



---

---

**Universidad Nacional Autónoma De México**

**Facultad de Psicología**

**División de Estudios Profesionales**

El establecimiento del condicionamiento de aversión al  
lugar inducido por malestar gástrico requiere la  
participación del hipocampo dorsal

**T E S I S**

Que para obtener el título de:

**Licenciada en Psicología**

P R E S E N T A

**Karla Gabriela Medina Medina**

Director: **Dr. Daniel Osorio Gómez**

Revisor: **Dr. Hugo Sánchez Castillo**





Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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

## ÍNDICE

I. <b>Resumen</b> .....	1
II. <b>Introducción</b> .....	2
III. <b>Antecedentes</b> .....	5
3. 1. Aprendizaje y memoria.....	5
3. 1. 1. Neuroanatomía del aprendizaje y la memoria.....	6
3. 1. 2. Importancia del lóbulo temporal en la consolidación de la memoria explícita.....	9
3. 2. La quimioterapia promueve la inducción de un condicionamiento asociativo contextual.....	12
3. 2. 1. Asociación entre el contexto y señales interoceptivas.....	13
3. 3. Hipocampo.....	15
3. 3. 1. Participación del hipocampo en el procesamiento de la información espacial.....	16
3. 3. 2. División funcional del hipocampo.....	18
3. 3. 3. Hipocampo dorsal y condicionamiento de aversión al lugar.....	21
IV. <b>Justificación</b> .....	22
V. <b>Objetivos</b> .....	23
5. 1. <i>Objetivo general</i> .....	23
5. 2. <i>Objetivos específicos:</i> .....	23
VI. <b>Hipótesis</b> .....	24
VII. <b>Metodología</b> .....	25
7. 1. Animales .....	25
7. 2. Aparato .....	25
7. 3. Experimento 1.....	26
7. 3. 1. Inducción de CPA y establecimiento del tiempo de confinamiento.....	26
7. 3. 2. Inducción de CPA utilizando diferentes estímulos incondicionados.....	27
7. 4. Experimento 2.....	28
7. 4. 1. Implantación de cánulas.....	28
7. 4. 2. Inactivación temporal del hipocampo dorsal durante el establecimiento del CPA.....	29
7. 4. 3. Efecto de la administración de AP5 sobre el establecimiento del CPA.....	30
7. 4. 4. Extracción de cerebros.....	31
7. 5. Análisis estadístico.....	32
VIII. <b>Resultados</b> .....	34
8. 1. El establecimiento de un CPA inducido por LiCl requiere de un confinamiento de 20 minutos.....	34

8. 2. La inducción del CPA es dependiente de la información emética proveniente del LiCl y no del dolor abdominal .....	37
8. 3. La inactivación temporal del hipocampo dorsal impide la inducción del CPA..	40
8. 4. El bloqueo de los receptores NMDA del hipocampo dorsal antes del condicionamiento no afecta el establecimiento del CPA.....	42
8. 5. El bloqueo de los receptores NMDA del hipocampo dorsal después del condicionamiento impide la consolidación del CPA .....	45
<b>IX. Discusión</b> .....	48
9. 1. La inducción del CPA es posible bajo condiciones temporales específicas de confinamiento .....	48
9. 2. La inducción del CPA requiere de la información emética proveniente del LiCl .....	50
9. 3. El hipocampo dorsal participa en el establecimiento del CPA .....	52
9. 4. El hipocampo dorsal participa en la consolidación del CPA mediante la activación de receptores tipo NMDA .....	54
<b>X. Conclusiones</b> .....	56
<b>XI. Referencias</b> .....	58

Este trabajo fue realizado en el laboratorio de Neurobiología del Aprendizaje y la Memoria a cargo del Dr. Federico Bermúdez Rattoni, en el Instituto de Fisiología Celular (IFC) de la Universidad Nacional Autónoma de México, con apoyo económico del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación tecnológica DGAPA-PAPIIT (IA 201420 e IA 202922).

Agradezco a la M. V. Z. Claudia V. Rivera Cerecedo, responsable de la Unidad de Bioterio del Instituto de Fisiología Celular, por su apoyo en el alojamiento y cuidado de los animales utilizados en este proyecto, así como por sus enseñanzas en el trato digno de dichos animales.

## AGRADECIMIENTOS

A mi universidad, por haberme permitido formarme en ella, por enriquecerme con su conocimiento y por haberme regalado los mejores años de mi vida.

A mi revisor, el Dr. Hugo Sánchez Castillo, y a mis sinodales, el Dr. Oscar Zamora Arévalo, el Dr. César Casasola Castro y la Dra. Laura Elisa Ramos Languren por sus valiosos comentarios, sin los cuales, la terminación de este trabajo no habría sido posible.

Al Dr. Federico Bermúdez Rattoni por otorgar las facilidades para trabajar dentro de su laboratorio y por retroalimentar el desarrollo de este proyecto.

Al Dr. Daniel Osorio, por aceptarme dentro de su equipo de trabajo y por reconocer en mí un potencial del cual no era consciente. Gracias por sembrar dentro de cada uno de los que trabajan contigo el amor por la ciencia y por enseñarnos a ver el mundo desde una perspectiva crítica y objetiva.

Al M. en C. Arturo Hernández Matias, quien no solo ha sido mi más grande apoyo dentro del laboratorio, sino que se convirtió en mi mentor y mi amigo más querido. Gracias por todas tus enseñanzas y tu infinita paciencia. Jamás me alcanzará el tiempo para devolver todo lo que has hecho por mí.

A mis amigos Lesly, Brenda y José por permitir que los días de extenuante trabajo fueran placenteros y llenos de risas.

A mi tía Martha y mi abuela María por su apoyo incondicional en cada etapa de mi vida.

A mi hermana Alejandra, por siempre tener curiosidad en torno al desarrollo de mis proyectos y por hacerme compañía en las noches de desvelo.

A mi madre, gracias por ser la columna que no se quiebra ante la tempestad. Gracias por adoptar los papeles de maestra, confidente y amiga en los momentos más críticos y estresantes de mi vida. Por siempre has sido el faro de luz que me inspira y que me ha impulsado a perseguir mis sueños. Sin tu ayuda, no habría llegado a este punto del camino. Con toda mi admiración, te dedico este logro como una meta más conquistada. Te amo, mamá.

## I. Resumen

Una consecuencia comúnmente reportada en pacientes con cáncer es el desarrollo de náusea y vómito anticipatorios hacia los lugares, sabores u olores que estuvieron asociados a un tratamiento de quimioterapia. Aunque la investigación en torno a los mecanismos fisiológicos responsables de la náusea anticipatoria es amplia, la neurobiología detrás de este fenómeno continúa en proceso de ser descrita. De acuerdo con la OMS, la náusea anticipatoria puede explicarse desde el paradigma del condicionamiento clásico en el que un entorno es asociado con una señal de malestar gástrico para generar un condicionamiento de aversión al lugar (CPA). Dada la relevancia de las claves contextuales en la formación del CPA, se sugiere que una de las posibles estructuras partícipes en su establecimiento es la porción dorsal del hipocampo (HD), la cual ha sido relacionada con el aprendizaje contextual. Además, debido a que los receptores glutamatérgicos están ampliamente involucrados en la formación de memorias asociativas, la actividad glutamatérgica también podría participar en el establecimiento de este paradigma. Por lo anterior, el presente trabajo evaluó tanto la participación del HD como el papel funcional de los receptores glutamatérgicos NMDA del HD en el establecimiento de un CPA inducido por malestar gástrico. Para ello, se entrenaron a ratas de la cepa Wistar en un protocolo de CPA en el que los animales recibieron una inyección intraperitoneal de LiCl antes de ser confinados dentro de un contexto específico. Posteriormente, se evaluó si la integridad funcional del HD es necesaria para el establecimiento del CPA, para ello se inactivó dicha estructura mediante la administración intracraneal de una mezcla de muscimol y baclofen antes del condicionamiento. Los resultados muestran que la inactivación del HD impide el establecimiento del CPA. Por último, se determinó la participación de los receptores NMDA del HD en el CPA a través de la infusión de un antagonista selectivo (AP5) antes y después del condicionamiento. Los resultados muestran que sólo el bloqueo de los receptores NMDA después de la asociación entre el contexto y la señal de malestar gástrico impide el establecimiento del CPA. En conjunto, estos resultados demuestran que el HD participa en la consolidación de una memoria aversiva inducida por agentes eméticos como el LiCl a través de la activación de los receptores NMDA. Debido a su semejanza con la náusea anticipatoria observada dentro del ámbito clínico, los datos obtenidos podrían contribuir en la comprensión de los mecanismos neurales responsables del desarrollo de esta respuesta.

## **II. Introducción**

Con la llegada del siglo XXI, la sociedad ha experimentado numerosas ventajas derivadas del auge en el desarrollo científico y tecnológico. Algunos ejemplos de esto son la disponibilidad de los servicios públicos, el acceso a la información de manera remota y mejoras en el área de la salud. A pesar de estos avances, en años recientes se ha observado una tendencia al incremento en la incidencia de ciertas enfermedades; entre ellas, el cáncer representa una de las principales preocupaciones dentro del sector salud debido al acelerado ascenso en la aparición de casos nuevos en la población mundial. Al respecto, la Organización Mundial de la Salud (2020) reportó que la enfermedad del cáncer constituye una de las primeras cinco causas de muerte al generar cerca de 10 millones de decesos anuales alrededor del mundo. Tan solo en México, el Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI) reportó que de las 1,086,743 defunciones registradas durante el 2020, el 8% fueron generadas por tumores malignos (90,603 casos). Asimismo, se ha estimado que la cifra de pacientes con cáncer aumentará a 21.2 millones en los próximos 10 años, mientras que las defunciones alcanzarán valores cercanos a los 15 millones de manera anual a nivel mundial (OMS, 2020).

Debido a que la enfermedad del cáncer representa un serio problema para la salud pública, en la actualidad se ha desarrollado una amplia gama de tratamientos que buscan disminuir o erradicar el crecimiento tumoral. Dentro de los tratamientos propuestos, la quimioterapia es la modalidad terapéutica utilizada con mayor frecuencia debido a su efectividad para prolongar la esperanza de vida y reducir la progresión de la enfermedad (Fu et al., 2018). Pese a su eficacia, se ha reportado que los fármacos o agentes quimioterapéuticos producen efectos secundarios poco deseables, entre los que destacan la disminución de la capacidad



inmunológica frente a otras enfermedades, caída de cabello, fatiga, pérdida de apetito, cambios en el color de piel, déficit cognitivo, diarrea, vómito, entre otros (Rodríguez, 2013). Dentro de los efectos secundarios producidos por la quimioterapia, la náusea constituye uno de los principales problemas en la adherencia al tratamiento pues entre el 60 y 70% de los pacientes refieren este síntoma después de haber sido sometidos a fuertes agentes emetogénicos (Adel, 2017). Asimismo, dentro de las diferentes variantes de náusea inducida por tratamiento oncológico, entre el 5% y 25% de los pacientes refieren haber experimentado *náusea anticipatoria*, es decir, la sensación de vómito cuando fueron expuestos a señales (sabores, olores, lugares u objetos) relacionadas con la administración del fármaco (Chan et al, 2015; Klosterhalfen et al., 2005). De acuerdo con el Instituto Nacional del Cáncer (2022), el desarrollo de esta respuesta se explica típicamente desde el paradigma del condicionamiento clásico, aunque su etiología también incluye factores demográficos y psicológicos propios de los pacientes y aspectos clínicos asociados a la toxicidad del tratamiento (Kamen et al., 2014).

El condicionamiento clásico es un modelo que ha sido ampliamente utilizado en ciencia para entender el aprendizaje asociativo. En dicho paradigma, un organismo aprende a asociar un estímulo inicialmente neutro (posteriormente denominado estímulo condicionado o EC) y un estímulo biológicamente relevante (estímulo incondicionado o EI); de tal manera que, al encontrarse nuevamente con el EC, este estímulo es capaz de evocar una respuesta condicionada (RC), la cual es similar a la respuesta generada por el EI (Stockhorst, Enck y Klosterhalfen, 2007). Debido a que la náusea anticipatoria se produce a través de un condicionamiento asociativo, en el que se asume que el contexto adquiere propiedades aversivas después de asociar la náusea producida por un agente quimioterapéutico con los

olores, imágenes o sonidos de la habitación en la que se aplicó la quimioterapia (Kamen et al., 2014; Van Hedger et al., 2018), en la actualidad se han establecido protocolos de aversión al contexto que simulan las condiciones bajo las que se establece la náusea (Bishnoi, Kavaliers y Ossenkopp, 2023; Cloutier et al., 2018; Doobay et al., 2021), esto con el fin de desarrollar estrategias capaces de disminuir dichos efectos y promover la adherencia al tratamiento por medio de la modulación de los procesos de aprendizaje (Symonds y Hall, 2000). Pese a que se han realizado numerosos trabajos en los que se describen los procesos fisiológicos asociados al desarrollo de la náusea anticipatoria, los trabajos que relacionan la participación de estructuras del sistema nervioso central con noción mnémica en el establecimiento de dicho aprendizaje son escasos. Por lo anterior, para conseguir un panorama más amplio en torno a los mecanismos neuronales asociados al establecimiento de la aversión al lugar, el presente trabajo aborda la participación del hipocampo, una estructura cerebral ampliamente relacionada con la memoria y el aprendizaje espacial, durante una tarea de condicionamiento de aversión al contexto.

### III. Antecedentes

#### 3. 1. Aprendizaje y memoria

Uno de los principales problemas que enfrentan los organismos a lo largo de su vida es que el entorno en el que se encuentran cambia constantemente. En el caso particular de los animales, la ubicación de fuentes de alimento, refugio, parejas potenciales y depredadores puede variar como consecuencia de una amplia gama de factores (p. ej. temporada, cambios en la temperatura, etc.) por lo que, para aumentar la probabilidad de sobrevivencia, resulta imperante que los organismos modifiquen su comportamiento y respondan adecuadamente a los retos ambientales a los cuales se encuentran expuestos (Nairne et al., 2012). Al respecto, se ha propuesto que el aprendizaje y la memoria son los mecanismos empleados para realizar las modificaciones conductuales necesarias (Van Damme et al., 2020), ya que la capacidad de adquirir, preservar y recuperar información del ambiente permite realizar un seguimiento de cualquier evento ambiental y modificar el comportamiento cuando sea requerido (Maren, 2008; Nairne et al., 2012).

Así pues, el aprendizaje es definido como el proceso por el cual los organismos recopilan información del ambiente para modificar su comportamiento (Ortega-de San Luis y Ryan, 2022). Gracias a la investigación relacionada a este tema, se ha descrito que existen al menos dos formas básicas de aprendizaje: asociativo y no asociativo. El *aprendizaje no asociativo* resulta de la experiencia con un solo tipo de estímulo; son ejemplos de este tipo de aprendizaje la habituación (decremento en la respuesta debido a la estimulación constante) y la sensibilización (incremento de la respuesta después de una estimulación intensa) (Brem et al., 2013; Van Damme et al., 2021) Por otro lado, el *aprendizaje asociativo* deriva de la conjunción entre dos o más estímulos (condicionamiento clásico) o de la asociación entre

estímulos, la emisión de una conducta y sus consecuencias (condicionamiento instrumental) (Fioravante, Antzoulatos y Byrne, 2009).

Ahora bien, la memoria refiere el proceso por el cual el conocimiento adquirido durante el aprendizaje es codificado, almacenado y posteriormente recuperado (Kandel, Dudai y Mayord., 2014). Ya que la memoria constituye un fenómeno complejo, se han generado diferentes clasificaciones en función de la duración y el tipo de información que se almacena. En cuanto al tipo de información, la memoria ha sido categorizada en declarativa y no declarativa; la *memoria declarativa* o *explícita* involucra el almacenamiento de material relacionado a características de los eventos como el “¿qué?”, el “¿dónde?” y el “¿cuándo?” (Sugar y Moser, 2019) e incluye la memoria semántica, episódica, espacial y de reconocimiento. En contraparte, la *memoria no declarativa* o *implícita* implica el aprendizaje de habilidades e incluye el aprendizaje perceptivo y motor (Reber, 2008). En lo que refiere a la temporalidad, la memoria puede ser dividida en tres tipos; el primero de éstos, es decir, la *memoria inmediata*, define la capacidad de los organismos para retener experiencias sensoriales durante fracciones de segundo; el segundo tipo, la *memoria de corto plazo* (MCP), hace referencia a la capacidad de retener la información durante un periodo de tiempo que va de los segundos a los minutos; la tercera categoría temporal es la *memoria a largo plazo* (MLP), la cual implica la retención de información en una forma más permanente de almacenamiento que va desde los días hasta años de vida (Kandel, Dudai y Mayford., 2014).

### **3. 1. 1. Neuroanatomía del aprendizaje y la memoria**

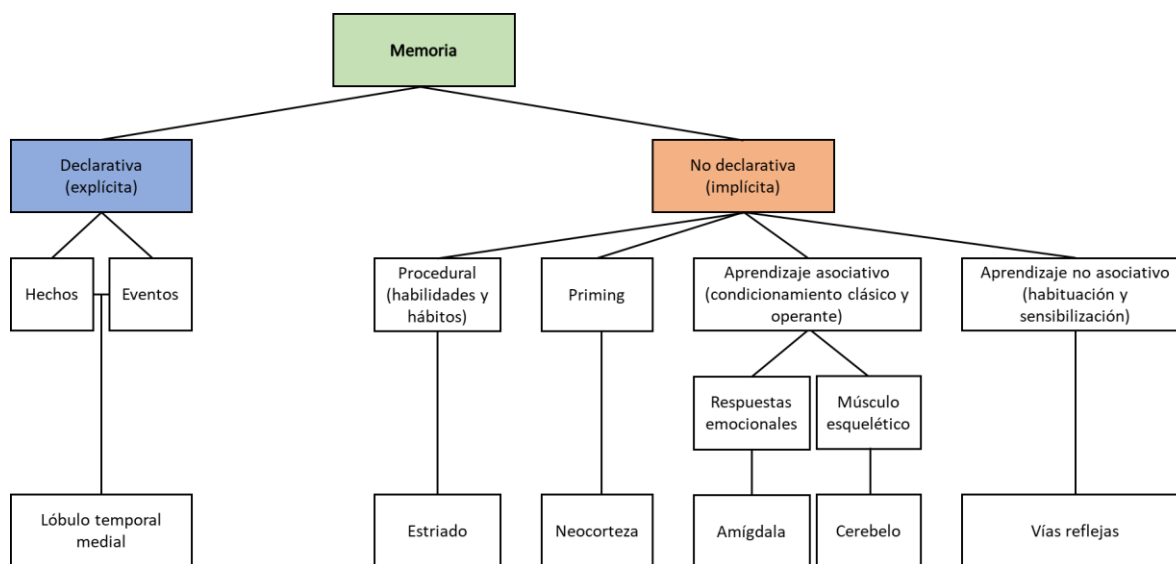
Al igual que otras funciones cognitivas, el aprendizaje y la memoria se originan en el sistema nervioso a través del funcionamiento de diferentes estructuras y el antecedente más importante que retrata este fenómeno se produjo durante la década de los 50's gracias al

trabajo reportado por Scoville y Milner (Scoville y Milner, 1957; Squire y Zola-Morgan, 2015). Mediante el estudio de caso del paciente Henry Molaison (H. M.) a quien se le practicó una intervención quirúrgica en el lóbulo temporal medial como tentativa para tratar sus severos síntomas de epilepsia, Scoville y Milner describieron que la cirugía había producido un grave deterioro en la memoria de H. M. pues, además de ser incapaz de formar nuevos recuerdos (amnesia anterógrada), se hizo evidente que H. M. presentaba algunos problemas de orientación espacial entre los que se encontraba la imposibilidad de recordar las posiciones de los objetos o aprender el camino de regreso a su nueva casa (Takahashi, 2018). En otra serie de evaluaciones realizadas en pacientes que habían sido sometidos a lobotomías temporales también se observaron afectaciones que dependían en mayor medida de la gravedad de la lesión (Shrager et al., 2007). En principio, los hallazgos descritos en humanos dieron indicios de que las lesiones bilaterales del lóbulo temporal medial afectaban por igual a todas las formas de memoria; sin embargo, la amnesia observada en la mayoría de los casos para eventos ocurridos después de las cirugías y la conservación en el aprendizaje motor llevó a los investigadores a concluir que las estructuras ubicadas en el lóbulo temporal, como el hipocampo, participan principalmente en la integración de la memoria declarativa (Colgin, 2020).

