2321006>
- Malenka, R. C., & Bear, M. F. (2004). Review LTP and LTD: An Embarrassment of Riches. In *Neuron* (Vol. 44).
- Marco-Salazar, P., Márquez, M., Fondevila, D., Rabanal, R. M., Torres, J. M., Pumarola, M., & Vidal, E. (2014). Mapping of neurotrophins and their receptors in the adult mouse brain and their role in the pathogenesis of a transgenic murine model of bovine spongiform Encephalopathy. *Journal of Comparative Pathology*, 150(4), 449–462. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2013.11.209>
- Martin, S. J., & Morris, R. G. M. (2002). New life in an old idea: The synaptic plasticity and memory hypothesis revisited. *Hippocampus*, 12(5), 609–636. <https://doi.org/10.1002/hipo.10107>
- Martínez-Moreno, A., Rivera-Olvera, A., & Escobar, M. L. (2020). BDNF induces in vivo long-lasting enhancement of synaptic transmission and structural reorganization at the hippocampal mossy fibers in a transcription and translation-independent manner. *Neurobiology of Learning and Memory*, 167(October 2019), 107125. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2019.107125>
- Martínez-Moreno, A., Rodríguez-Durán, L. F., & Escobar, M. L. (2011). Late Protein Synthesis-Dependent Phases in CTA Long-Term Memory: BDNF Requirement. *Frontiers in behavioral neuroscience*, 5, 61. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2011.00061>
- Martínez-Moreno, A., Rodríguez-Durán, L. F., & Escobar, M. L. (2016). Brain-derived neurotrophic factor into adult neocortex strengthens a taste aversion memory. *Behavioural Brain Research*, 297, 1–4. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.09.034>
- McAllister, A. K., Katz, L. C., & Lo, D. C. (1996). Neurotrophin regulation of cortical dendritic growth requires activity. *Neuron*, 17(6), 1057–1064. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)80239-1](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)80239-1)
- McGaugh, J. (1973) *Learning and memory: an introduction*. Albion Pub. Co. USA.
- Miranda, M. I., & Bermúdez-Rattoni, F. (1999). Reversible inactivation of the nucleus basalis magnocellularis induces disruption of cortical acetylcholine release and acquisition, but not retrieval, of aversive memories. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96(11), 6478–6482. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.11.6478>
- Miranda, M. I., Ferreira, G., Ramirez-Lugo, L., & Bermúdez-Rattoni, F. (2002). Glutamatergic activity in the amygdala signals visceral input during taste memory formation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(17), 11417–11422. <https://doi.org/10.1073/pnas.182200499>
- Miranda, M., Morici, J. F., Zanoni, M. B., & Bekinschtein, P. (2019). Brain-Derived Neurotrophic Factor: A Key Molecule for Memory in the Healthy and the Pathological Brain. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 13(August), 1–25. <https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00363>
- Miranda, I., Ramirez-lugo, L., & Bermudez-rattoni, F. (2000). Cortical cholinergic activity is related to the novelty of the stimulus, 882, 230–235.