La idea sobre la participación del lóbulo temporal en la formación de la memoria declarativa fue reforzada más tarde por los experimentos realizados en animales. Ya que las lesiones en esta región son poco comunes en humanos, Mishkin y Squire se dieron a la tarea de replicar experimentalmente las afectaciones observadas en H. M. en el encéfalo de monos (Kandel, 2001a). Gracias a estas manipulaciones dilucidaron que la formación del hipocampo se encarga de la representación espacial y de la conversión de la memoria de corto a largo plazo,

mientras que el núcleo amigdalino almacena componentes de la memoria relacionados con la emoción (Takahashi, 2018).

Sin duda, los hallazgos derivados del estudio con H. M. permitieron generar una nueva clasificación en torno a los procesos de aprendizaje y memoria (Kandel, Dubai y Mayford, 2014). Debido a ello y, con ayuda de los resultados obtenidos en experimentos de condicionamiento al miedo y condicionamiento del reflejo de párpado (Camina y Güell, 2017), actualmente se reconoce que las formas de conocimiento explícito e implícito dependen de diferentes estructuras. Como se muestra en la figura 1, mientras que las regiones del lóbulo temporal medial están involucradas en el almacenamiento de recuerdos sobre hechos y eventos, las regiones asociadas a conductas motoras como el cuerpo estriado, el cerebelo y la neocorteza se relacionan con el aprendizaje y evocación de habilidades y hábitos (Kandel, 2001a; Squire, 2004).



**Figura 1.** Clasificación de la memoria y estructuras cerebrales relacionadas. El diagrama muestra la clasificación de la memoria propuesta por Squire y las estructuras cerebrales asociadas a cada proceso (Modificado de Kandel, 2001a).

### ***3. 1. 2. Importancia del lóbulo temporal en la consolidación de la memoria explícita***

Como se mencionó anteriormente, los hallazgos en animales humanos y no humanos demuestran que el lóbulo temporal juega un papel importante en el procesamiento del conocimiento explícito. Particularmente, en lo que refiere a las diferentes etapas de almacenamiento de información, se ha propuesto que el hipocampo juega un papel importante en la consolidación de la memoria, es decir, en el traslado de la información reciente hacia una forma más permanente de almacenamiento (Kandel, Dudai y Mayord, 2014).

La idea sobre la conversión de la memoria de corto a la memoria de largo plazo no es nueva; sin embargo, la comprensión de los procesos biológicos que la subyacen ha atravesado por un largo y desafiante trayecto (Dudai, Karni y Born, 2015). En primer lugar, se llegó al consenso de que los procesos de aprendizaje y memoria se almacenan por fases. Primero ocurre la adquisición (codificar la información sensorial del entorno), después la consolidación y, finalmente, la evocación (recordar la información previamente experimentada o aprendida) (Kandel, 2001a; Ortega-de San Luis y Ryan, 2022). Particularmente, la consolidación es definida como el proceso por el cual la memoria a corto plazo es convertida a memoria de largo plazo (Kandel, Dudai y Mayford., 2014) y ha sido descrita en dos niveles de análisis (Dudai y Morris, 2000, Ortega-de San Luis y Ryan, 2022). Por un lado, la consolidación a nivel sináptico o celular hace referencia a los procesos de transformación de la información en las sinapsis locales y nodos celulares del circuito que codifica para la memoria; por otro lado, la consolidación a nivel de sistemas refiere la reorganización de la información a través de diferentes circuitos cerebrales, la cual puede

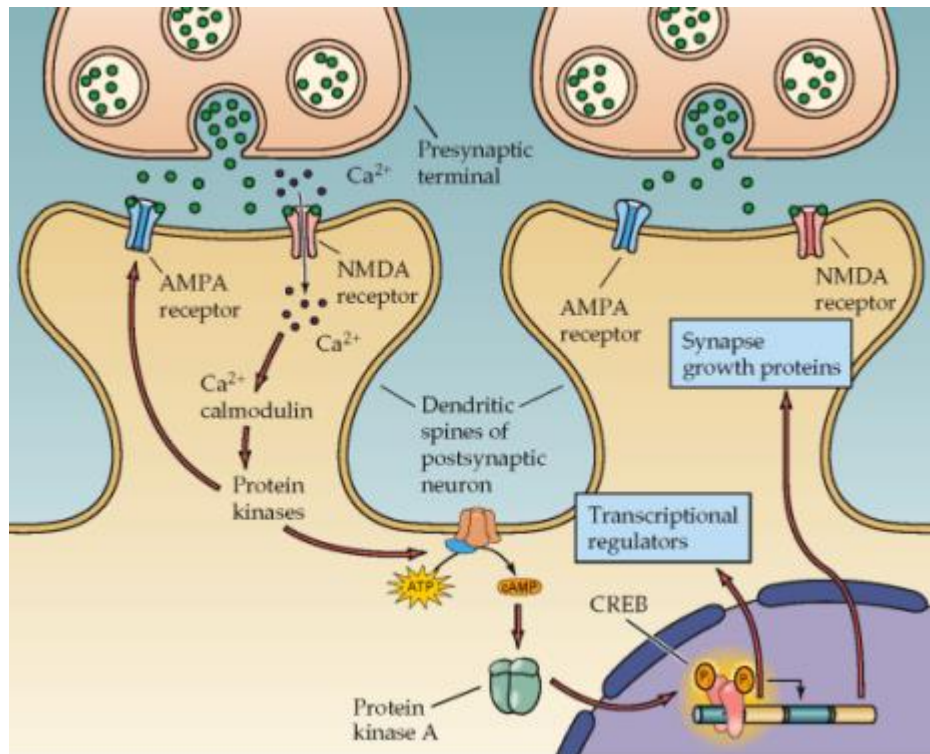
llevarse a cabo en plazos de días a semanas (Dudai y Morris, 2000; Squire et al., 2015.; Tonegawa, Morrissey y Kitamura, 2018).

Como se mencionó al inicio de esta sección, se sabe que la consolidación de la memoria a nivel de sistemas requiere de la participación del hipocampo; sin embargo, en lo que refiere a nivel molecular o sináptico se ha reportado que, para que la transformación de la memoria de corto a largo plazo se lleve a cabo, deben ocurrir cambios en las propiedades neuronales de esta estructura (p. ej. excitabilidad, fuerza sináptica, etc.) (Ortega-de San Luis y Ryan, 2022). Al respecto, se sugiere que el sistema de neurotransmisión glutamatérgico es importante para este fin (Kandel, Dudai y Mayford, 2014; Squire et al., 2015).

De acuerdo con Kandel (2001b), para que el aprendizaje sea adquirido y la memoria almacenada, a nivel sináptico debe haber una coincidencia entre la despolarización de las membranas pre- y postsinápticas. Después de que esta coactivación ocurre de manera recurrente, los receptores glutamatérgicos tipo N-metil-D-aspartato (NMDA) se activan permitiendo la entrada de calcio al interior de la célula y cambiando el potencial eléctrico de la célula. La importancia de los receptores tipo NMDA en este proceso radica en que, una vez activados, movilizan cascadas de moléculas asociadas a los procesos de transcripción y traducción con el fin de sintetizar nuevas proteínas, las cuales serán responsables de las modificaciones duraderas en la morfología y fisiología de las neuronas asociadas al trazo mnémico (Herring y Nicoll, 2016). De manera específica se ha propuesto que el influjo de calcio a través de los receptores NMDA promueve la actividad de la proteína cinasa dependiente de  $\text{Ca}^{2+}$ /calmodulina (CAMKII); esta fosforila a los receptores AMPA para aumentar su sensibilidad al glutamato y permite la inserción de nuevos receptores en la membrana postsináptica; paralelamente, la proteína cinasa C (PKC) y otras cinasas como Fyn



derivan en la activación de PKA la cual, a su vez, fosforila al factor de transcripción CREB para inducir la transcripción de genes en el núcleo de la neurona (Loubon y Franco, 2010) (ver figura 2).



**Figura 2.** Mecanismos moleculares de la consolidación de la memoria. Se ilustra una sinapsis entre una neurona presináptica y una neurona postsináptica. El glutamato liberado de la terminal presináptica activa los receptores AMPA y NMDA. Mientras que el receptor AMPA es responsable de la transmisión sináptica basal, el receptor NMDA regula la eficacia de la transmisión sináptica. La transmisión sináptica mejora si el receptor NMDA detecta la coactividad de la neurona presináptica (liberación y unión de glutamato) y postsináptica (suficiente despolarización para expulsar  $Mg^{2+}$  del poro del canal). Cuando ocurre tal evento de coincidencia, el receptor NMDA se activa, abriendo el poro del canal que, a su vez, permite tanto el influjo precipitado de  $Na^+$  y  $Ca^{2+}$  como la salida de  $K^+$ . La entrada de  $Ca^{2+}$  activa cascadas bioquímicas que eventualmente fortalecen la sinapsis (Tomado de Loubon y Franco, 2010)

### **3. 2. La quimioterapia promueve la inducción de un condicionamiento asociativo contextual**

De acuerdo con la clasificación propuesta por Squire (2004), los procesos de aprendizaje y memoria pueden ser clasificados dependiendo de la duración y de la naturaleza de la información que se integra. Además, se han dilucidado algunos de los mecanismos neurobiológicos involucrados en la integración de las memorias. Gracias a ello, en la actualidad es posible ahondar en los procesos a través de los cuales se establecen aprendizajes y memorias de tipo asociativo que ocurren de manera ordinaria. Dentro de las situaciones de la vida cotidiana que han sido explicadas desde los procesos de aprendizaje y memoria se encuentra el desarrollo de la náusea anticipatoria en pacientes con cáncer que se encuentran bajo tratamiento oncológico. De acuerdo con Stockhorst y colaboradores (2007), cuando se administra una sustancia quimioterapéutica dentro de un contexto particular, los estímulos ambientales funcionan como EC; así, después de que ocurre el aprendizaje, el malestar generado inicialmente por las sustancias citotóxicas ocurrirá de manera anticipatoria en presencia de las claves del ambiente. Este efecto suele ser tan severo que del 76% de los pacientes quimioterapéuticos que lo refieren, cerca del 26% discontinúan la quimioterapia a pesar del riesgo que esto implica para su salud (Aapro, Molassiotis y Olver, 2005; Jordan, Schmoll y Aapro, 2005). Debido a que la náusea anticipatoria representa uno de los principales problemas en la adherencia al tratamiento, parte de los esfuerzos por disminuir la aparición de esta respuesta se han concentrado en describir los mecanismos por los cuales se establece.

El primero en proponer que la náusea anticipatoria resultaba de la asociación entre dos estímulos fue Nesse durante la década de los 80s (Stockhorst, Enck y Klosterhalfen, 2007);

este investigador propuso que, cuando los pacientes experimentan la infusión de un agente citotóxico que produce náusea o vómito, los estímulos contextuales que se encuentran presentes durante el tratamiento (p. ej. olores, sabores, sonidos u objetos) adquieren propiedades aversivas, por lo que después de varios días de tratamiento, estos estímulos contextuales fungen como claves predictivas para inducir la respuesta condicionada de la náusea en un siguiente encuentro. Si bien la aparición de la náusea anticipatoria ha sido descrita ampliamente dentro del sector salud, con el fin de lograr un panorama más amplio en torno a la descripción de este fenómeno, Symonds y Hall (2000) desarrollaron un modelo animal de náusea anticipatoria basado en el condicionamiento clásico, el cual demostró que la administración de un agente inductor de náusea (LiCl) asociado a la exposición de un contexto novedoso era capaz de conferir propiedades aversivas al contexto.

### ***3. 2. 1. Asociación entre el contexto y señales interoceptivas***

El primer antecedente que relata la asociación de señales interoceptivas de emesis con estímulos ambientales proviene de los experimentos realizados por Collins y Tatum (1925). Estos investigadores observaron que, después de administrar una dosis de sulfato de morfina subcutánea en perros durante una semana, las señales que predecían la administración de morfina (p. e. la llegada del experimentador) generaban la salivación y emesis producidas inicialmente por el estímulo incondicionado. A partir de estas demostraciones, y con el fin de explicar el desarrollo de la náusea anticipatoria en el contexto hospitalario, Symonds y Hall (2000) crearon un protocolo de condicionamiento clásico en el que administraron LiCl de manera intraperitoneal dentro de un contexto novedoso (diferente al de la caja hogar), partiendo del supuesto de que la ingesta o administración de sal de litio promueve malestar gástrico y la activación del área postrema, la cual es responsable del reflejo de vómito (Horn,

2014; Jordan, Schmoll y Aapro, 2007; Milner y Leslie, 1994). Los resultados de estos experimentos mostraron que los animales evitaban consumir alimento en el compartimento condicionado, probando que el LiCl era capaz de inducir aversión al contexto y que las señales ambientales por sí mismas eran capaces de evocar las señales interoceptivas correspondientes al estímulo incondicionado con las que habían sido asociadas.

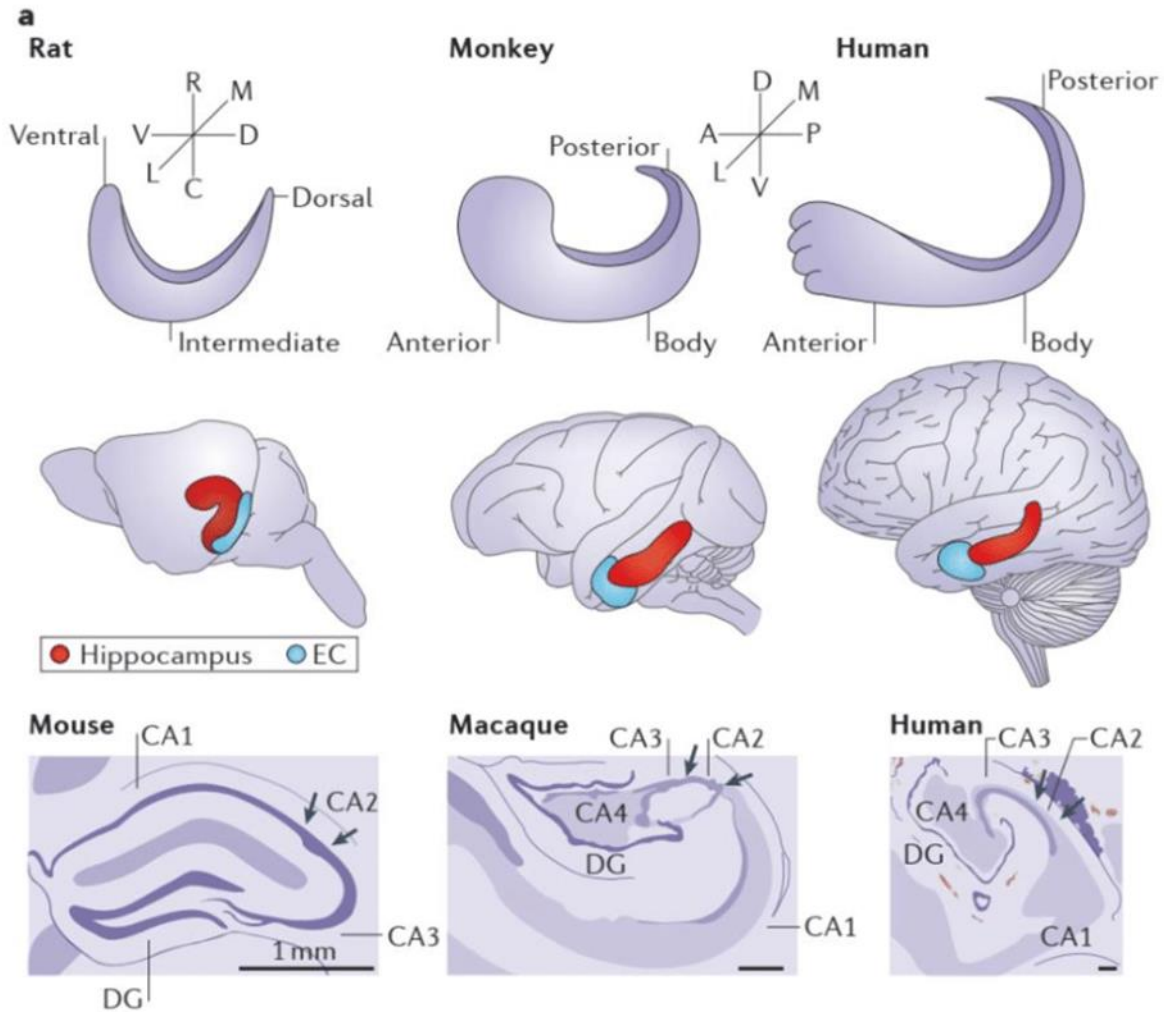
Con el paso del tiempo el paradigma fue replicado, por lo que finalmente adquirió el nombre de Condicionamiento de Aversión al Lugar (CPA, por sus siglas en inglés) (Buffalari et al., 2016; Cloutier, Cavaliers y Ossenkopp, 2017; Cloutier, Cavaliers y Ossenkopp, 2018; Cunningham et al., 2006; Doobay et al., 2021; Jiang et al., 2014; Kramar et al., 2021). En el procedimiento estándar, los animales son expuestos a una caja de al menos dos compartimentos con diferentes características táctiles y visuales; uno de los compartimentos es asociado repetidamente con un evento motivacionalmente negativo, mientras que el otro es asociado con un estímulo inocuo. En este caso, se dice que ha habido aprendizaje cuando, en una prueba de libre elección, el organismo entrenado evita el contexto en el que se presentó el estímulo de valencia negativa (Goltseker y Barak, 2018).

En la actualidad, el paradigma conductual ha sido utilizado con mayor frecuencia para evaluar los efectos motivacionales de diversas drogas (Cunningham, Ferree y Howard, 2003; Cunningham, Gremel y Groblewski, 2006) o estímulos exteroceptivos de nocicepción (Johansen y Fields, 2004; Johansen, Fields y Manning, 2001); sin embargo, si bien es cierto que se ha logrado reproducir conductas similares a la náusea anticipatoria dentro del laboratorio, aún se desconocen las estructuras y los mecanismos neurológicos responsables de su establecimiento. Dado que las claves contextuales son un componente importante en el condicionamiento de lugar, se ha propuesto al hipocampo como una estructura relevante

durante el aprendizaje de aversión al lugar debido a su participación en el procesamiento de información contextual (Corcoran et al., 2005; Cunningham et al., 2006; Holt y Maren, 1999; Matus et al., 2004).

### **3. 3. Hipocampo**

El hipocampo, nombrado así por su semejanza con el animal del mismo nombre, es una estructura del sistema límbico ubicada en la porción medial del lóbulo temporal en humanos y en la región caudal del cerebro de roedores (van Strien, Cappaert y Witter, 2009). En los animales, el hipocampo se considera como una de las partes filogenéticamente más antiguas del cerebro y ocupa la mayor parte de las paredes ventroposterior y ventrolateral de la corteza cerebral en los roedores. Sin embargo, ocupa menos parte del telencéfalo en proporción a la corteza cerebral en los primates, especialmente en humanos (Strange et al., 2014; Xiong, 2008) (ver figura 3). Normalmente se le refiere como la formación hipocampal pues pueden distinguirse tres subregiones: el giro dentado (GD), el hipocampo, el cual se encuentra formado por las regiones CA3, CA2 y CA1 y el subículo (Carlson y Clark, 2014). Asimismo, se ha descrito que el hipocampo puede diferenciarse a través del eje longitudinal en hipocampo dorsal (HD) e hipocampo ventral (HV) (Fanselow y Dong, 2010, Strange et al., 2014).



**Figura 3.** Comparativa de la anatomía hipocámpal en diferentes especies. (a) Se muestran esquemas representativos de la formación hipocámpal (rojo) y la corteza entorrinal (azul) en ratas, macacos y humanos. A lo largo del eje longitudinal, el hipocampo se diferencia en porciones dorsoventrales en roedores, anteroposteriores en primates y rostrocaudales en humanos. Asimismo, en la sección inferior se muestran cortes transversales del cerebro de las diferentes especies, señalando las subregiones que conforman al hipocampo. (Modificado de Strange et al., 2014).

### 3. 3. 1. Participación del hipocampo en el procesamiento de la información espacial

Probablemente el antecedente más robusto que relaciona la función del hipocampo con el procesamiento de información espacial fue reportado durante la década de los 60s. En 1969, John O'Keefe y colaboradores desarrollaron una técnica en modelos murinos para registrar

la respuesta de las neuronas frente a diferentes conductas (Colgin, 2020). Aunque los experimentos se realizaron inicialmente en el tronco encefálico, para 1971 el grupo de O'Keefe había perfeccionado la técnica, logrando implantar electrodos en el hipocampo de ratas despiertas (O'Keefe y Dostrovsky, 1971). Mediante el uso de la nueva estrategia, O'Keefe y cols. evaluaron la respuesta de las células hipocampales ante diferentes tareas y encontraron que la tasa de disparo de las neuronas del hipocampo dorsal correlacionaba directamente con la localización del animal dentro del ambiente (Xiong, 2008), por lo que desde ese momento se refirieron a estas células como células de lugar (O'Keefe y Dostrovsky, 1971; O'Keefe y Conway, 1978). Fue sólo con el descubrimiento de las células de lugar que la idea de que el hipocampo participaba en la codificación del espacio comenzó a resonar dentro del ámbito científico.

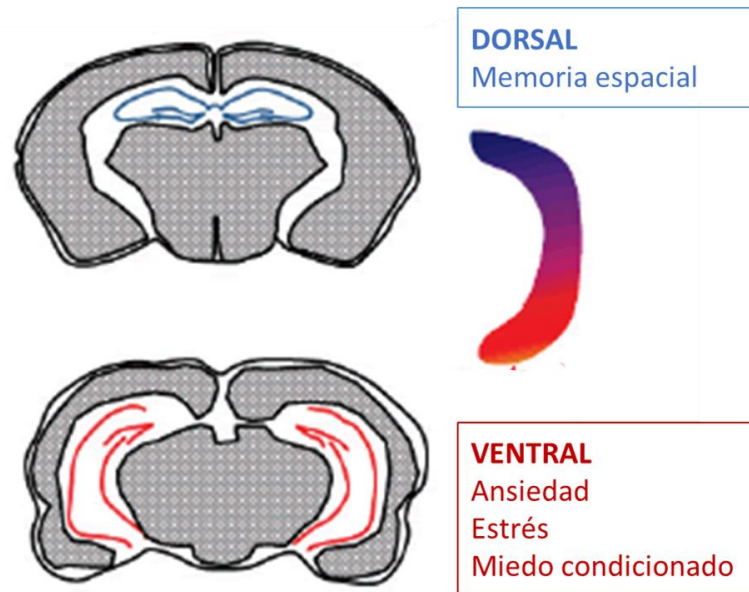
Posterior al descubrimiento y descripción de las células de lugar, eventualmente se llegó a la idea de que el hipocampo funciona como un mapa cognitivo, creando una representación mental del espacio que permite al organismo navegar dentro de un contexto particular (Jacobs y Sherk, 2003; O'Keefe y Nadel, 1978). Aunque inicialmente se planteó como una hipótesis, en la actualidad existe una gran cantidad de evidencia que respalda la teoría del mapa cognitivo. Como ejemplo se ha reportado que ratas con lesiones hipocampales exhiben un pobre desempeño en tareas de memoria espacial como el laberinto en forma de T (Naert et al., 2013, Trivedi y Coover, 2004) y el laberinto acuático de Morris (Dashniani et al., 2020; Morris et al., 1986; Winocur et al., 2013). Asimismo, estudios con resonancia magnética funcional y tomografía por emisión de positrones en humanos han revelado la activación del hipocampo en tareas que requieren memoria espacial o navegación (Shrager et al., 2007).

Pese a su participación en la navegación, es importante mencionar que la función del hipocampo no se restringe a la representación de coordenadas dentro de un plano cartesiano. Al respecto, se ha propuesto que el hipocampo utiliza la información proveniente de las características o claves específicas de un contexto para crear una imagen mental coherente del mismo, así como para aprender asociaciones que le permitan comportarse de acuerdo al tipo de aprendizaje que haya experimentado en ese entorno (Miller et al., 2014). Como evidencia de ello se ha encontrado que, las lesiones hipocampales o la inactivación farmacológica de esta estructura inducen deficiencias en la ejecución de tareas que emplean estímulos contextuales discriminativos para dirigir la conducta (p. ej. condicionamiento de miedo al contexto) (Maren y Holl, 2004; Rogers, Hunsaker y Kesner, 2006).

### ***3. 3. 2. División funcional del hipocampo***

Si bien se ha encontrado que las lesiones del hipocampo producen déficits en el procesamiento de la memoria contextual, a partir del trabajo realizado por Moser y Moser (1998) se sugirió que las porciones dorsal y ventral del hipocampo se encontraban involucradas en procesos cognitivos distintos. De esta manera se describió que, mientras que el funcionamiento del hipocampo dorsal (HD) está relacionado con el aprendizaje contextual (Cholvin et al., 2016; Mastrolia et al., 2021; Parsaei et al., 2016; Stackman et al., 2016; Tuscher et al., 2018), el hipocampo ventral (HV) tiene un rol fundamental en el procesamiento emocional de la ansiedad, estrés y respuestas de miedo condicionado (Bagot et al., 2015; Bian et al., 2019; Jimenez et al., 2018; Marsurkar, 2018; Pinto et al., 2015; Zhang et al., 2014) (ver figura 4).





**Figura 4.** *División funcional del hipocampo.* A lo largo del eje transversal, el hipocampo se encuentra segregado en dorsal y ventral. Mientras que la porción dorsal se relaciona principalmente con el aprendizaje y la memoria espacial, el hipocampo ventral participa en el procesamiento emocional de respuestas de ansiedad, estrés y miedo condicionado (Modificado de Marsurkar, 2018).

La evidencia más contundente respecto a la segregación funcional del hipocampo deriva de los hallazgos en roedores en las tareas de laberinto elevado y condicionamiento de miedo al contexto. En el primer caso, los animales son colocados en un laberinto elevado compuesto por dos brazos abiertos y dos brazos cerrados dispuestos en forma de cruz (Handley y Mithani, 1984); este aparato resulta útil para evaluar conductas de ansiedad pues los roedores dedican mayor cantidad de tiempo en los brazos cerrados y evitan pasar tiempo en los brazos abiertos, lo que denota un comportamiento de tipo ansiogénico (Walf y Frye, 2007). Durante la ejecución de esta tarea, Kjelstrup y colaboradores (2002) reportaron que las lesiones del HV, y no las del HD, aumentaban la entrada a los brazos abiertos o desprotegidos del laberinto, mostrando una reducción en las conductas asociadas a la ansiedad (Fanselow y Dong, 2010). Es importante mencionar que estos hallazgos son congruentes con lo

encontrado en humanos, pues los individuos que muestran trastornos psicológicos con fuertes componentes afectivos como el trastorno de estrés postraumático, trastorno bipolar o depresión, exhiben una mejora en las alteraciones emocionales cuando son sometidos a un tratamiento farmacológico dirigido a regular la función del hipocampo (p. ej. uso de inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina) (Bonne et al., 2008; Bremner y Vermetten, 2012; Frey et al., 2007).

Por otro lado, en lo que refiere al procedimiento de condicionamiento de la respuesta de miedo al contexto, la evidencia muestra que después de colocar animales en una cámara donde reciben choques eléctricos en las patas, como resultado del entrenamiento, los sujetos experimentales exhiben conducta de congelamiento cuando son colocados en el lugar donde se presentó el estímulo aversivo, lo que demuestra una asociación entre el contexto y el dolor exteroceptivo (Kim y Fanselow, 1992). En este tipo de condicionamiento, cuando el HD es inactivado farmacológicamente mediante la administración de agonistas de los receptores GABA (muscimol), los animales no exhiben congelamiento durante la prueba, resultado que no se observa cuando se inactiva el HV (Fanselow y Dong, 2010). Estos hallazgos sugieren que el déficit en el desempeño de la tarea se debe a una falla en el procesamiento del contexto y no a un déficit emocional general.

Si bien los trabajos anteriores demuestran que existe una segregación funcional del hipocampo a lo largo del eje dorsoventral, pocos de estos ofrecen una explicación para la heterogeneidad anatómica y fisiológica. Por ello, para explicar las diferencias en la funcionalidad, algunos trabajos han propuesto a la heterogeneidad molecular (Leonardo et al., 2006; O'Reilly et al., 2015), la expresión diferencial de receptores (Lothmann et al., 2021; Tanaka, Samuels y Hen, 2012; Tao et al., 2021) y la conexión con diferentes estructuras a lo

largo de todo el encéfalo como los orígenes de este fenómeno (Bannerman et al., 2014). De esta manera, se ha reportado que la porción dorsal del hipocampo concentra una mayor cantidad de receptores glutamatérgicos, GABAérgicos y dopaminérgicos en comparación con la porción ventral, la cual es abundante en receptores de tipo noradrenérgico (Tao et al., 2021). Asimismo, se sabe que las diferentes secciones de la formación hipocampal como el giro dentado y los campos del Cuerno de Ammon exhiben perfiles específicos de estos receptores a lo largo del eje anteroposterior (Tao et al., 2021). En lo que respecta a las conexiones con estructuras extrahipocampales, la literatura reporta que el HD recibe información sensorial polimodal proveniente de las áreas corticales, mientras que el HV se encuentra estrechamente relacionado con regiones subcorticales tales como la amígdala y el eje HPA (Bannerman et al., 2014). Es importante mencionar que, aunque estos experimentos brindan información sobre la base fisiológica y neuroquímica de las funciones del hipocampo, el trabajo de caracterización aún se encuentra en proceso, por lo que será necesario determinar si la heterogeneidad intrínseca de las diferentes regiones hipocampales interviene de igual manera en el procesamiento de información.

### ***3. 3. 3. Hipocampo dorsal y condicionamiento de aversión al lugar***

En lo que respecta al HD, algunos trabajos han evaluado la participación de esta estructura en el establecimiento del CPA asociado con malestar por abstinencia a una sustancia de abuso. Hou y colaboradores (2009), por ejemplo, mostraron que las lesiones excitotóxicas del HD, pero no del HV, impedían la adquisición de este paradigma inducido por la administración de naloxona. Asimismo, sabiendo que el glutamato es un neurotransmisor que participa fundamentalmente en el aprendizaje asociativo (Bast, Zhang y Feldon, 2003; Burman y Gewirtz, 2007; Quinn et al., 2005), Hou y colaboradores (2009) también evaluaron

el efecto de la administración del antagonista de los receptores NMDA, el ácido 2-amino-5-fosfonopentanoico (AP5), en el HD antes y después del condicionamiento contextual de aversión. En este caso, observaron que la aplicación de AP5 previa al condicionamiento impidió la adquisición de esta tarea, mientras que la aplicación posterior no mostraba efecto en la evocación de la aversión, sugiriendo la participación de los receptores NMDA en la adquisición del CPA asociados a un fenómeno de abstinencia.

Además de los resultados reportados por Hou y colaboradores (2009), otras investigaciones han demostrado la contribución de los receptores NMDA en el aprendizaje asociativo inducido específicamente por la administración de LiCl (Guzmán-Ramos et al., 2010, Miranda et al., 2002). Guzmán-Ramos y colaboradores (2010) mostraron que la inyección intraperitoneal de una solución 0.4 M de LiCl en un paradigma de condicionamiento de aversión al sabor promovió un incremento en la corteza de los niveles extracelulares de glutamato; sin embargo, cuando se administró el antagonista AP5 en la corteza después del condicionamiento, los animales no exhibieron aversión al sabor en la prueba de memoria a largo plazo. Aunque estos resultados muestran que los receptores NMDA participan en el establecimiento de tareas asociativas de tipo aversivo y que responden de manera específica a la señalización del LiCl, aún no existe evidencia de su participación dentro del HD en el establecimiento de tareas contextuales de aversión inducidas por malestar gástrico.

#### **IV. Justificación**

Uno de los principales problemas que enfrentan los pacientes que cursan un tratamiento quimioterapéutico es que la exposición a estímulos ambientales puede desencadenar náusea anticipatoria como resultado de la asociación de las claves contextuales con agentes citotóxicos, la cual eventualmente promueve el abandono del tratamiento. Aunque el

desarrollo de esta náusea anticipatoria ha sido explicado desde el paradigma del condicionamiento clásico, en el que el contexto adquiere propiedades aversivas debido a su asociación con señales interoceptivas de emesis (vómito) y malestar gástrico, la información en torno a los mecanismos neurológicos asociados al establecimiento de esta respuesta aún es escasa. No obstante, se sabe que la porción dorsal del hipocampo es una estructura relacionada con el establecimiento de aprendizajes de evitación contextual. Asimismo, se ha descrito la relevancia de los receptores NMDA en la formación de memorias asociativas. Frente a esto, se plantea la posibilidad de evaluar el papel funcional del HD, así como de los receptores NMDA en el HD durante el establecimiento un paradigma contextual de aversión condicionada inducida por la inyección intraperitoneal de LiCl. Los resultados de este trabajo podrían coadyuvar en la comprensión de los mecanismos neurobiológicos involucrados en la formación de un CPA relacionados con la conducta de náusea anticipatoria observada en pacientes que cursan un tratamiento quimioterapéutico.

## **V. Objetivos**

### *5. 1. Objetivo general*

Determinar el papel funcional del hipocampo dorsal en el establecimiento del condicionamiento de aversión al lugar inducido por la inyección intraperitoneal de LiCl.

### *5. 2. Objetivos específicos:*

1. Estandarizar un protocolo de aversión al contexto de un solo ensayo inducido por la administración intraperitoneal de LiCl en ratas de la cepa Wistar.
2. Determinar la participación de la región dorsal del hipocampo en la asociación de un contexto con la estimulación aversiva generada por la inducción de malestar gástrico

mediante su inactivación farmacológica por la administración de agonistas (muscimol/baclofen) de los receptores GABA (n=7).

3. Determinar la participación de los receptores NMDA del hipocampo dorsal en el establecimiento de la asociación de un contexto con estimulación aversiva mediante la administración de un antagonista de los receptores NMDA (AP5) antes (n=8) y después del condicionamiento (n=8).

## **VI. Hipótesis**

1. Si el condicionamiento de aversión al lugar (CPA) se establece mediante la asociación de un contexto con señales interoceptivas, la inyección i. p. de una solución hipertónica de un agente emético (LiCl 0.4M) asociada al confinamiento dentro de un contexto particular inducirá un CPA en un solo ensayo.
2. Si el hipocampo dorsal participa en el establecimiento del condicionamiento de aversión al lugar inducido por malestar gástrico, la inhibición farmacológica de esta estructura por medio de la administración de agonistas de los receptores GABA (muscimol/baclofen) afectará la formación de la memoria aversiva.
3. Si el hipocampo dorsal participa en el establecimiento del CPA a través de receptores glutamatérgicos tipo NMDA, el bloqueo farmacológico de estos receptores antes del condicionamiento, utilizando AP5 como antagonista específico, afectará la formación de la memoria aversiva.
4. Si el hipocampo dorsal participa en la consolidación del CPA a través de receptores glutamatérgicos tipo NMDA, el bloqueo farmacológico de estos receptores después del condicionamiento, utilizando AP5 como antagonista específico, afectará la formación de la memoria aversiva.

## **VII. Metodología**

### **7. 1. Animales**

Se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar provenientes del bioterio del Instituto de Fisiología Celular con un peso de entre 280-320 gramos. Los animales se mantuvieron individualizados en cajas de acrílico en un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas con agua y comida *ad libitum*. Todas las manipulaciones experimentales que se describen en este apartado se realizaron durante el periodo de luz. Los protocolos empleados en este trabajo siguieron los principios éticos para el manejo experimental de modelos animales aprobados por el Comité Interno para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio del Instituto de Fisiología Celular (DOG129-20).

### **7. 2. Aparato**

Se utilizó una caja (95 x 25 x 50 cm) de tres compartimentos, cada uno compuesto por diferentes estímulos visuales y táctiles y separados por puertas corredizas tipo guillotina. El compartimento central (15 x 25 x 50 cm) estuvo conformado por muros grises y suelo gris liso, mientras que los compartimentos laterales (40 x 25 x 50 cm) presentaban paredes negras con suelo de barras de acero inoxidable o muros blancos con suelo de malla de acero inoxidable. Para el experimento se optó por un diseño sesgado ya que el compartimento de color negro fue identificado como el preferido dada la respuesta fotofóbica natural de los roedores; fue en este compartimento dónde se administró el estímulo visceral aversivo para establecer el CPA. Por otro lado, el compartimento blanco fue considerado como el no preferido, por lo que las manipulaciones realizadas dentro del mismo involucraron la administración de solución salina.