- Miranda, M. I., Quirarte, G. L., Rodríguez-García, G., McGaugh, J. L., & Roozendaal, B. (2008). Glucocorticoids enhance taste aversion memory via actions in the insular cortex and basolateral amygdala. *Learning and Memory*, 15(7), 468–476. <https://doi.org/10.1101/lm.964708>
- Minichiello, L., Calella, A. M., Medina, D. L., Bonhoeffer, T., & Korte, M. (2002). Mechanism of TrkB-Mediated Hippocampal Long-Term Potentiation. 36, 121–137.
- Minichiello, L., Korte, M., Wolfner, D., Kühn, R., Unsicker, K., Cestari, V., Rossi-Arnaud, C., Lipp, H. P., Bonhoeffer, T., & Klein, R. (1999). Essential role for TrkB receptors in hippocampus-mediated learning. *Neuron*, 24(2), 401–414. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)80853-3](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)80853-3)
- Moguel-González, M., Gómez-Palacio-Schjetnan, A., & Escobar, M. L. (2008). BDNF reverses the CTA memory deficits produced by inhibition of protein synthesis. *Neurobiology of Learning and Memory*, 90(3), 584–587. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2008.06.003>
- Molero-Chamizo, A., & Rivera-Urbina, G. N. (2020). Taste processing: Insights from animal models. *Molecules*, 25(14), 1–13. <https://doi.org/10.3390/molecules25143112>
- Morin, J. P., Rodríguez-Nava, E., Torres-García, V. M., Contreras-Vázquez, O. A., Castellanos-Pérez, C. A., Tovar-Díaz, J., & Roldán-Roldán, G. (2021). Muscarinic receptor signaling in the amygdala is required for conditioned taste aversion. *Neuroscience Letters*, 740(November 2020), 2–9. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2020.135466>
- Mowla, S. J., Pareek, S., Farhadi, H. F., Petrecca, K., Fawcett, J. P., Seidah, N. G., Morris, S. J., Sossin, W. S., & Murphy, R. A. (1999). Differential sorting of nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor in hippocampal neurons. *Journal of Neuroscience*, 19(6), 2069–2080. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.19-06-02069.1999>
- Murray, A. J., Peace, A. G., Tucker, S. J., & Shewan, D. A. (2012). Neurotrophic Factors. In S. D. Skaper (Ed.), *Methods in Molecular Biology* (Vol. 846). Humana Press. <https://doi.org/10.1007/978-1-61779-536-7>
- Nachman, M., & Ashe, J. H. (1973). Learned taste aversions in rats as a function of dosage, concentration, and route of administration of LiCl. *Physiology and Behavior*, 10(1), 73–78. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(73\)90089-9](https://doi.org/10.1016/0031-9384(73)90089-9)
- Nagappan, G., & Lu, B. (2005). Activity-dependent modulation of the BDNF receptor TrkB: Mechanisms and implications. *Trends in Neurosciences*, 28(9), 464–471. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2005.07.003>
- Naito, Y., Lee, A. K., & Takahashi, H. (2017). Emerging roles of the neurotrophin receptor TrkC in synapse organization. *Neuroscience Research*, 116, 10–17. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2016.09.009>
- Nakai, J., Totani, Y., Hatakeyama, D., Dyakonova, V. E., & Ito, E. (2020). Another example of conditioned taste aversion: Case of snails. *Biology*, 9(12), 1–14. <https://doi.org/10.3390/biology9120422>
- Navarro, M., Spray, K. J., Cubero, I., Thiele, T. E., & Bernstein, I. L. (2000). cFos induction during conditioned taste aversion expression varies with aversion strength. *Brain Research*, 887(2), 450–453. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(00\)03032-8](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(00)03032-8)
- Opalka, A. N., & Wang, D. v. (2020). Hippocampal efferents to retrosplenial cortex and lateral septum are required for memory acquisition. *Learning & Memory* (Cold Spring Harbor, N.Y.), 27(8), 310–318. <https://doi.org/10.1101/lm.051797.120>
- Osorio-Gómez, D., Bermúdez-Rattoni, F., & Guzmán-Ramos, K. R. (2021). Cortical neurochemical signaling of gustatory stimuli and their visceral consequences during the acquisition and consolidation of taste aversion memory. *Neurobiology of Learning and Memory*, 181(March). <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2021.107437>
- Pan, Y., Zhang, J., Liu, W., Shu, P., Yin, B., Yuan, J., Quiang, B., & Peng, X. (2013). Dok5 is