### **7. 3. Experimento 1**

#### **7. 3. 1. Inducción de CPA y establecimiento del tiempo de confinamiento**

Con el fin de determinar el tiempo de confinamiento necesario para el establecimiento del CPA, el protocolo se realizó a lo largo de tres días (ver figura 5). En el primer día (pretest), los animales fueron colocados dentro del compartimento central de la caja de condicionamiento y se levantaron las puertas tipo guillotina para permitir la libre exploración del aparato por un periodo de 10 minutos. Se contabilizó el tiempo de permanencia en cada compartimento y, al concluir, los animales fueron devueltos a su caja hogar. En el segundo día (adquisición), los animales fueron inyectados i. p. con LiCl 0.4 M (7.5 ml/kg; dosis que genera contracciones involuntarias de los músculos del peritoneo) (Guzmán-Ramos et al., 2010) e inmediatamente después fueron confinados dentro del compartimento negro durante 10 (n = 6), 20 (n = 8), 40 (n = 7) o 60 (n = 9) minutos, dependiendo del grupo. Cuatro horas después, es decir, cuando los niveles de LiCl en plasma han disminuido considerablemente (vida media LiCl=30 min) (Morrison et al., 1971), los animales fueron inyectados i. p. con solución salina (NaCl 0.15 M) para después ser confinados en el compartimento blanco durante 10, 20, 40 o 60 minutos como se muestra en la figura 5. Es importante mencionar que el tiempo de confinamiento fue el mismo en los dos compartimentos dependiendo del grupo, por lo que los animales a los que se les permitió que exploraran la sección negra por un periodo de 10 minutos, también fueron confinados en la sección blanca durante 10 minutos y así sucesivamente con el resto de los grupos.

Este experimento tuvo un diseño contrabalanceado, por lo que hubo animales a los que se expuso primero a la asociación contexto-salina y, 4 horas después, a la inyección de LiCl en el compartimento negro. Durante el tercer día (prueba o posttest) nuevamente se permitió la



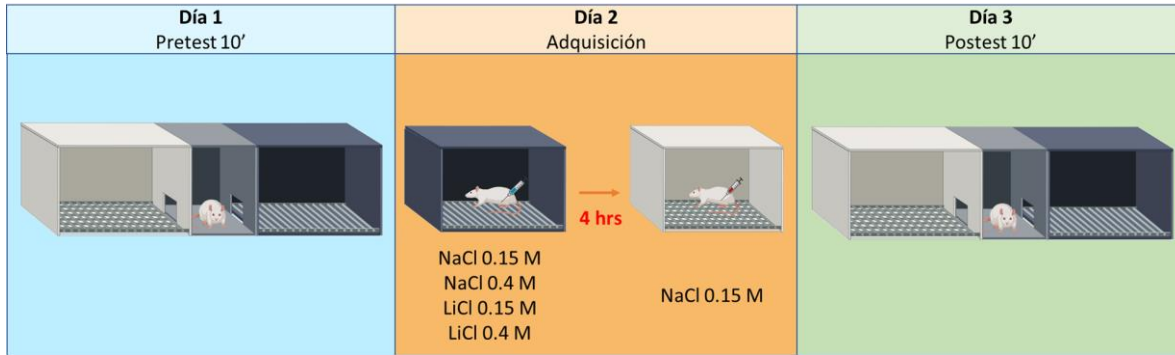
libre exploración de la caja por un lapso de 10 minutos durante el cual se registró el tiempo de permanencia en cada compartimento.



**Figura 5.** Representación esquemática del protocolo conductual para la inducción del CPA empleando diferentes tiempos de confinamiento. El primer día se permitió que los animales exploraran la caja por un periodo de 10 minutos. En el día de la adquisición, los animales fueron inyectados intraperitonealmente con LiCl 0.4 M y NaCl 0.15 M para después ser confinados dentro de los compartimentos negro y blanco, respectivamente. Se establecieron diferentes tiempos de confinamiento dependiendo del grupo ( $n_{10'}=4$ ,  $n_{20'}=8$ ,  $n_{40'}=7$ ,  $n_{60'}=9$ ) y finalmente, en el día del postest se permitió la libre exploración del aparato durante 10 minutos.

### 7. 3. 2. Inducción de CPA utilizando diferentes estímulos incondicionados

Después de determinar el tiempo de confinamiento requerido para el establecimiento del CPA, se evaluó si la inducción de la respuesta de aversión se debió al dolor generado por la inyección de una solución hipertónica o al malestar gástrico derivado de la administración de LiCl. Para ello, se inyectó i. p. a los animales con una variante hipertónica e isotónica de cada solución. Así, los animales recibieron una inyección i. p. de NaCl 0.15 M ( $n = 8$ ), NaCl 0.4 M ( $n = 8$ ), LiCl 0.15 M ( $n = 7$ ) o LiCl 0.4 M ( $n = 8$ ) dependiendo del grupo y después se les confinó dentro del compartimento negro por 20 minutos; 4 horas después se aplicó una inyección i. p. de NaCl 0.15 M como control y los animales fueron confinados en el compartimento contrario. Nuevamente, este protocolo tuvo un diseño contrabalanceado (ver figura 6).



**Figura 6.** Representación esquemática del protocolo conductual para la inducción de CPA utilizando diferentes soluciones isotónicas e hipertónicas. El día del pretest se permitió que los animales exploraran la caja por un periodo de 10 minutos. Posteriormente, el día de la adquisición los animales fueron inyectados intraperitonealmente con diferentes soluciones isotónicas ( $n_{\text{NaCl}0.15\text{M}}=8$ ,  $n_{\text{LiCl}0.15\text{M}}=7$ ) e hipertónicas ( $n_{\text{NaCl}0.4\text{M}}=8$ ,  $n_{\text{LiCl}0.4\text{M}}=8$ ) y confinados dentro de los compartimentos por 20 minutos. 4 horas más tarde recibieron una inyección de NaCl 0.15 M dentro del compartimento blanco. Finalmente, en el día del postest se permitió la libre exploración del aparato durante 10 minutos.

## 7. 4. Experimento 2

### 7. 4. 1. Implantación de cánulas

Los animales fueron anestesiados con una mezcla de ketamina (70 mg/kg) y xilacina (10 mg/kg) administrada por vía intraperitoneal, para después ser colocados en un aparato estereotáxico. Tras la aplicación de lidocaína como anestésico local (20 mg/mL, 0.3 mL), se realizó una incisión en el cuero cabelludo para exponer el cráneo y posteriormente se implantaron, de manera bilateral, cánulas guía de acero inoxidable de 9 mm en la región dorsal del hipocampo (AP: -3.6 mm; ML:  $\pm 2.5$  mm; DV: -2.0 mm respecto a Bregma) (Paxinos y Watson, 1998). Las cánulas guía se fijaron al cráneo con dos tornillos, cemento dental y pegamento. Se colocaron estiletes de acero inoxidable dentro de las cánulas para evitar su oclusión y después se aplicó una pomada con una mezcla de terramicina (antibiótico) y ketoconazol (antimicótico) con el fin de impedir infecciones. Finalmente, se estableció un periodo de recuperación de una semana posterior a la cirugía, durante el cual

se realizaron controles de salud y se sustituyeron los estiletes faltantes. Los procedimientos conductuales y farmacológicos comenzaron 7 días después de la implantación de cánulas.

#### ***7. 4. 2. Inactivación temporal del hipocampo dorsal durante el establecimiento del CPA***

Para evaluar la participación del hipocampo dorsal en el condicionamiento de aversión al lugar, el día del pretest los animales exploraron la caja por un periodo de 10 minutos y se contabilizó el tiempo de permanencia en cada uno de los compartimentos. El día de la adquisición, los animales fueron divididos de manera aleatoria en grupo control y experimental. El grupo control fue inyectado intrahipocampalmente con solución salina ( $n = 5$ ), mientras que el grupo experimental fue inyectado con una mezcla de muscimol (0.1mM) y baclofen (1.0 mM) (0.5  $\mu$ l/hemisferio, 0.25  $\mu$ l/min) (McGlinchey and Aston-Jones 2018) ( $n = 7$ ). Al concluir la infusión de los fármacos, a ambos grupos se les administró una inyección intraperitoneal de LiCl 0.4 M (7.5 ml/kg) e inmediatamente después fueron confinados dentro del compartimento negro durante 20 minutos. Finalmente, cuatro horas después de la primera inyección, ambos grupos recibieron solución salina por vía intracraneal y, al término de la infusión, se administró una inyección i. p. de NaCl 0.15 M para después confinar a los animales en el compartimento blanco por 20 minutos (ver figura 7). Al término del experimento, los sujetos fueron devueltos a sus cajas hogar y el día de la prueba se evaluó la memoria al permitir la exploración de la caja por un periodo de 10 minutos. Este protocolo tuvo un diseño contrabalanceado, similar a los previamente descritos.



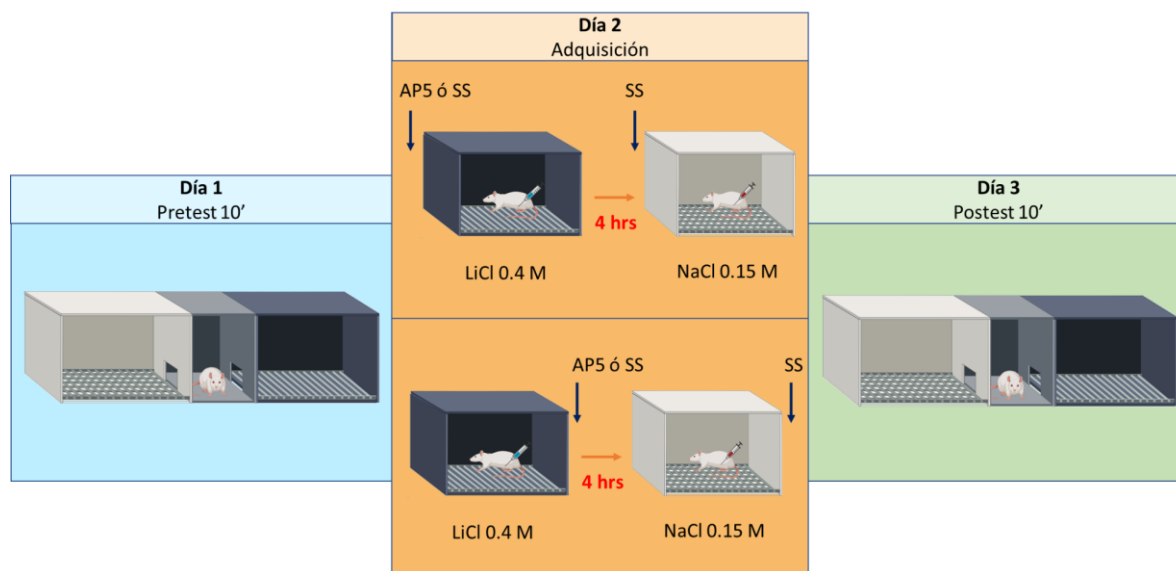
**Figura 7.** Representación esquemática del protocolo conductual para la inactivación farmacológica del hipocampo dorsal. En el día del pretest los animales exploraron la caja por un periodo de 10 minutos. El día de la adquisición se administró una mezcla de muscimol y baclofen (M/B) ( $n_{M/B}=7$ ) o solución salina (SS) ( $n_{SS}=5$ ) por vía intracraneal antes de la inducción del CPA. 4 horas más tarde se administró SS por vía i. c. e inmediatamente después se aplicó NaCl 0.15 M por vía i. p. Finalmente, el día del postest se permitió que los animales exploraran el aparato durante 10 minutos.

#### **7. 4. 3. Efecto de la administración de AP5 sobre el establecimiento del CPA**

El día del pretest, los animales exploraron la caja por 10 minutos y se registró el tiempo de permanencia en cada uno de los compartimentos laterales. El día de la adquisición, los animales fueron inyectados intracranealmente con ácido 2-amino-5-fosfonovaleriánico (AP5;  $0.5 \mu\text{l/hemisferio}$ ,  $0.25 \mu\text{l/min}$ ,  $10 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ ) (Guzmán-Ramos et al., 2010), un antagonista de receptores NMDA, o solución salina antes ( $n_{AP5}=8$ ,  $n_{SS}=5$ ) de la i. p. de LiCl 0.4 M e inmediatamente después ( $n_{AP5}=8$ ,  $n_{SS}=8$ ) fueron confinados en el compartimento negro por 20 minutos. Cuatro horas después de la primera inyección, ambos grupos recibieron solución salina por vía intracraneal y, al término de la infusión, se administró una inyección i. p. de NaCl 0.15 M para después confinar a los animales en el compartimento blanco. El día de la prueba, los roedores fueron colocados en la caja de tres compartimentos, donde se permitió su libre exploración durante 10 minutos y se registraron los tiempos de permanencia. De manera similar, se evaluó si la administración de AP5 posterior a la asociación del compartimento con el malestar gástrico podía impedir la formación del CPA, por lo que se modificó el protocolo anterior, realizando la inyección intrahipocampal de AP5 y SS al

término del tiempo de confinamiento dentro del compartimento negro (ver figura 8).

Nuevamente, este protocolo tuvo un diseño contrabalanceado.



**Figura 8.** Representación esquemática del protocolo conductual para el bloqueo farmacológico de los receptores NMDA. El día del pretest los animales exploraron la caja por un periodo de 10 minutos. El día de la adquisición se administró un antagonista de los receptores NMDA (AP5) por vía intracranial antes ( $n_{Pre}=8$ ) o inmediatamente después ( $n_{Post}=8$ ) de la inducción del CPA. 4 horas más tarde se administró SS por vía i. c. antes o después de la inyección i. p. de NaCl 0.15 M Finalmente, el día del postest se permitió que los animales exploraran el aparato durante 10 minutos.

#### 7. 4. 4. Extracción de cerebros

Para evaluar la correcta implantación de cánulas, al término del experimento los animales fueron anestesiados con una sobredosis de pentobarbital sódico (100 mg/kg, i. p.). Una vez comprobada la anestesia profunda, se expuso su corazón y se introdujo una aguja en el ventrículo izquierdo por la cual se hizo pasar solución salina (0.9%) mediante una bomba de perfusión durante 5 minutos para limpiar el tejido. Una vez realizada la perfusión, los animales fueron decapitados y se extrajeron sus cerebros, los cuales se depositaron en frascos con paraformaldehído 4.0% en buffer de fosfatos salino (PBS por sus siglas en inglés). En

los días siguientes, los cerebros fueron transferidos a un gradiente de solución crioprotectora de sacarosa al 10%, 20% y 30% en PBS. Al finalizar dicho procedimiento, se obtuvieron secciones coronales de 30  $\mu\text{m}$  de grosor de cada cerebro, específicamente del área que constituye al hipocampo dorsal y se realizó la tinción de Nissl.

### **7. 5. Análisis estadístico**

Durante los días de pretest y postest se registró el tiempo de permanencia de cada uno de los animales en los compartimentos laterales. Los datos registrados fueron normalizados en porcentaje de permanencia en el compartimento blanco y negro, los cuales se calcularon como % de permanencia blanco =  $(\text{Tiempo en compartimento blanco} / \text{tiempo total de exploración}) * 100 \%$  ó % de permanencia negro =  $(\text{Tiempo en compartimento negro} / \text{tiempo total de exploración}) * 100$ , respectivamente. Posteriormente, para obtener el puntaje de permanencia se calculó la diferencia de % entre el postest y el pretest en cada compartimento por medio de la siguiente fórmula:  $\text{Puntaje} = \% \text{ postest} - \% \text{ pretest}$ . Se consideró como preferencia cuando el puntaje de permanencia fue mayor respecto al pretest y como aversión cuando se presentó una disminución en el puntaje. Estos análisis se realizaron para todos los grupos de las diferentes fases experimentales. Finalmente, se calcularon las medias de cada grupo y el error estándar de la media (SEM).

Con el fin de determinar el tiempo de confinamiento necesario para la inducción del CPA, las medias de puntaje de permanencia en cada compartimento fueron sometidas a un análisis de varianza (ANOVA) de un factor (tiempo) con comparaciones múltiples realizadas a través de la prueba post hoc de Fisher LSD. Asimismo, los datos fueron sometidos a pruebas t de una sola muestra para identificar diferencias entre las medias de cada grupo respecto a la exploración el día del pretest (exploración inicial o media hipotética de 0). Para los

experimentos de aversión al contexto con soluciones isotónicas (NaCl 0.15 M, LiCl 0.15 M) e hipertónicas (NaCl 0.4 M, LiCl 0.4 M), los datos de cada grupo dentro de los compartimentos blanco y negro fueron analizados por medio de un ANOVA de un factor (solución administrada) con comparaciones múltiples realizadas a través de la prueba post hoc de Fisher LSD; asimismo se comparó la media de cada grupo contra la exploración inicial mediante pruebas t de una sola muestra.

En lo que respecta a los datos obtenidos durante la fase de inactivación temporal del hipocampo, se aplicó una prueba t de Student para muestras independientes entre los grupos tratados con el vehículo (SS) y el cóctel de agonistas de los receptores GABA, muscimol y baclofen (M/B), dentro de los compartimentos negro y blanco. Las medias de cada grupo también fueron sometidas a una prueba t de una muestra para evaluar la existencia de diferencias en relación con la exploración el día del pretest.

Finalmente, con el propósito de analizar los datos derivados de los experimentos con AP5, se aplicó una prueba t de Student para muestras independientes entre los grupos tratados con AP5 y SS intrahipocampalmente. Además, las medias de cada grupo fueron comparadas respecto a la exploración inicial mediante la aplicación de una prueba t de una muestra.

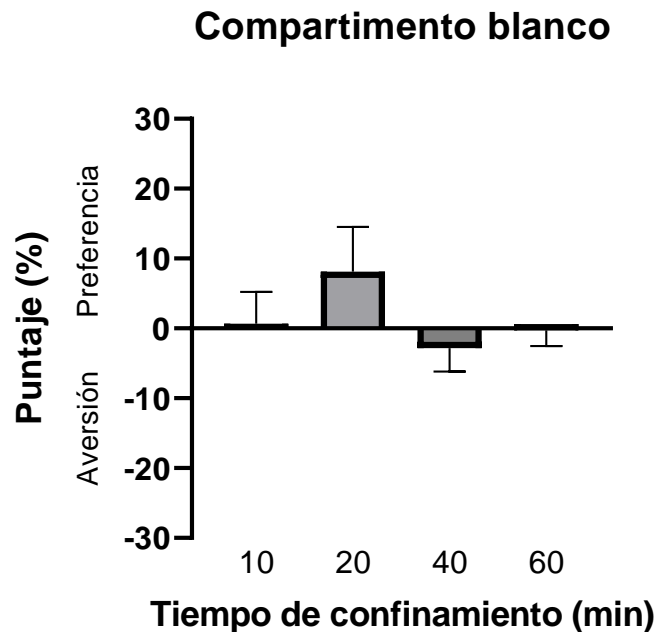
Todos los datos fueron representados como medias  $\pm$  error estándar (SEM) y analizados con el programa GraphPad Prism versión 8. En todos los análisis estadísticos se consideró un valor  $p < 0.05$  como resultado estadísticamente significativo.