- involved in the signaling pathway of neurotrophin-3 against TrkC-induced apoptosis. *Neuroscience Letters*, 553, 46–51. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2013.08.006>
- Pang, P. T., Teng, H. K., Zaitsev, E., Woo, N. T., Sakata, K., Zhen, S., Teng, K. K., Yung, W. H., Hempstead, B. L., & Lu, B. (2004). Cleavage of proBDNF by tPA/plasmin is essential for long-term hippocampal plasticity. *Science*, 306(5695), 487–491. <https://doi.org/10.1126/science.1100135>
- Panja, D., & Bramham, C. R. (2014). BDNF mechanisms in late LTP formation: A synthesis and breakdown. *Neuropharmacology*, 76(PART C), 664–676. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2013.06.024>
- Patterson, S. L., Grover, L. M., Schwartzkroin, P. A., & Bothwell, M. (1992). Neurotrophin expression in rat hippocampal slices: A stimulus paradigm inducing LTP in CA1 evokes increases in BDNF and NT-3 mRNAs. *Neuron*, 9(6), 1081–1088. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(92\)90067-N](https://doi.org/10.1016/0896-6273(92)90067-N)
- Paxinos, G., & Watson, C. (2007). *The rat brain in stereotaxic coordinates* (6th ed.). Elsevier Inc. <http://library1.nida.ac.th/termpaper6/sd/2554/19755.pdf>
- Pinar, C., Fontaine, C. J., Triviño-Paredes, J., Lottenberg, C. P., Gil-Mohapel, J., & Christie, B. R. (2017). Revisiting the flip side: Long-term depression of synaptic efficacy in the hippocampus. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 80(December 2016), 394–413. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2017.06.001>
- Pitts, A. F., & Miller, M. W. (2000). Expression of nerve growth factor, brain-derived neurotrophic factor, and neurotrophin-3 in the somatosensory cortex of the mature rat: Coexpression with high-affinity neurotrophin receptors. *Journal of Comparative Neurology*, 418(3), 241–254. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9861\(20000313\)418:3<241::AID-CNE1>3.0.CO;2-M](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9861(20000313)418:3<241::AID-CNE1>3.0.CO;2-M)
- Pozzo-Miller, L. D., Gottschalk, W., Zhang, L., McDermott, K., Du, J., Gopalakrishnan, R., Oho, C., Sheng, Z. H., & Lu, B. (1999). Impairments in high-frequency transmission, synaptic vesicle docking, and synaptic protein distribution in the hippocampus of BDNF knockout mice. *Journal of Neuroscience*, 19(12), 4972–4983. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.19-12-04972.1999>
- Radiske, A., Rossato, J. I., Gonzalez, M. C., Köhler, C. A., Bevilacqua, L. R., & Cammarota, M. (2017). BDNF controls object recognition memory reconsolidation. *Neurobiology of Learning and Memory*, 142, 79–84. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2017.02.018>
- Ramos-Languren, L. E., & Escobar, M. L. (2013). Plasticity and metaplasticity of adult rat hippocampal mossy fibers induced by neurotrophin-3. *European Journal of Neuroscience*, 37(8), 1248–1259. <https://doi.org/10.1111/ejn.12141>
- Rivera-Olvera, A., Nelson-Mora, J., Gonsebatt, M. E., & Escobar, M. L. (2018). Extinction of aversive taste memory homeostatically prevents the maintenance of in vivo insular cortex LTP: Calcineurin participation. *Neurobiology of Learning and Memory*, 154(February), 54–61. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2018.04.005>
- Rivera-Olvera, A., Rodríguez-Durán, L. F., & Escobar, M. L. (2016). Conditioned taste aversion prevents the long-lasting BDNF-induced enhancement of synaptic transmission in the insular cortex: A metaplastic effect. *Neurobiology of Learning and Memory*, 130, 71–76. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2016.01.014>
- Robertson, R. T., Baratta, J., Yu, J., & Guthrie, K. M. (2006). A role for neurotrophin-3 in targeting developing cholinergic axon projections to cerebral cortex. *Neuroscience*, 143(2), 523–539. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.09.003>
- Rodríguez-Durán, L. F., Martínez-Moreno, A., & Escobar, M. L. (2017). Bidirectional modulation of taste aversion extinction by insular cortex LTP and LTD. *Neurobiology of Learning and Memory*, 142, 85–90. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2016.12.014>
- Rodríguez-Serrano, L. M., Ramírez-León, B., Rodríguez-Durán, L. F., & Escobar, M. L. (2014). Acute infusion of brain-derived neurotrophic factor in the insular cortex