## VIII. Resultados

### 8. 1. El establecimiento de un CPA inducido por LiCl requiere de un confinamiento de 20 minutos

Con el fin de identificar cambios en la conducta de permanencia debido al tiempo de confinamiento, primero se compararon las medias del puntaje de permanencia dentro del compartimento blanco por medio de la prueba ANOVA de un factor (tiempo de confinamiento). Como se muestra en la figura 9, el análisis no mostró diferencias significativas entre los grupos de animales que fueron confinados dentro del compartimento blanco por 10 (n = 6), 20 (n = 8), 40 (n = 7) y 60 (n = 9) minutos después de haber sido inyectados i. p. con solución salina (NaCl 0.15M) ( $F_{(3,25)} = 1.225, p > 0.05$ ). Asimismo, no se encontraron diferencias significativas cuando se compararon las medias de cada grupo respecto a la exploración el día del pretest (media hipotética de 0) mediante una prueba t de una muestra (media 10' = 0.694 %  $\pm$  4.518,  $t_{(5)} = 0.153, p > 0.05$ ; media 20' = 8.141 %  $\pm$  6.365,  $t_{(7)} = 1.279, p > 0.05$ , media 40' = -2.833 %  $\pm$  3.359,  $t_{(6)} = 0.843, p > 0.05$ ; media 60' = -0.299 %  $\pm$  2.243,  $t_{(8)} = 0.133, p > 0.05$ ). Estos resultados indican que el confinamiento a diferentes temporalidades después de una inyección i. p. de NaCl 0.15 M no genera cambios en la permanencia hacia el compartimento blanco el día de la prueba.

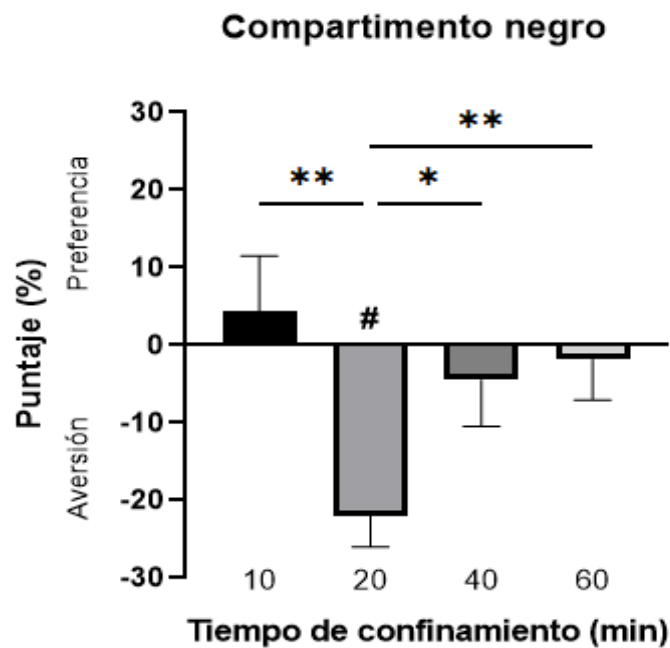




**Figura 9.** Efecto del tiempo de confinamiento sobre el puntaje de permanencia dentro del compartimento blanco. Los animales fueron confinados dentro del compartimento blanco por 10, 20, 40 y 60 minutos después de ser inyectados i. p. con solución salina (NaCl 0.15 M). El análisis mostró que la manipulación experimental no generó diferencias significativas entre los grupos. Asimismo, se observa que ninguno de los grupos exhibió cambios en el puntaje de permanencia dentro del compartimento blanco cuando se compararon los resultados del día de la prueba respecto a la exploración inicial. Datos representados como media del puntaje de tiempo destinado al compartimento negro  $\pm$  SEM para cada grupo.

Posteriormente, se compararon las medias del puntaje de permanencia dentro del compartimento negro con ayuda de una prueba ANOVA de un factor. El análisis mostró diferencias significativas entre las medias de los grupos ( $F_{(3,24)} = 4.184, P < 0.05$ ) y, por medio de la prueba post hoc de Fisher, se encontró que el grupo de ratas confinado por 20 minutos ( $n = 8$ ) dentro del compartimento negro después de recibir una inyección i. p. de LiCl 0.4 M fue significativamente diferente al compararlo contra los grupos de 10 ( $P < 0.01, n = 6$ ), 40 ( $P < 0.05, n = 7$ ) y 60 minutos ( $P < 0.01, n = 9$ ) a los que también se les administró LiCl 0.4 M. Además, al comparar las medias de los grupos respecto a la media hipotética de 0 por medio

de la prueba t de una muestra, se identificó que únicamente el grupo confinado por 20 minutos mostró diferencias significativas en relación a la exploración inicial (media 20' = -21.960 %  $\pm$ 4.063,  $t_{(7)} = 5.405$ ,  $p < 0.05$ ). Por el contrario, el puntaje de permanencia de los animales confinados por 10, 40 y 60 minutos no resultó ser diferente a la exploración inicial (media 10' = 4.468 %  $\pm$ 7.058,  $t_{(5)} = 0.633$ ,  $p > 0.05$ ; media 40' = -4.493 %  $\pm$ 5.968,  $t_{(6)} = 0.752$ ,  $p > 0.05$ ; media 60' = -1.487 %  $\pm$ 5.201,  $t_{(8)} = 0.355$ ,  $p > 0.05$ ) (ver figura 10). Los datos demuestran que la inducción del CPA en un modelo de roedor es posible utilizando una inyección de LiCl 0.4 M después de un solo ensayo y bajo condiciones temporales específicas de confinamiento, resultando el periodo de 20 minutos como el efectivo para generar un condicionamiento de aversión al contexto.



**Figura 10.** Tiempo de confinamiento requerido para el establecimiento del condicionamiento de aversión al lugar (CPA). Sólo los animales que fueron confinados dentro del compartimento negro por 20 minutos después de haber recibido una inyección i. p. de LiCl 0.4 M muestran una disminución en el puntaje de permanencia respecto a la exploración inicial. Este efecto no se

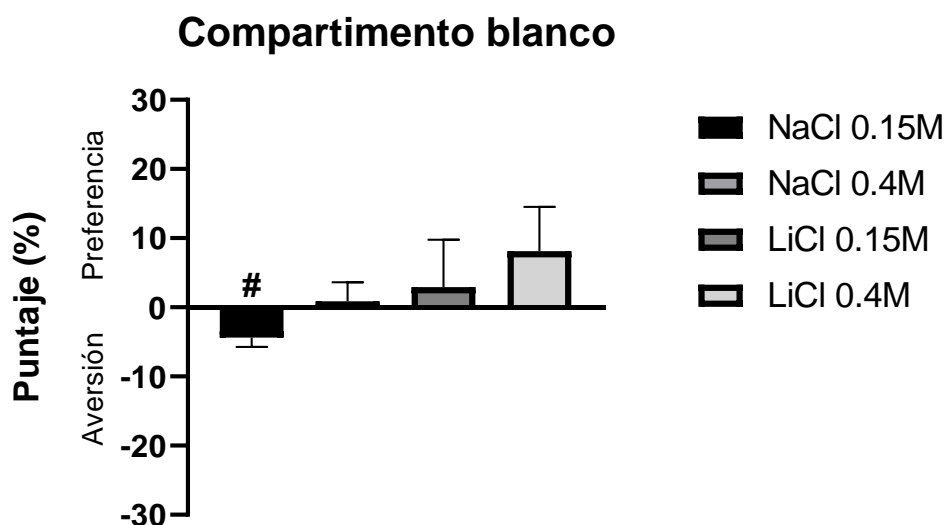
observa con las otras temporalidades. Datos representados como media del puntaje de tiempo destinado al compartimento negro  $\pm$  SEM para cada grupo.

\*\*  $p < .01$ , \*  $p < .05$  vs 20 minutos, #  $p < .05$  respecto a la exploración inicial.

## **8. 2. La inducción del CPA es dependiente de la información emética proveniente del LiCl y no del dolor abdominal**

Para los experimentos en los que se administraron diferentes soluciones isotónicas e hipertónicas, primero se evaluó la existencia de cambios en la permanencia dentro del compartimento blanco. Para ello, se compararon las medias del puntaje de permanencia de los grupos dentro del compartimento blanco con ayuda de una prueba ANOVA de un factor (solución administrada para inducir CPA). Como se muestra en la figura 11, aunque el análisis no mostró diferencias significativas en el puntaje de permanencia dentro del compartimento blanco ( $F_{(3,27)} = 1.128, P > 0.05$ ), cuando se aplicó una prueba t de una muestra para comparar el puntaje de permanencia respecto a la exploración el día del pretest se encontró que el grupo en el que se utilizó NaCl 0.15 M ( $n = 8$ ) como inductor de CPA mostró una disminución estadísticamente significativa en el puntaje de permanencia el día de la prueba (media NaCl 0.15 M =  $-4.373 \% \pm 1.348, t_{(7)} = 3.244, p < 0.05$ ). Por el contrario, los animales de los grupos en los que se utilizaron NaCl 0.4 M ( $n = 8$ ), LiCl 0.15 M ( $n = 7$ ) y LiCl 0.4 M ( $n = 8$ ) como inductores de CPA no resultaron ser diferentes a la exploración inicial (media NaCl 0.4 M =  $0.864 \% \pm 2.758, t_{(7)} = 0.313, p > 0.05$ ; media LiCl 0.15 M =  $2.946 \% \pm 6.815, t_{(6)} = 0.432, p > 0.05$ ; media LiCl 0.4 M =  $8.141 \% \pm 6.365, t_{(7)} = 1.279, p > 0.05$ ). Estos datos muestran que, aunque todos los grupos recibieron el mismo tratamiento dentro del compartimento blanco, sólo el grupo tratado con NaCl isotónico dentro del compartimento negro mostró una disminución en el puntaje de permanencia en el compartimento blanco. Este fenómeno podría explicarse desde la teoría del mapa

cognoscitivo propuesta por Tolman (1948), la cual indica que los organismos elaboran una representación mental del entorno que les indica la disposición de los elementos del espacio para desempeñarse adecuadamente dentro de los mismos (Epstein et al., 2017); en este sentido, parece ser que las consecuencias asociadas al compartimento negro determinan en gran medida la conducta de exploración dentro del compartimento blanco.

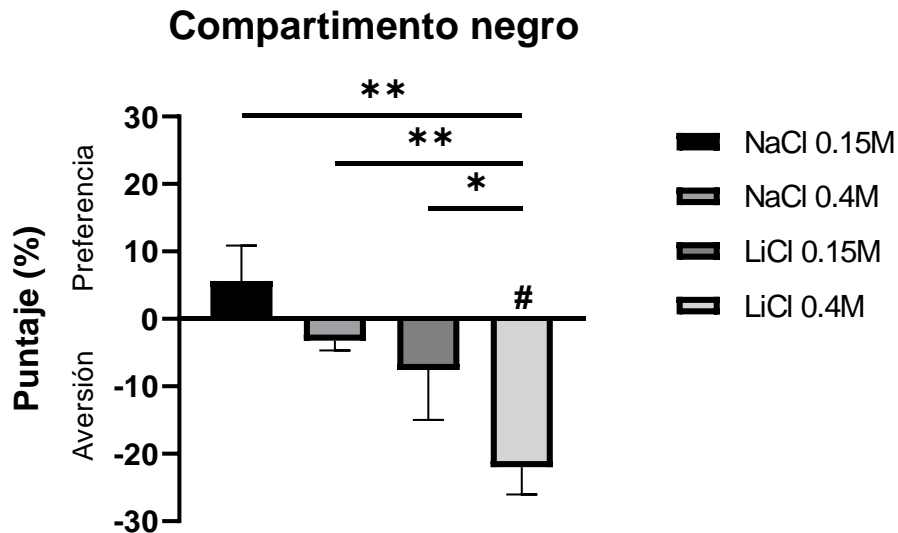


**Figura 11.** Puntaje de permanencia en el compartimento blanco en animales en los que se utilizaron soluciones en concentraciones isotónicas e hipertónicas como inductores de CPA. Durante el experimento, los animales recibieron la administración de diferentes soluciones en el compartimento negro para inducir un CPA, [NaCl isotónico (0.15 M), NaCl hipertónico (0.4 M), LiCl isotónico (0.15 M) o LiCl hipertónico (0.4 M)], además todos los animales recibieron una inyección i. p de solución salina dentro del compartimento blanco. Se observó que el grupo en el que se empleó NaCl 0.15 M como agente inductor de CPA exhibió una disminución estadísticamente significativa en la permanencia el día de la prueba. Por el contrario, los grupos en los que se utilizaron NaCl 0.4 M, LiCl 0.15 M y LiCl 0.4 M como inductores de CPA no fueron diferentes en relación con la exploración inicial (valor hipotético de 0). Datos representados como media del puntaje de tiempo destinado al compartimento negro  $\pm$  SEM para cada grupo.

#  $p < .05$  respecto a la exploración inicial

Posteriormente se analizaron las medias del puntaje de permanencia dentro del compartimento negro mediante una prueba ANOVA de un factor; como se muestra en la

figura 12, el análisis mostró diferencias significativas entre las medias de los grupos ( $F_{(3,27)} = 5.881, P < 0.001$ ). Por medio de la prueba de Fisher se encontró que el puntaje de los animales inyectados con LiCl 0.4 M ( $n = 8$ ) dentro del compartimento negro fue diferente en relación con los grupos de NaCl 0.15 M ( $P < 0.01, n = 8$ ), NaCl 0.4 M ( $P < 0.01, n = 8$ ) y LiCl 0.15 M ( $P < 0.05, n = 7$ ). Al comparar la media de puntaje de los grupos respecto a la exploración inicial (media hipotética de 0) por medio de la *prueba t* de una muestra se identificó que el puntaje de permanencia de los grupos NaCl 0.15 M, NaCl 0.4 M y LiCl 0.15 M fue similar al puntaje reportado el día del pretest (media NaCl 0.15 M =  $5.644 \% \pm 5.215, t_{(7)} = 1.082, p > 0.05$ ; media NaCl 0.4 M =  $-3.217 \% \pm 1.446, t_{(7)} = 2.225, p > 0.05$ ; media LiCl 0.15 M =  $-7.580 \% \pm 7.416, t_{(6)} = 1.022, p > 0.05$ ). Por el contrario, el grupo tratado con LiCl 0.4 M fue el único en exhibir una disminución estadísticamente significativa en el tiempo de permanencia (media LiCl 0.4 M =  $-21.960 \% \pm 4.063, t_{(7)} = 5.405, p < 0.01$ ) (ver figura 12). Estos resultados muestran que el dolor abdominal generado por la administración de una solución hipertónica no es suficiente para inducir CPA pues la administración de NaCl hipertónica no genera aversión al contexto. En cambio, la inyección de LiCl en una concentración hipertónica favorece la inducción del CPA, por lo que parece que se requiere de una solución que proporcione información emética a una concentración tóxica para establecer este tipo de aprendizaje.



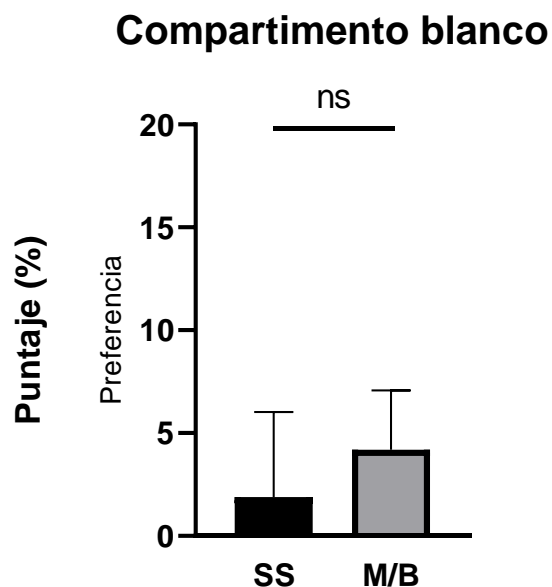
**Figura 12.** La administración de NaCl y LiCl en concentraciones isotónicas e hipertónicas tiene efectos diferenciales sobre la inducción del CPA. Durante el experimento los animales recibieron una inyección i. p de NaCl isotónico (0.15 M), NaCl hipertónico (0.4 M), LiCl isotónico (0.15 M) o LiCl hipertónico (0.4 M), dependiendo del grupo, dentro del compartimento negro. El grupo tratado con LiCl 0.4 M muestra un claro CPA mientras que los grupos tratados con NaCl 0.15 M, NaCl 0.4 M y LiCl 0.15 M dedican una cantidad de tiempo similar para explorar el compartimento negro en relación con la exploración inicial (valor hipotético de 0). Datos representados como media del puntaje de tiempo destinado al compartimento negro  $\pm$  SEM para cada grupo.

\*\*  $p < .01$ , \*  $p < .05$  vs grupos, #  $p < .05$  respecto a la exploración inicial

### 8. 3. La inactivación temporal del hipocampo dorsal impide la inducción del CPA

Para los experimentos de inactivación del hipocampo dorsal se compararon las medias del puntaje de permanencia dentro del compartimento blanco de los animales tratados con SS y M/B antes de la inducción del CPA. Para ello, se aplicó una *prueba t* de muestras independientes, la cual no mostró diferencias significativas entre los grupos ( $t_{(10)} = 0.471$ ,  $P > 0.05$ ). Asimismo, se realizó una *prueba t* de una sola muestra para comparar el puntaje de permanencia dentro del compartimento blanco de cada grupo respecto a la exploración inicial. Por medio de este análisis se encontró que ningún grupo presentó diferencias significativas respecto al valor hipotético de 0 (media SS = 1.893 %  $\pm$  4.135,  $t_{(4)} = 0.457$ ,

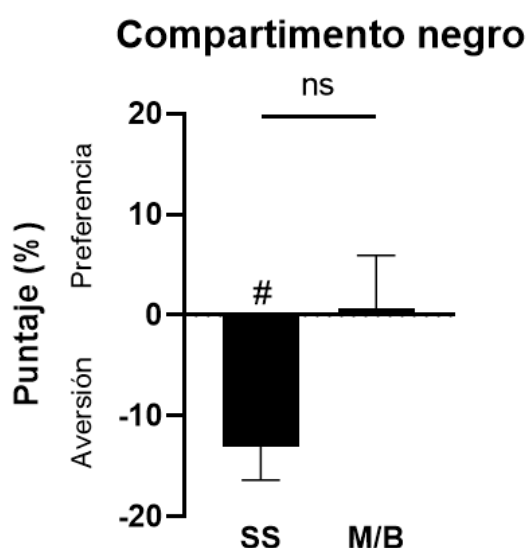
$p > 0.05$ ; media M/B = 4.190 %  $\pm$  2.886,  $t_{(6)} = 1.452$ ,  $p > 0.05$ ). Los resultados indican que el tratamiento con agonistas de los receptores GABA antes de la inducción del CPA no afecta la conducta de exploración del compartimento blanco entre los grupos o en relación con el día del pretest (ver figura 13).



**Figura 13.** La inactivación farmacológica del hipocampo previa a la inducción del CPA no genera cambios en la conducta de exploración del compartimento blanco. El análisis por medio de la prueba *t* de muestras independientes no mostró diferencias significativas entre los grupos a los que se administraron SS o M/B de manera i. c. antes de la inducción del CPA. Asimismo, al comparar el puntaje respecto a la exploración inicial mediante la prueba *t* de una muestra se encontró que ninguno de los grupos resultó ser diferente. Datos representados como media del puntaje de tiempo destinado al compartimento negro  $\pm$  SEM para cada grupo.

Cuando se analizaron las medias del puntaje de permanencia dentro del compartimento negro por medio de una *prueba t* de muestras independientes, nuevamente el análisis no mostró diferencias significativas entre el grupo tratado con SS y el grupo tratado con la mezcla M/B ( $t_{(10)} = 1.971$ ,  $P > 0.05$ ). Sin embargo, al comparar la media de puntaje de los grupos respecto a la exploración inicial (media hipotética de 0) para el mismo compartimento, se encontró

que el grupo que recibió una inyección intrahipocampal de SS antes del entrenamiento exhibió una diferencia estadísticamente significativa (media SS =  $-13.030\% \pm 3.343$ ,  $t_{(4)} = 3.897$ ,  $p < 0.05$ ), mientras que el grupo tratado con M/B no lo hizo (media M/B =  $0.637\% \pm 5.298$ ,  $t_{(6)} = 0.120$ ,  $p > 0.05$ ) (ver figura 14). Estos resultados demuestran que la inhibición de la porción dorsal del hipocampo con agonistas de los receptores GABA<sub>A</sub> y GABA<sub>B</sub> impidió la inducción del CPA.



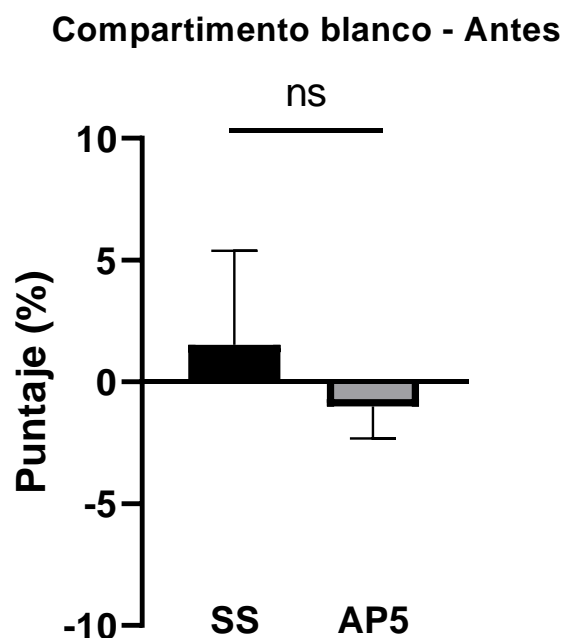
**Figura 14.** La inactivación farmacológica del hipocampo dorsal impide la formación del CPA. El análisis por medio de la *prueba t* de muestras independientes no mostró diferencias significativas entre los grupos. Al comparar el puntaje respecto a la exploración inicial (media hipotética de 0) mediante la *prueba t* de una muestra se encontró que el grupo tratado con SS mostró diferencias significativas, mientras que el grupo M/B no resultó ser diferente. Datos representados como media del puntaje de tiempo destinado al compartimento negro  $\pm$  SEM para cada grupo. #  $p < 0.05$  respecto a la exploración inicial.

#### 8. 4. El bloqueo de los receptores NMDA del hipocampo dorsal antes del condicionamiento no afecta el establecimiento del CPA

Con el fin de evaluar cambios en la aversión condicionada debido al bloqueo farmacológico de los receptores NMDA del HD antes del condicionamiento, primero se compararon los

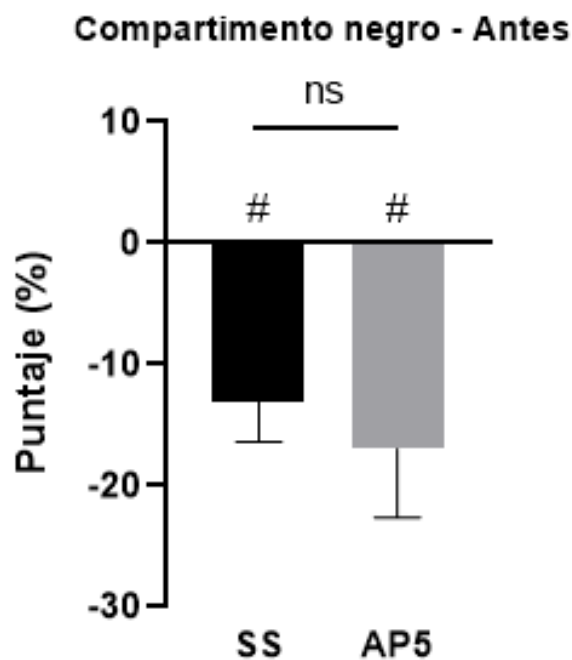


puntajes de permanencia de los animales dentro del compartimento blanco. Para ello, se aplicó una prueba t de Student de muestras independientes, la cual no mostró diferencias significativas entre los grupos ( $t_{(11)} = 0.741$ ,  $P > 0.05$ ). Asimismo, cuando se realizó una *prueba t* de una sola muestra para comparar las medias de los grupos respecto a la media hipotética de 0, se encontró que ninguno de los grupos fue diferente a la exploración inicial (media SS =  $1.519\% \pm 3.871$ ,  $t_{(4)} = 0.392$ ,  $p > 0.05$ ; media AP5 =  $-1.012\% \pm 1.302$ ,  $t_{(7)} = 0.777$ ,  $p > 0.05$ ) (ver figura 15). Estos resultados indican que el tratamiento con AP5 antes de la inducción del CPA no genera cambios en la permanencia dentro del compartimento blanco entre el grupo experimental y el grupo control.



**Figura 15.** El bloqueo de los receptores NMDA del hipocampo dorsal antes de la adquisición del CPA no genera cambios en la conducta de exploración del compartimento blanco entre los grupos. El análisis por medio de la prueba t de muestras independientes no mostró diferencias significativas entre los grupos a los que se administraron SS o AP5 de manera i. c. antes de la inducción del CPA. Asimismo, al comparar el puntaje de los grupos con respecto a la media hipotética de 0 mediante la *prueba t* de una muestra, ninguno de los grupos resultó ser diferente a la exploración inicial. Datos representados como media del puntaje de tiempo destinado al compartimento negro  $\pm$  SEM para cada grupo.

Además, se evaluó el efecto de la administración intrahipocampal de SS y AP5 antes de la inducción del CPA sobre el puntaje de permanencia dentro del compartimento negro. Como se muestra en la figura 16, el análisis no mostró diferencias significativas entre el grupo tratado con solución salina y el grupo tratado con antagonistas de los receptores NMDA ( $t_{(11)} = 0.507, P > 0.05$ ). Sin embargo, al comparar la media de puntaje de los grupos respecto a la exploración el día del pretest se encontró que ambos grupos mostraron una diferencia estadísticamente significativa (media SS =  $-13.030\% \pm 3.343, t_{(4)} = 3.897, p < 0.05$ ; media AP5 =  $-16.690\% \pm 5.670, t_{(7)} = 2.991, p < 0.05$ ). Estos resultados demuestran que el bloqueo de los receptores NMDA del hipocampo dorsal antes de la inducción del CPA no afecta el establecimiento de la memoria aversiva.



**Figura 16.** El bloqueo de los receptores NMDA del hipocampo dorsal antes de la adquisición del CPA no afecta el establecimiento de la memoria. El análisis por medio de la prueba *t* de muestras independientes no mostró diferencias significativas entre los grupos. Al comparar el puntaje de los grupos con respecto a la media hipotética de 0 mediante la prueba *t* de una muestra, se encontró

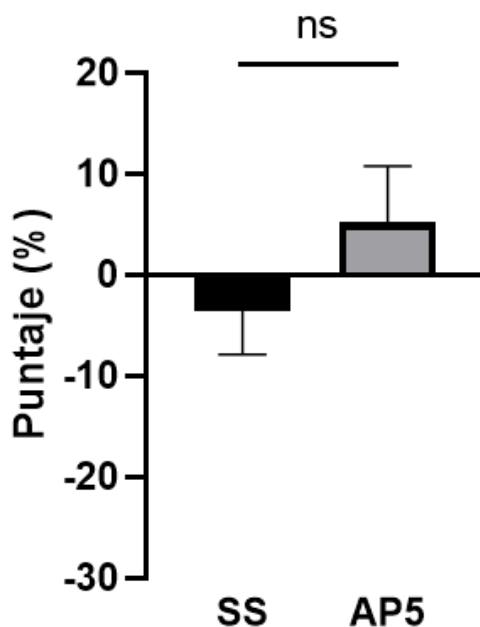
que los animales tratados con SS y AP5 antes de la adquisición del CPA fueron significativamente diferentes respecto a la exploración inicial, por lo que ambos grupos mostraron aversión al contexto el día de la prueba. Datos representados como media del puntaje de tiempo destinado al compartimento negro  $\pm$  SEM para cada grupo.

#  $p < .05$  respecto a la exploración inicial

## **8. 5. El bloqueo de los receptores NMDA del hipocampo dorsal después del condicionamiento impide la consolidación del CPA**

En cuanto a los experimentos en los que se administró AP5 después del entrenamiento, primero se compararon las medias de puntaje de permanencia de los grupos dentro del compartimento blanco. Como se muestra en la figura 17, el análisis por medio de una *prueba t* de muestras independientes no mostró diferencias significativas entre el grupo tratado con solución salina y el grupo tratado con AP5 ( $t_{(14)} = 1.253, P > 0.05$ ). Además, al comparar la media de puntaje de los grupos respecto a la exploración inicial se encontró que ninguno de los grupos exhibió diferencias estadísticamente significativas (media SS = 3.579 %  $\pm$  4.329,  $t_{(7)} = 0.826, p > 0.05$ ; media AP5 = 5.236 %  $\pm$  5.545,  $t_{(7)} = 0.994, p > 0.05$ ). Estos resultados indican que el tratamiento con antagonistas de los receptores NMDA posterior a la inducción del CPA no afecta la conducta de exploración dentro del compartimento blanco.

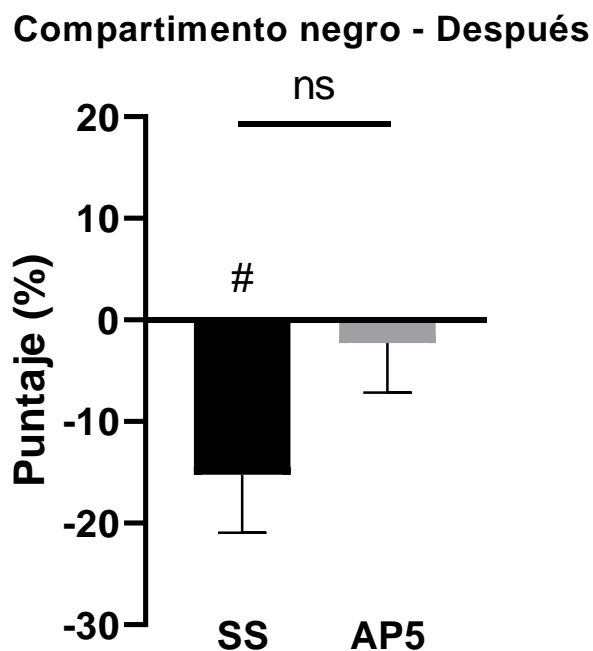
### Compartimento blanco - Después



**Figura 17.** El bloqueo de los receptores NMDA del hipocampo dorsal después de la inducción del CPA no genera cambios en la conducta de exploración del compartimento blanco. El análisis por medio de la prueba t de muestras independientes no mostró diferencias significativas entre los grupos. Al comparar el puntaje de los grupos con respecto a la media hipotética de 0 mediante la prueba t de una muestra, se encontró que ninguno de los grupos fue diferente de la exploración inicial. Datos representados como media del puntaje de tiempo destinado al compartimento negro  $\pm$  SEM para cada grupo.

Para ampliar la comprensión sobre este fenómeno, también se evaluó el efecto del bloqueo de receptores NMDA sobre el puntaje de permanencia dentro del compartimento negro. Aunque el análisis mediante una *prueba t* de muestras independientes no mostró diferencias significativas entre los grupos ( $t_{(14)} = 1.729, P > 0.05$ ), cuando se realizó una *prueba t* de una muestra para comparar la media de puntaje de los grupos respecto a la exploración inicial, se encontró que los animales del grupo tratado con solución salina después del confinamiento (media SS después =  $-15.24\% \pm 5.719, t_{(7)} = 2.665, p < 0.05$ ) resultaron diferentes a la media hipotética; asimismo, se observó que el grupo tratado con AP5 inmediatamente después del

confinamiento (media AP5 después =  $-2.279\% \pm 4.847$ ,  $t_{(7)} = 0.470$ ,  $p > 0.05$ ) no mostró aversión al contexto (ver figura 18). Estos resultados indican que el bloqueo de los receptores NMDA después de la asociación del EC con el EI impide el establecimiento del CPA, impactando directamente sobre la consolidación de la memoria (ver figura 17).



**Figura 18.** El bloqueo de los receptores NMDA del hipocampo dorsal durante la postadquisición del CPA afecta la consolidación de la memoria. El análisis por medio de la prueba t de muestras independientes no mostró diferencias significativas entre los grupos. Al comparar el puntaje de los grupos con respecto a la media hipotética de 0 mediante la prueba t de una muestra, se encontró que el grupo tratado con AP5 inmediatamente después del término del confinamiento no resultó significativamente diferentes a la exploración inicial, por lo que fue el único que no mostró aversión al contexto el día de la prueba. Datos representados como media del puntaje de tiempo destinado al compartimento negro  $\pm$  SEM para cada grupo.

#  $p < .05$  respecto a la exploración inicial.

## IX. Discusión

### 9. 1. La inducción del CPA es posible bajo condiciones temporales específicas de confinamiento

Uno de los hallazgos más importantes reportados durante la realización de este trabajo es la posibilidad de establecer un protocolo de aversión al contexto mediante la inducción de malestar gástrico en un solo ensayo. De manera general, los protocolos de CPA emplean inyecciones intraplantares de formalina (Gao et al., 2004; Jarrin et al., 2020; Jiang et al., 2014) o choques eléctricos (Gao et al., 2004) como estímulos incondicionados para generar aversión al contexto. Sin embargo, aunque estos estímulos resultan efectivos durante el establecimiento del CPA, no se acoplan al modelo de náusea anticipatoria pues aluden a una estimulación nociceptiva (exteroceptiva) en lugar de una de tipo visceral. Por otro lado, los experimentos en los que se emplean inductores de malestar gástrico requieren varios días de entrenamiento en los que se administra LiCl intraperitonealmente, esto debido a la dificultad que representa asociar un contexto con una señal de tipo visceral (Buffalari et al., 2016; Chan et al., 2013; Cloutier, Cavaliers y Ossenkopp, 2017; Cloutier, Cavaliers y Ossenkopp, 2018; Cunningham et al., 2006; Doobay et al., 2021; Jiang et al., 2014; Kramar et al., 2021; Tenk, Kavaliers y Ossenkopp, 2005). En este sentido, aunque experimentalmente se ha demostrado que la facilidad para establecer un aprendizaje de evitación depende de la modalidad sensorial de los estímulos utilizados (p. ej. sabores con señales viscerales o claves contextuales con estímulos nociceptivos) (García y Koelling, 1966), el presente trabajo demuestra que la concentración de LiCl utilizada durante este protocolo es suficiente para establecer el CPA en un solo ensayo. Es importante mencionar que la efectividad de la asociación entre el LiCl y las claves contextuales de la caja de condicionamiento depende de las condiciones de confinamiento bajo las que se realiza. Durante la etapa de estandarización, los animales

fueron confinados dentro de los compartimentos por 10, 20, 40 o 60 minutos para evaluar el efecto del tiempo de confinamiento sobre la inducción del CPA. Los resultados muestran que, mientras que la restricción en un compartimento por 10, 40 y 60 minutos no permite el condicionamiento de aversión al lugar, el confinamiento por 20 minutos resulta efectivo para su establecimiento, esto probablemente por el efecto farmacológico del LiCl. Previamente se ha reportado que el pico de acción del LiCl se produce entre los 15 y 30 minutos posteriores a su exposición (Parker et al., 1984; Tenk, Kavaliers y Ossenkopp, 2005); debido a lo anterior, se presume que los animales que fueron confinados durante 20 minutos experimentaron los síntomas de malestar gástrico mientras se encontraban dentro del compartimento negro. En lo que respecta a los grupos de 40 y 60 minutos, es posible que la exposición prolongada al contexto promoviera que el efecto del LiCl desapareciera dentro del compartimento condicionado, impidiendo la correcta asociación de los estímulos. Por otro lado, el confinamiento por un periodo de 10 minutos parece ser insuficiente para que los animales experimenten síntomas de malestar dentro de la caja de condicionamiento, haciendo ineficiente la inducción del CPA. En cualquiera de las tres condiciones, la asociación entre el contexto y el malestar gástrico no es óptima, llevando a fallas en la inducción de la aversión al lugar. Por consiguiente, confinar al animal durante 20 minutos en un contexto novedoso después de haber recibido una inyección i. p de LiCl permite establecer un CPA robusto en un solo ensayo.

Es importante mencionar que, aunque no se observaron cambios en la permanencia dentro del compartimento blanco, el grupo confinado durante 20 minutos mostró una tendencia hacia el incremento en el tiempo de permanencia de este compartimento el día de la prueba. La reducción en el tiempo de permanencia en el compartimento negro y el aumento en el

compartimento blanco sugiere que el aparato es procesado como un todo, por lo que el contexto negro adquiere una valencia aversiva, mientras que al contexto blanco se le confiere un significado de seguridad. Esto es coherente con lo que se ha reportado en protocolos de preferencia al lugar inducido por drogas de abuso; de acuerdo con Scoles y Siegel (1986), cuando las ratas son entrenadas en una caja de dos compartimentos, un contexto es asociado con un estímulo incondicionado apetitivo mientras que el contexto contrario es asociado con la administración de un estímulo inocuo como la solución salina. Pese a que este procedimiento se utiliza como un control para identificar claramente las propiedades recompensantes de una sustancia de abuso, se ha sugerido que la tendencia de aproximarse a un contexto en particular implica que el animal evite el otro; por ende, la conducta de exploración entre los dos espacios depende en gran medida de la información asociada a cada compartimento (Scoles y Siegel, 1986). Aunque estos datos suelen pasar desapercibidos en investigaciones de condicionamiento de aversión al lugar, el presente trabajo muestra que es preciso hacer una evaluación de la conducta de exploración dentro de los diferentes compartimentos que componen los aparatos de condicionamiento pues brindan información valiosa sobre el procesamiento de las claves contextuales.