- promotes conditioned taste aversion extinction. *Neurobiology of Learning and Memory*, 116, 139–144. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2014.10.007>
- Sano, Y., Shobe, J. L., Zhou, M., Huang, S., Shuman, T., Cai, D. J., ... Silva, A. J. (2014). CREB regulates memory allocation in the insular cortex. *Current Biology*, 24(23), 2833–2837. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.10.018>
- Sartor, G. C., Malvezzi, A. M., Kumar, A., Andrade, N. S., Wiedner, H. J., Vilca, S. J., ... Wahlestedt, C. (2019). Enhancement of BDNF expression and memory by HDAC inhibition requires BET bromodomain reader proteins. *Journal of Neuroscience*, 39(4), 612–626. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1604-18.2018>
- Schier, L. A., & Spector, A. C. (2019). The Functional and Neurobiological Properties of Bad Taste. *Physiological Reviews*, 99(1), 605–663. <https://doi.org/10.1152/physrev.00044.2017>
- Shimazu, K., Zhao, M., Sakata, K., Akbarian, S., Bates, B., Jaenisch, R., & Lu, B. (2006). NT-3 facilitates hippocampal plasticity and learning and memory by regulating neurogenesis. *Learning and Memory*, 13(3), 307–315. <https://doi.org/10.1101/lm.76006>
- Schinder, A. F., & Poo, M. (2000). The neurotrophin hypothesis for synaptic plasticity. *Trends in Neurosciences*, 23(12), 639–645. [https://doi.org/10.1016/S0166-2236\(00\)01672-6](https://doi.org/10.1016/S0166-2236(00)01672-6)
- Seidah, N. G., Benjannet, S., Pareek, S., Chrétien, M., & Murphy, R. A. (1996). Cellular processing of the neurotrophin precursors of NT3 and BDNF by the mammalian proprotein convertases. *FEBS Letters*, 379(3), 247–250. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(95\)01520-5](https://doi.org/10.1016/0014-5793(95)01520-5)
- Shinoda, Y., Sadakata, T., Yagishita, K., Kinameri, E., Katoh-Semba, R., Sano, Y., & Furuichi, T. (2019). Aspects of excitatory/inhibitory synapses in multiple brain regions are correlated with levels of brain-derived neurotrophic factor/neurotrophin-3. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 509(2), 429–434. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.12.100>
- Squire, L. R. (2004). Memory systems of the brain: A brief history and current perspective. *Neurobiology of Learning and Memory*, 82(3), 171–177. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2004.06.005>
- St. Andre, J., Albanos, K., & Reilly, S. (2007). C-fos expression in the rat brain following lithium chloride-induced illness. *Brain Research*, 1135(1), 122–128. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2006.12.010>
- Staszko, S. M., & Boughter, J. D. (2020). Taste Pathways, Representation and Processing in the Brain. *The Senses: A Comprehensive Reference*, 3, 280–297. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-809324-5.23891-1>
- Stehberg, J., & Simon, F. (2011). Involvement of the insular cortex in retention of conditioned taste aversion is not time dependent. *Neurobiology of Learning and Memory*, 95(1), 14–18. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2010.10.002>
- Stern, S. A., & Alberini, C. M. (2013). Mechanisms of memory enhancement. *Wiley interdisciplinary reviews. Systems biology and medicine*, 5(1), 37–53. <https://doi.org/10.1002/wsbm.1196>
- Swank, M. W. (2000). Phosphorylation of MAP kinase and CREB in mouse cortex and amygdala during taste aversion learning, 11(8), 1625–1630.
- Tokuyama, W., Okuno, H., Hashimoto, T., Xin Li, Y., & Miyashita, Y. (2000). BDNF upregulation during declarative memory formation in monkey inferior temporal cortex. *Nature Neuroscience*, 3(11), 1134–1142. <https://doi.org/10.1038/80655>
- Tonegawa, S., Pignatelli, M., Roy, D. S., & Ryan, T. J. (2015). Memory engram storage and retrieval. *Current Opinion in Neurobiology*, 35, 101–109. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2015.07.009>
- Toyoda, H. (2020). CB1 cannabinoid receptor-mediated plasticity of GABAergic synapses in