## **9. 2. La inducción del CPA requiere de la información emética proveniente del LiCl**

Dentro de la literatura del condicionamiento de aversión, trabajos anteriores han mostrado que existen sustancias que, cuando son inyectadas intraperitonealmente, son capaces de generar dolor visceral (p. ej. ácido acético) (Giesler y Liebeskind, 1976) e inducir aversión al contexto (Bagdas et al., 2016). En este sentido, para evaluar si la inducción del CPA había sido producida por el malestar gástrico generado por el LiCl 0.4 M o por el dolor abdominal generado por la misma solución, se evaluó el efecto de la administración de soluciones



isotónicas e hipertónicas de NaCl y LiCl sobre la respuesta de aversión. Los resultados muestran que, a pesar de que se ha reportado que la inyección i.p. de NaCl hipertónico promueve la expresión de respuestas típicas asociadas al dolor visceral (p. ej. contracción de la musculatura abdominal, rotación hacia dentro de una pata trasera, alargamiento del cuerpo o arqueado de la espalda) (Giesler y Liebeskind, 1976), sólo la concentración de LiCl hipertónico (0.4 M) generó un condicionamiento contextual de aversión medido como una disminución en el tiempo de permanencia dentro del compartimento negro en relación al entrenamiento. Estos resultados son congruentes con los trabajos en los que se reporta que el NaCl a altas concentraciones no induce un condicionamiento de aversión al sabor (Guzmán-Ramos et al., 2010 y 2012) y, por ende, es inefectivo al momento de generar aversión al contexto. Asimismo, los datos obtenidos demuestran, por un lado, que la inducción del CPA requiere de la información emética provista por el litio pues sólo este genera claras manifestaciones de malestar gástrico como contracciones involuntarias del abdomen y diarrea (Bernstein et al., 1992; Nachman y Ashe, 1973). Por otro lado, los resultados indican que la efectividad de LiCl para condicionar la aversión al contexto depende de su toxicidad, pues una menor concentración no genera el mismo efecto.

Es importante mencionar que, derivado de los datos obtenidos dentro del compartimento blanco, se observó que solo el grupo tratado con NaCl 0.15 M mostró una disminución en la permanencia en el compartimento blanco en comparación con el resto de los grupos. Nuevamente, este resultado es congruente con el argumento de que las consecuencias asociadas a cada compartimento determinan la conducta de exploración (Scoles y Siegel, 1986). Es decir, debido a que la administración de solución salina dentro del compartimento negro es considerada como un estímulo inocuo, dicho contexto se reconoce como un entorno

seguro, mientras que el compartimento blanco conserva sus cualidades aversivas debido a la fotofobia natural de los animales (Barker et al., 2010). Por el contrario, los grupos en los que se administró NaCl 0.4 M, LiCl 0.15 M y LiCl 0.4 M no mostraron cambios en la permanencia hacia el contexto blanco, por lo que se infiere que el dolor generado por la hipertonicidad del NaCl y la toxicidad proveniente del litio confieren al compartimento negro una valencia negativa que contrarresta las cualidades negativas del compartimento blanco.

### **9. 3. El hipocampo dorsal participa en el establecimiento del CPA**

Desde el descubrimiento de las células de lugar, la literatura en torno al hipocampo ha mostrado que su región dorsal es importante para la cognición espacial, ya que la inactivación farmacológica o por medio de lesiones genera alteraciones en el desempeño de tareas espaciales (Cimadevilla, Fenton y Bures, 2000; Fenton y Bures, 1993; Hitchcock y Lattal, 2018; McEown y Treit, 2010). De manera particular, se ha demostrado que el hipocampo dorsal participa en tareas de evitación de lugar (p. ej. condicionamiento de miedo al contexto) en las que las claves contextuales de un entorno específico predicen la entrega de un castigo (p. e. choque eléctrico) (Cimadevilla, Fenton y Bures, 2000). Aunque hasta el momento se ha reconocido la importancia del hipocampo dorsal en tareas que requieren del reconocimiento de claves espaciales, gran parte de la investigación se ha enfocado en evaluar su participación en pruebas que utilizan estímulos exteroceptivos como estímulos incondicionados. Por lo anterior, aún se desconoce el papel de esta estructura durante el establecimiento de tareas de aversión inducidas por señales interoceptivas o de tipo visceral.

Con el fin de evaluar la participación del hipocampo dorsal durante el establecimiento del CPA inducido por señales de malestar gástrico, uno de los objetivos del presente trabajo consistió en administrar una mezcla de agonistas de los receptores GABA<sub>A</sub> y GABA<sub>B</sub> antes

de realizar la asociación del contexto con la inyección i. p. de LiCl. Los resultados mostraron que la inactivación farmacológica del hipocampo dorsal impidió el establecimiento del CPA, ya que los animales del grupo M/B no mostraron una respuesta de aversión el día de la prueba. Para explicar este fenómeno, trabajos previos han reportado que la inactivación del hipocampo impide el condicionamiento de lugar, promoviendo que los animales exploren con mayor frecuencia los espacios en los que se indujo el condicionamiento aversivo en el caso del aprendizaje de evitación (Cimadevilla, Fenton y Bures, 2000). Por otro lado, se ha encontrado que el hipocampo también es responsable del aprendizaje de tareas asociativas, especialmente durante la primera fase del entrenamiento (Asaad, Rainer y Miller, 1998; Borders et al., 2017). En este caso, los resultados sugieren que los animales tratados con muscimol y baclofen antes de la inducción del CPA experimentaron una alteración en el procesamiento de los estímulos que impidió el establecimiento del aprendizaje. En consecuencia, sólo los animales en los que se realizó esta manipulación farmacológica mostraron afectaciones en la prueba de memoria a largo plazo.

De manera general, los resultados provistos hasta ahora demuestran que el hipocampo dorsal participa en el establecimiento del CPA inducido por malestar gástrico; sin embargo, es importante mencionar que la porción ventral del hipocampo también podría tener un papel funcional durante la adquisición de esta tarea pues es una estructura que se encuentra íntimamente relacionada con aspectos emocionales, especialmente con tareas que involucran situaciones de estrés o de tipo ansiogénicas (Wang et al., 2019). Aunque en la actualidad existen pocos trabajos que relacionan el papel del hipocampo ventral sobre el establecimiento del CPA inducido por señales de malestar gástrico, resulta conveniente explorar esta interrogante para contribuir a la descripción de los sustratos neurales que subyacen al CPA.

#### **9. 4. El hipocampo dorsal participa en la consolidación del CPA mediante la activación de receptores tipo NMDA**

Un hallazgo importante que derivó de los experimentos realizados es que los receptores glutamatérgicos tipo NMDA participan en el establecimiento del CPA inducido por el malestar gástrico. Como se describió en la sección de resultados, cuando se administró el antagonista de los receptores NMDA, el AP5 antes del condicionamiento no se observaron alteraciones en la inducción del CPA. Esto contrasta con diversos trabajos en los que se ha demostrado que los receptores NMDA del hipocampo tienen un papel funcional en la adquisición de memorias espaciales (Bast, da Silva y Morris, 2005; Liang et al., 1994; Yamada et al., 2017). Una posible explicación para este fenómeno radica en el momento de la administración. De acuerdo con la literatura, en la mayoría de los experimentos en los que se administra AP5 para impedir el establecimiento de una memoria espacial, la inyección intrahipocampal se realiza entre 10 o 15 minutos antes de la presentación de los estímulos (Liang et al., 1994; Yamada et al., 2017); en el caso particular de este trabajo, la administración del fármaco se realizó justo antes de la inducción del CPA, por lo que es posible que el bloqueo de los receptores NMDA y su consecuente cascada de señalización comenzaran después de que los mecanismos moleculares destinados al establecimiento del CPA ya se habían puesto en marcha. Por otro lado, también es posible que la señalización del LiCl no sea procesada en el hipocampo dorsal y que, por lo tanto, su establecimiento dependa de estructuras asociadas al procesamiento de respuestas de estrés y ansiedad como la amígdala o la porción ventral del hipocampo (Ambrogio-Lorenzini et al, 1997; Bagot et al., 2015; Bian et al., 2019; Jimenez et al., 2018; Marsurkar, 2018; Pinto et al., 2015; Roesler et al., 2000; Zhang et al., 2014).

En lo que refiere al experimento en el que se administró AP5 inmediatamente después de la asociación entre estímulos, los resultados son coherentes con otra serie de trabajos que relacionan la actividad de los receptores NMDA con la consolidación de trazos de memoria de diferente naturaleza (p. ej. memoria espacial y memoria de reconocimiento de objetos) (Goosens y Maren, 2004; Marcondes et al. 2020; Osorio-Gómez et al. 2019). De acuerdo con la literatura, la activación de los receptores NMDA es el mecanismo celular que ha sido propuesto como el principal responsable de la consolidación de memorias de tipo asociativo. Es decir, cuando el organismo está sujeto a un aprendizaje asociativo, la estimulación promueve la liberación de glutamato de la presinapsis a la postsinapsis; una vez que el glutamato se encuentra disperso en la hendidura sináptica, este es capaz de unirse a los receptores tipo AMPA y NMDA. La activación de los receptores AMPA es rápida y transitoria, por lo que, inicialmente, su función se limita a mantener la transmisión sináptica basal. Sin embargo, después de que la neurona postsináptica se encuentra despolarizada por el influjo de cationes asociado a la activación de los receptores AMPA, la coincidencia entre la activación de la presinapsis y la despolarización postsináptica promueve que el poro de los receptores NMDA, el cual se encontraba bloqueado por un ión de  $Mg^{2+}$ , se disocie del canal. Una vez abierto, la unión del glutamato al receptor NMDA favorece el flujo de  $Ca^{2+}$  al interior de la célula. Este evento genera que las cinasas asociadas a calcio como la CaMKII fosforilen otras proteínas para generar dos procesos: por un lado, permitir la inserción de nuevos receptores AMPA en la membrana postsináptica y, por otro lado, activar a la PKA, la cual se encarga de fosforilar al factor de transcripción CREB para inducir la transcripción de genes y realizar modificaciones morfofuncionales duraderas en la neurona (Blanke y VanDongen, 2008; Loubon y Franco, 2010; Kandel 2001a y 2001b). Dicho lo anterior, al bloquear farmacológicamente los receptores NMDA por medio de la administración

intrahipocampal de AP5 se impiden los mecanismos moleculares asociados a la consolidación de la memoria.

## **X. Conclusiones**

El presente trabajo se realizó con el fin de evaluar el papel funcional del hipocampo dorsal en el establecimiento del condicionamiento de aversión al lugar. A partir de los resultados obtenidos se pudo concluir que la inducción de CPA utilizando LiCl como generador de malestar gástrico es posible bajo condiciones temporales específicas de confinamiento, las cuales dependen en gran medida del pico de acción de la solución empleada como estímulo incondicionado. Asimismo, se llegó a la conclusión que la inducción del CPA requiere de la información emética asociada a la administración del LiCl y no del dolor abdominal generado por la inyección de una solución hipertónica. Finalmente, los resultados obtenidos por medio de las manipulaciones farmacológicas demuestran que el hipocampo participa en el establecimiento del CPA, favoreciendo particularmente la consolidación de la memoria por medio de los receptores glutamatérgicos tipo NMDA.

Al comparar los hallazgos obtenidos con los antecedentes reportados en la literatura se observa que la mayoría de los trabajos enfocados en dilucidar la neurobiología de la náusea anticipatoria claman a este fenómeno como uno dependiente de estructuras asociadas con el procesamiento emocional como la corteza frontal, la amígdala, entre otros (Kenward et al., 2015; Napadow et al., 2013). A pesar de que el establecimiento de la náusea anticipatoria en contextos hospitalarios tiene un componente espacial, hasta ahora se había ignorado la relevancia de regiones como la formación hipocampal en la formación de esta respuesta anticipatoria. Por ende, la importancia de los hallazgos reportados en el presente trabajo radica en que su descripción podría coadyuvar en la comprensión de los mecanismos

neurobiológicos involucrados en la formación de un CPA inducido por malestar gástrico los cuales, a su vez, están relacionados con el establecimiento de la respuesta de náusea anticipatoria observada en pacientes bajo tratamiento quimioterapéutico.

## XI. Referencias

- Aapro, M. S., Molassiotis, A., & Olver, I. (2005). Anticipatory nausea and vomiting. *Supportive Care in Cancer: Official Journal of the Multinational Association of Supportive Care in Cancer*, 13(2), 117–121. <https://doi.org/10.1007/s00520-004-0745-8>
- Adel, N. (2017). Overview of chemotherapy-induced nausea and vomiting and evidence-based therapies. *The American Journal of Managed Care*, 23(14 Suppl), S259–S265.
- Ambrogio Lorenzini, C. G., Baldi, E., Bucherelli, C., Sacchetti, B., & Tassoni, G. (1997). Role of ventral hippocampus in acquisition, consolidation and retrieval of rat's passive avoidance response memory trace. *Brain Research*, 768(1-2), 242–248. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(97\)00651-3](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(97)00651-3)
- Asaad, W. F., Rainer, G., & Miller, E. K. (1998). Neural activity in the primate prefrontal cortex during associative learning. *Neuron*, 21(6), 1399–1407. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(00\)80658-3](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(00)80658-3)
- Bagdas, D., Muldoon, P. P., AlSharari, S., Carroll, F. I., Negus, S. S., & Damaj, M. I. (2016). Expression and pharmacological modulation of visceral pain-induced conditioned place aversion in mice. *Neuropharmacology*, 102, 236–243. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2015.11.024>
- Bagot, R. C., Parise, E. M., Peña, C. J., Zhang, H. X., Maze, I., Chaudhury, D., Persaud, B., Cachope, R., Bolaños-Guzmán, C. A., Cheer, J. F., Deisseroth, K., Han, M. H., & Nestler, E. J. (2015). Ventral hippocampal afferents to the nucleus accumbens regulate susceptibility to depression. *Nature Communications*, 6, 7062. <https://doi.org/10.1038/ncomms8062>
- Bannerman, D. M., Sprengel, R., Sanderson, D. J., McHugh, S. B., Rawlins, J. N., Monyer, H., & Seeburg, P. H. (2014). Hippocampal synaptic plasticity, spatial memory and anxiety. *Nature Reviews Neuroscience*, 15(3), 181–192. <https://doi.org/10.1038/nrn3677>
- Barker, D. J., Sanabria, F., Lasswell, A., Thrailkill, E. A., Pawlak, A. P., & Killeen, P. R. (2010). Brief light as a practical aversive stimulus for the albino rat. *Behavioural Brain Research*, 214(2), 402–408. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2010.06.020>
- Bast, T., da Silva, B. M., & Morris, R. G. (2005). Distinct contributions of hippocampal NMDA and AMPA receptors to encoding and retrieval of one-trial place memory. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 25(25), 5845–5856. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0698-05.2005>
- Bast, T., Zhang, W. N., & Feldon, J. (2003). Dorsal hippocampus and classical fear conditioning to tone and context in rats: effects of local NMDA-receptor blockade and stimulation. *Hippocampus*, 13(6), 657–675. <https://doi.org/10.1002/hipo.10115>
- Bian, X. L., Qin, C., Cai, C. Y., Zhou, Y., Tao, Y., Lin, Y. H., Wu, H. Y., Chang, L., Luo, C. X., & Zhu, D. Y. (2019). Anterior Cingulate Cortex to Ventral Hippocampus Circuit Mediates Contextual Fear Generalization. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 39(29), 5728–5739. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2739-18.2019>
- Bishnoi, I. R., Kavaliers, M., & Ossenkopp, K. P. (2023). Immune activation attenuates memory acquisition and consolidation of conditioned disgust (anticipatory nausea) in



- rats. *Behavioural Brain Research*, 439, 114250.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2022.114250>
- Blanke, M. L., & VanDongen, A. (2009). Activation Mechanisms of the NMDA Receptor. In A. M. Van Dongen (Ed.), *Biology of the NMDA Receptor*. CRC Press/Taylor & Francis.
- Bonne, O., Vythilingam, M., Inagaki, M., Wood, S., Neumeister, A., Nugent, A. C., Snow, J., Luckenbaugh, D. A., Bain, E. E., Drevets, W. C., & Charney, D. S. (2008). Reduced posterior hippocampal volume in posttraumatic stress disorder. *The Journal of Clinical Psychiatry*, 69(7), 1087–1091. <https://doi.org/10.4088/jcp.v69n0707>
- Borders, A. A., Aly, M., Parks, C. M., & Yonelinas, A. P. (2017). The hippocampus is particularly important for building associations across stimulus domains. *Neuropsychologia*, 99, 335–342.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2017.03.032>
- Brem, A. K., Ran, K., & Pascual-Leone, A. (2013). Learning and memory. *Handbook of Clinical Neurology*, 116, 693–737. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53497-2.00055-3>
- Bremner, J. Douglas, and Eric Vermetten. (2012). The Hippocampus and Post-Traumatic Disorders. *The Clinical Neurobiology of the Hippocampus: An integrative view* (Oxford, 2012; online edn, Oxford Academic, 20 Sept. 2012), <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780199592388.003.0014>.
- Buffalari, D. M., Mollica, J. K., Smith, T. T., Schassburger, R. L., Rinaman, L., Thiels, E., Donny, E. C., & Sved, A. F. (2016). Nicotine Enhances Footshock- and Lithium Chloride-Conditioned Place Avoidance in Male Rats. *Nicotine & Tobacco Research: Official Journal of the Society for Research on Nicotine and Tobacco*, 18(9), 1920–1923. <https://doi.org/10.1093/ntr/ntw098>
- Burman, M. A., & Gewirtz, J. C. (2007). Hippocampal activity, but not plasticity, is required for early consolidation of fear conditioning with a short trace interval. *The European Journal of Neuroscience*, 25(8), 2483–2490. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2007.05493.x>
- Camina, E., & Güell, F. (2017). The Neuroanatomical, Neurophysiological and Psychological Basis of Memory: Current Models and Their Origins. *Frontiers in Pharmacology*, 8, 438. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00438>
- Carlson, N. R., & Clark, D. P. (2014). *Fisiología de la conducta*. Madrid, España. Pearson Educación.
- Chan, M. Y., Cross-Mellor, S. K., Kavaliers, M., & Ossenkopp, K. P. (2013). Impairment of lithium chloride-induced conditioned gaping responses (anticipatory nausea) following immune system stimulation with lipopolysaccharide (LPS) occurs in both LPS tolerant and LPS non-tolerant rats. *Brain, Behavior, and Immunity*, 27(1), 123–132. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2012.10.005>
- Chan, A., Kim, H. K., Hsieh, R. K., Yu, S., de Lima Lopes, G., Jr, Su, W. C., Baños, A., Bhatia, S., Burke, T. A., & Keefe, D. M. (2015). Incidence and predictors of anticipatory nausea and vomiting in Asia Pacific clinical practice--a longitudinal analysis. *Supportive Care in Cancer : Official Journal of the Multinational Association of Supportive Care in Cancer*, 23(1), 283–291. <https://doi.org/10.1007/s00520-014-2375-0>
- Cholvin, T., Loureiro, M., Cassel, R., Cosquer, B., Herbeaux, K., de Vasconcelos, A. P., & Cassel, J. C. (2016). Dorsal hippocampus and medial prefrontal cortex each