- the mouse insular cortex. *Scientific Reports*, 10(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-64236-5>
- Vigers, A. J., Baquet, Z. C., & Jones, K. R. (2000). Expression of neurotrophin-3 in the mouse forebrain: Insights from a targeted lacZ reporter. *Journal of Comparative Neurology*, 416(3), 398–415. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9861\(20000117\)416:3<398::AID-CNE10>3.0.CO;2-P](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9861(20000117)416:3<398::AID-CNE10>3.0.CO;2-P)
- Wang, T., Xie, K., & Lu, B. (1995). Neurotrophins promote maturation of developing neuromuscular synapses. *Journal of Neuroscience*, 15(7), 4796–4805. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.15-07-04796.1995>
- Welzl, H., D'Adamo, P., & Lipp, H.-P. (2001). Conditioned taste aversion as a learning and memory paradigm. *Behavioural Brain Research*, 125(1–2), 205–213. [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(01\)00302-3](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(01)00302-3)
- Wu, C. H., Ramos, R., Katz, D. B., & Turrigiano, G. G. (2021). Homeostatic synaptic scaling establishes the specificity of an associative memory. *Current Biology*, 31(11), 2274–2285.e5. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2021.03.024>
- Wu, Y., Chen, C., Chen, M., Qian, K., Lv, X., Wang, H., ... Qiu, S. (2020). The anterior insular cortex unilaterally controls feeding in response to aversive visceral stimuli in mice. *Nature Communications*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-020-14281-5>
- Yamada, K., Mizuno, M., & Nabeshima, T. (2002). Role for brain-derived neurotrophic factor in learning and memory. *Life Sciences*, 70(7), 735–744. [https://doi.org/10.1016/S0024-3205\(01\)01461-8](https://doi.org/10.1016/S0024-3205(01)01461-8)
- Yamamoto, T., Shimura, T., Sako, N., Yasoshima, Y., & Sakai, N. (1994). Neural substrates for conditioned taste aversion in the rat. *Behavioural Brain Research*, 65(2), 123–137. [https://doi.org/10.1016/0166-4328\(94\)90097-3](https://doi.org/10.1016/0166-4328(94)90097-3)
- Yan, Z., Shi, X., Wang, H., Si, C., Liu, Q., & Du, Y. (2021). Neurotrophin-3 Promotes the Neuronal Differentiation of BMSCs and Improves Cognitive Function in a Rat Model of Alzheimer's Disease, 15(February), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fncel.2021.629356>
- Yang, F., He, X. P., Feng, L., Mizuno, K., Liu, X. W., Russell, J., Xiong, W. C., & Lu, B. (2001). PI-3kinase and IP3 are both necessary and sufficient to mediate NT3-induced synaptic potentiation. *Nature Neuroscience*, 4(1), 19–28. <https://doi.org/10.1038/82858>
- Yang, J., Harte-Hargrove, L. C., Siao, C. J., Marinic, T., Clarke, R., Ma, Q., Jing, D., LaFrancois, J. J., Bath, K. G., Mark, W., Ballon, D., Lee, F. S., Scharfman, H. E., & Hempstead, B. L. (2014). ProBDNF Negatively Regulates Neuronal Remodeling, Synaptic Transmission, and Synaptic Plasticity in Hippocampus. *Cell Reports*, 7(3), 796–806. <https://doi.org/10>
- Yiannakas, A., & Rosenblum, K. (2017). The insula and taste learning. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 10(November), 1–24. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00335>

ANEXO

Reporta los resultados de la exploración efectuada de manera paralela al proyecto principal, acerca del establecimiento de las modalidades de CAS débil y fuerte en ratas hembra de la cepa Wistar.

CAS DÉBIL Y FUERTE EN RATAS HEMBRA DE LA CEPA WISTAR

De manera paralela al proyecto principal, se exploró la posibilidad de establecer las modalidades de CAS débil y fuerte (LiCl 0.1 y 0.2 M, respectivamente) en ratas hembra de la cepa Wistar. Los resultados de esta exploración muestran que es posible establecer ambas modalidades del condicionamiento en ratas hembra, obteniendo niveles de aversión similares a los mostrados por machos. Se aplicó una prueba estadística de ANOVA de dos vías, considerando como factores el sexo (machos y hembras) y la sesión (adquisición y prueba de aversión) en ambos casos. Estas observaciones concuerdan con lo reportado por otros grupos de investigación en la cepa de ratas Long-Evans (Wu et al., 2021), y permitirán el empleo de ratas de ambos sexos en futuras investigaciones que involucren protocolos como los empleados en el presente estudio.

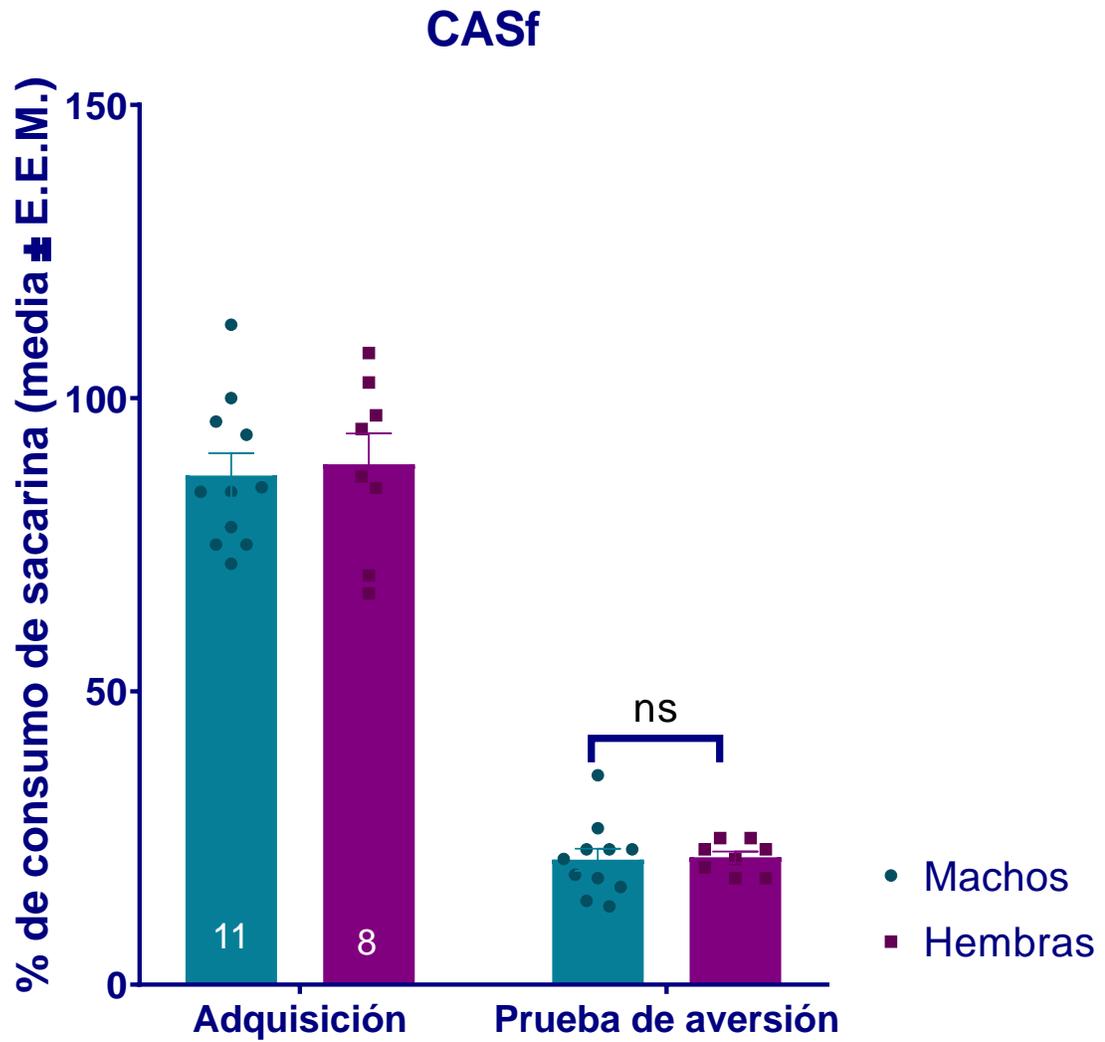


Figura 16. Porcentaje de consumo de sacarina respecto a la adquisición de un CAS fuerte. La gráfica muestra el porcentaje de consumo de sacarina respecto a la adquisición (media \pm E.E.M.). Ratas Wistar hembra y macho fueron entrenadas en la modalidad CAS fuerte (0.2 M), mostrando consumos similares durante la prueba de aversión ($p > 0.05$).

CASd

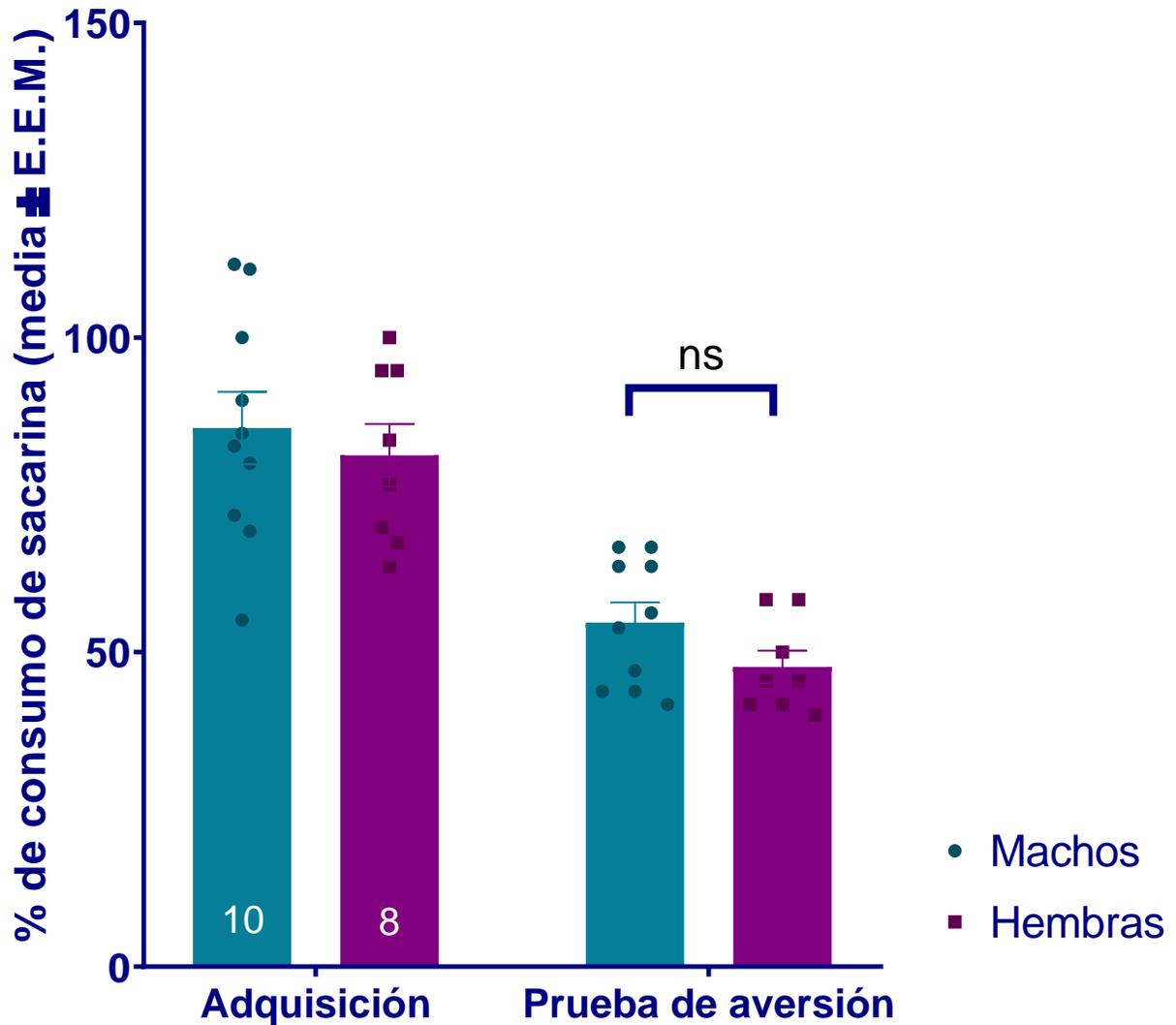


Figura 17. Porcentaje de consumo de sacarina respecto a la adquisición de un CAS débil. La gráfica muestra el porcentaje de consumo de sacarina respecto a la adquisición (media \pm E.E.M.). Ratas Wistar hembra y macho fueron entrenadas en la modalidad CAS débil (0.1 M), mostrando consumos similares durante la prueba de aversión ($p > 0.05$).