- contribute to the retrieval of a recent spatial memory in rats. *Brain Structure & Function*, 221(1), 91–102. <https://doi.org/10.1007/s00429-014-0894-6>
- Cimadevilla, J. M., Fenton, A. A., & Bures, J. (2000). Functional inactivation of dorsal hippocampus impairs active place avoidance in rats. *Neuroscience Letters*, 285(1), 53–56. [https://doi.org/10.1016/s0304-3940\(00\)01019-3](https://doi.org/10.1016/s0304-3940(00)01019-3)
- Cloutier, C. J., Kavaliers, M., & Ossenkopp, K. P. (2017). Rodent sex differences in disgust behaviors (anticipatory nausea) conditioned to a context associated with the effects of the toxin LiCl: Inhibition of conditioning following immune stimulation with lipopolysaccharide. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 152, 4–12. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2016.08.006>
- Cloutier, C. J., Kavaliers, M., & Ossenkopp, K. P. (2018). Lipopolysaccharide (LPS) induced sickness in adolescent female rats alters the acute-phase response and lithium chloride (LiCl)- induced impairment of conditioned place avoidance/aversion learning, following a homotypic LPS challenge in adulthood. *Behavioural Brain Research*, 351, 121–130. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2018.05.033>
- Cloutier, C. J., Zevy, D. L., Kavaliers, M., & Ossenkopp, K. P. (2018). Conditioned disgust in rats (anticipatory nausea) to a context paired with the effects of the toxin LiCl: Influence of sex and the estrous cycle. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 173, 51–57. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2018.08.008>
- Colgin L. L. (2020). Five Decades of Hippocampal Place Cells and EEG Rhythms in Behaving Rats. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 40(1), 54–60. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0741-19.2019>
- Collins, K.H., & Tatum, A.L. (1925). A conditioned salivary reflex established by chronic morphine poisoning. *American Journal of Physiology*, 74, 14–15
- Corcoran, K. A., Desmond, T. J., Frey, K. A., & Maren, S. (2005). Hippocampal inactivation disrupts the acquisition and contextual encoding of fear extinction. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 25(39), 8978–8987. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2246-05.2005>
- Cunningham, C. L., Ferree, N. K., & Howard, M. A. (2003). Apparatus bias and place conditioning with ethanol in mice. *Psychopharmacology*, 170(4), 409–422. <https://doi.org/10.1007/s00213-003-1559-y>
- Cunningham, C. L., Gremel, C. M., & Groblewski, P. A. (2006). Drug-induced conditioned place preference and aversion in mice. *Nature Protocols*, 1(4), 1662–1670. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.279>
- Cunningham, C. L., Patel, P., & Milner, L. (2006). Spatial location is critical for conditioning place preference with visual but not tactile stimuli. *Behavioral Neuroscience*, 120(5), 1115–1132. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.120.5.1115>
- Dashniani, M. G., Burjanadze, M. A., Chkhikvishvili, N. C., Solomonia, R. O., Kandashvili, M., Naneishvili, T. L., Beselia, G. V., Kruashvili, L. B., & Chighladze, M. R. (2020). Modulation of spatial memory and expression of hippocampal neurotransmitter receptors by selective lesion of medial septal cholinergic and GABAergic neurons. *Experimental Brain Research*, 238(10), 2385–2397. <https://doi.org/10.1007/s00221-020-05889-6>
- Doobay, M., Cross-Mellor, S. K., Wah, D. T. O., Kavaliers, M., & Ossenkopp, K. P. (2021). Toxin-induced aversive context conditioning: Assessing active aversive behaviors conditioned to the context of an automated activity monitor. *Physiology & Behavior*, 240, 113559. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2021.113559>

- Dudai, Y., Karni, A., & Born, J. (2015). The Consolidation and Transformation of Memory. *Neuron*, 88(1), 20–32. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.09.004>
- Dudai, Y., & Morris, R. G. (2000). To consolidate or not to consolidate: what are the questions?. *Brain, perception, memory: Advances in cognitive neuroscience*, 149–162.
- Doobay, M., Cross-Mellor, S. K., Wah, D. T. O., Kavaliers, M., & Ossenkopp, K. P. (2021). Toxin-induced aversive context conditioning: Assessing active aversive behaviors conditioned to the context of an automated activity monitor. *Physiology & Behavior*, 240, 113559. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2021.113559>
- Epstein, R. A., Patai, E. Z., Julian, J. B., & Spiers, H. J. (2017). The cognitive map in humans: spatial navigation and beyond. *Nature Neuroscience*, 20(11), 1504–1513. <https://doi.org/10.1038/nn.4656>
- Fanselow, M. S., & Dong, H. W. (2010). Are the dorsal and ventral hippocampus functionally distinct structures?. *Neuron*, 65(1), 7–19. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.11.031>
- Fenton, A. A., & Bures, J. (1993). Place navigation in rats with unilateral tetrodotoxin inactivation of the dorsal hippocampus: place but not procedural learning can be lateralized to one hippocampus. *Behavioral Neuroscience*, 107(4), 552–564. <https://doi.org/10.1037//0735-7044.107.4.552>
- Fioravante, D., Antzoulatos, E. G., & Byrne, J. H. (2009). 18 Sensitization and Habituation: Invertebrate. *Concise Learning and Memory: The Editor's Selection*, 373.
- Frey, B. N., Andreazza, A. C., Nery, F. G., Martins, M. R., Quevedo, J., Soares, J. C., & Kapczinski, F. (2007). The role of hippocampus in the pathophysiology of bipolar disorder. *Behavioural Pharmacology*, 18(5-6), 419–430. <https://doi.org/10.1097/FBP.0b013e3282df3cde>
- Fu, B., Wang, N., Tan, H. Y., Li, S., Cheung, F., & Feng, Y. (2018). Multi-Component Herbal Products in the Prevention and Treatment of Chemotherapy-Associated Toxicity and Side Effects: A Review on Experimental and Clinical Evidences. *Frontiers in Pharmacology*, 9, 1394. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01394>
- Gao, Y. J., Ren, W. H., Zhang, Y. Q., & Zhao, Z. Q. (2004). Contributions of the anterior cingulate cortex and amygdala to pain- and fear-conditioned place avoidance in rats. *Pain*, 110(1-2), 343–353. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2004.04.030>
- Garcia, J., & Koelling, R. A. (1966). Relation of cue to consequence in avoidance learning, *Psychon*, 4, 123-124.
- Giesler, G. J., Jr, & Liebeskind, J. C. (1976). Inhibition of visceral pain by electrical stimulation of the periaqueductal gray matter. *Pain*, 2(1), 43–48. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(76\)90045-2](https://doi.org/10.1016/0304-3959(76)90045-2)
- Goltseker, K., & Barak, S. (2018). Flood-conditioned place aversion as a novel non-pharmacological aversive learning procedure in mice. *Scientific Reports*, 8(1), 7280.
- Goosens, K. A., & Maren, S. (2004). NMDA receptors are essential for the acquisition, but not expression, of conditional fear and associative spike firing in the lateral amygdala. *The European Journal of Neuroscience*, 20(2), 537–548. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2004.03513.x>
- Guzmán-Ramos, K., Osorio-Gómez, D., Moreno-Castilla, P., & Bermúdez-Rattoni, F. (2010). Off-line concomitant release of dopamine and glutamate involvement in taste memory consolidation. *Journal of Neurochemistry*, 114(1), 226–236. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2010.06758.x>

- Guzmán-Ramos, K., Osorio-Gómez, D., Moreno-Castilla, P., & Bermúdez-Rattoni, F. (2012). Post-acquisition release of glutamate and norepinephrine in the amygdala is involved in taste-aversion memory consolidation. *Learning & Memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, 19(6), 231–238. <https://doi.org/10.1101/lm.024703.111>
- Hall, G. (1997). Context aversion, Pavlovian conditioning, and the psychological side effects of chemotherapy. *European Psychologist*, 2(2), 118–124.
- Handley, S. L., & Mithani, S. (1984). Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in a maze-exploration model of 'fear'-motivated behaviour. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 327(1), 1–5. <https://doi.org/10.1007/BF00504983>
- Herring, B. E., & Nicoll, R. A. (2016). Long-Term Potentiation: From CaMKII to AMPA Receptor Trafficking. *Annual Review of Physiology*, 78, 351–365. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021014-071753>
- Hitchcock, L. N., & Lattal, K. M. (2018). Involvement of the dorsal hippocampus in expression and extinction of cocaine-induced conditioned place preference. *Hippocampus*, 28(3), 226–238. <https://doi.org/10.1002/hipo.22826>
- Holt, W., & Maren, S. (1999). Muscimol inactivation of the dorsal hippocampus impairs contextual retrieval of fear memory. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 19(20), 9054–9062. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.19-20-09054.1999>
- Horn C. C. (2014). The medical implications of gastrointestinal vagal afferent pathways in nausea and vomiting. *Current Pharmaceutical Design*, 20(16), 2703–2712. <https://doi.org/10.2174/13816128113199990568>
- Hou, Y. Y., Liu, Y., Kang, S., Yu, C., Chi, Z. Q., & Liu, J. G. (2009). Glutamate receptors in the dorsal hippocampus mediate the acquisition, but not the expression, of conditioned place aversion induced by acute morphine withdrawal in rats. *Acta Pharmacologica Sinica*, 30(10), 1385–1391. <https://doi.org/10.1038/aps.2009.130>
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI). (2022). Principales resultados del Censo de Población y Vivienda 2020. Estados Unidos Mexicanos. Recuperado de <https://up-pe.libguides.com/c.php?g=1043492&p=7615227>
- Instituto Nacional del Cáncer. (2022). Nausea and vomiting (PDQ). Recuperado de <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/side-effects>
- Jacobs, L. F., & Schenk, F. (2003). Unpacking the cognitive map: The parallel map theory of hippocampal function. *Psychological Review*, 110(2), 285–315. <https://doi.org/10.1037/0033-295X.110.2.285>
- Jarrin, S., Pandit, A., Roche, M., & Finn, D. P. (2020). Differential Role of Anterior Cingulate Cortical Glutamatergic Neurons in Pain-Related Aversion Learning and Nociceptive Behaviors in Male and Female Rats. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 14, 139. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2020.00139>
- Jiang, Z. C., Pan, Q., Zheng, C., Deng, X. F., Wang, J. Y., & Luo, F. (2014). Inactivation of the prelimbic rather than infralimbic cortex impairs acquisition and expression of formalin-induced conditioned place avoidance. *Neuroscience Letters*, 569, 89–93. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2014.03.074>
- Jimenez, J. C., Su, K., Goldberg, A. R., Luna, V. M., Biane, J. S., Ordek, G., Zhou, P., Ong, S. K., Wright, M. A., Zweifel, L., Paninski, L., Hen, R., & Kheirbek, M. A. (2018). Anxiety Cells in a Hippocampal-Hypothalamic Circuit. *Neuron*, 97(3), 670–683.e6. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.01.016>

- Johansen, J. P., & Fields, H. L. (2004). Glutamatergic activation of anterior cingulate cortex produces an aversive teaching signal. *Nature Neuroscience*, 7(4), 398–403. <https://doi.org/10.1038/nn1207>
- Johansen, J. P., Fields, H. L., & Manning, B. H. (2001). The affective component of pain in rodents: direct evidence for a contribution of the anterior cingulate cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(14), 8077–8082. <https://doi.org/10.1073/pnas.141218998>
- Jordan, K., Schmoll, H. J., & Aapro, M. S. (2007). Comparative activity of antiemetic drugs. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 61(2), 162–175. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2006.08.003>
- Kamen, C., Tejani, M. A., Chandwani, K., Janelins, M., Peoples, A. R., Roscoe, J. A., & Morrow, G. R. (2014). Anticipatory nausea and vomiting due to chemotherapy. *European Journal of Pharmacology*, 722, 172–179. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2013.09.071>
- Kandel, E. R. (2001a) Principios de neurociencia. México. McGraw-Hill Interamericana.
- Kandel, E. R. (2001b). The molecular biology of memory storage: a dialogue between genes and synapses. *Science (New York, N.Y.)*, 294(5544), 1030–1038. <https://doi.org/10.1126/science.1067020>
- Kandel, E. R., Dudai, Y., & Mayford, M. R. (2014). The molecular and systems biology of memory. *Cell*, 157(1), 163–186. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.03.001>
- Kenward, H., Pelligand, L., Savary-Bataille, K., & Elliott, J. (2015). Nausea: current knowledge of mechanisms, measurement and clinical impact. *Veterinary Journal (London, England : 1997)*, 203(1), 36–43. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2014.10.007>
- Kim, J. J., & Fanselow, M. S. (1992). Modality-specific retrograde amnesia of fear. *Science*, 256(5057), 675–677. <https://doi.org/10.1126/science.1585183>
- Kjelstrup, K. G., Tuvnes, F. A., Steffenach, H. A., Murison, R., Moser, E. I., & Moser, M. B. (2002). Reduced fear expression after lesions of the ventral hippocampus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(16), 10825–10830. <https://doi.org/10.1073/pnas.152112399>
- Klosterhalfen, S., Kellermann, S., Stockhorst, U., Wolf, J., Kirschbaum, C., Hall, G., & Enck, P. (2005). Latent inhibition of rotation chair-induced nausea in healthy male and female volunteers. *Psychosomatic Medicine*, 67(2), 335–340. <https://doi.org/10.1097/01.psy.0000156930.00201.e0>
- Kramar, C. P., Castillo-Díaz, F., Gigante, E. D., Medina, J. H., & Barbano, M. F. (2021). The late consolidation of an aversive memory is promoted by VTA dopamine release in the dorsal hippocampus. *The European Journal of Neuroscience*, 53(3), 841–851. <https://doi.org/10.1111/ejn.15076>
- Leonardo, E. D., Richardson-Jones, J. W., Sibille, E., Kottman, A., & Hen, R. (2006). Molecular heterogeneity along the dorsal-ventral axis of the murine hippocampal CA1 field: a microarray analysis of gene expression. *Neuroscience*, 137(1), 177–186. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2005.08.082>
- Liang, K. C., Hon, W., Tyan, Y. M. & Liao, W. L. (1994). Involvement of hippocampal NMDA and AMPA receptors in acquisition, formation and retrieval of spatial memory in the Morris water maze. *The Chinese Journal of Physiology*, 37(4), 201–212.
- Lothmann, K., Deitersen, J., Zilles, K., Amunts, K., & Herold, C. (2021). New boundaries and dissociation of the mouse hippocampus along the dorsal-ventral axis based on

- glutamatergic, GABAergic and catecholaminergic receptor densities. *Hippocampus*, 31(1), 56–78. <https://doi.org/10.1002/hipo.23262>
- Loubon, C. O., & Franco, J. C. (2010). Neurofisiología del aprendizaje y la memoria. *Plasticidad Neuronal. Archivos de Medicina*, 6(1), 2.
- Marcondes, L. A., Nachtigall, E. G., Zanluchi, A., de Carvalho Myskiw, J., Izquierdo, I., & Furini, C. (2020). Involvement of medial prefrontal cortex NMDA and AMPA/kainate glutamate receptors in social recognition memory consolidation. *Neurobiology of Learning and Memory*, 168, 107153. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2019.107153>
- Maren, S., & Holt, W. G. (2004). Hippocampus and Pavlovian fear conditioning in rats: muscimol infusions into the ventral, but not dorsal, hippocampus impair the acquisition of conditional freezing to an auditory conditional stimulus. *Behavioral Neuroscience*, 118(1), 97–110. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.118.1.97>
- Maren, S. (2008). Emotional Learning: Animals. *Learning and Memory: A Comprehensive Reference*, 475–502. doi:10.1016/b978-012370509-9.00129-7
- Masurkar A. V. (2018). Towards a circuit-level understanding of hippocampal CA1 dysfunction in Alzheimer's disease across anatomical axes. *Journal of Alzheimer's disease & Parkinsonism*, 8(1), 412.
- Mastrolia, V., Al Massadi, O., de Pins, B., & Girault, J. A. (2021). Pyk2 in dorsal hippocampus plays a selective role in spatial memory and synaptic plasticity. *Scientific Reports*, 11(1), 16357. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-95813-x>
- Matus-Amat, P., Higgins, E. A., Barrientos, R. M., & Rudy, J. W. (2004). The role of the dorsal hippocampus in the acquisition and retrieval of context memory representations. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 24(10), 2431–2439. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1598-03.2004>
- McEown, K., & Treit, D. (2010). Inactivation of the dorsal or ventral hippocampus with muscimol differentially affects fear and memory. *Brain Research*, 1353, 145–151. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.07.030>
- McGlinchey, E. M., & Aston-Jones, G. (2018). Dorsal Hippocampus Drives Context-Induced Cocaine Seeking via Inputs to Lateral Septum. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 43(5), 987–1000. <https://doi.org/10.1038/npp.2017.144>
- Miller, A. D., & Leslie, R. A. (1994). The area postrema and vomiting. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 15(4), 301–320. <https://doi.org/10.1006/frne.1994.1012>
- Miller, A. M., Vedder, L. C., Law, L. M., & Smith, D. M. (2014). Cues, context, and long-term memory: the role of the retrosplenial cortex in spatial cognition. *Frontiers in Human Neuroscience*, 8, 586. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2014.00586>
- Miranda, M. I., Ferreira, G., Ramirez-Lugo, L., & Bermudez-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>
- Morris, R. G., Kandel, E. R., & Squire, L. R. (1988). The neuroscience of learning and memory: cells, neural circuits and behavior. *Trends in Neurosciences*, 11(4), 125–127.
- Morrison, J. M., Pritchard, H. D., Braude, M. C., & D'Aguanno, W. (1971). Plasma and Brain Lithium Levels After Lithium Carbonate and Lithium Chloride Administration

- by Different Routes in Rats. *Experimental Biology and Medicine*, 137(3), 889–892. doi:10.3181/00379727-137-35687
- Moser, M. B., & Moser, E. I. (1998). Functional differentiation in the hippocampus. *Hippocampus*, 8(6), 608–619.
- Naert, A., Gantois, I., Laeremans, A., Vreysen, S., Van den Bergh, G., Arckens, L., Callaerts-Vegh, Z., & D'Hooge, R. (2013). Behavioural alterations relevant to developmental brain disorders in mice with neonatally induced ventral hippocampal lesions. *Brain Research Bulletin*, 94, 71–81. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2013.01.008>
- Nairne, J. S., VanArsdall, J. E., Pandeirada, J. N., & Blunt, J. R. (2012). Adaptive memory: enhanced location memory after survival processing. *Journal of Experimental Psychology: Learning, Memory, and Cognition*, 38(2), 495.
- Napadow, V., Sheehan, J. D., Kim, J., Lacount, L. T., Park, K., Kaptchuk, T. J., Rosen, B. R., & Kuo, B. (2013). The brain circuitry underlying the temporal evolution of nausea in humans. *Cerebral Cortex (New York, N.Y.: 1991)*, 23(4), 806–813. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhs073>
- O'Keefe, J., & Conway, D. H. (1978). Hippocampal place units in the freely moving rat: why they fire where they fire. *Experimental Brain Research*, 31(4), 573–590. <https://doi.org/10.1007/BF00239813>
- O'Keefe, J., & Dostrovsky, J. (1971). The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. *Brain Research*, 34(1), 171–175. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(71\)90358-1](https://doi.org/10.1016/0006-8993(71)90358-1)
- O'Keefe, J., & Nadel, L. (1979). Précis of O'Keefe & Nadel's The hippocampus as a cognitive map. *Behavioral and Brain Sciences*, 2(4), 487-494. doi:10.1017/S0140525X00063949
- O'Reilly, K. C., Flatberg, A., Islam, S., Olsen, L. C., Kruge, I. U., & Witter, M. P. (2015). Identification of dorsal-ventral hippocampal differentiation in neonatal rats. *Brain Structure & Function*, 220(5), 2873–2893. <https://doi.org/10.1007/s00429-014-0831-8>
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2020). Global Health Estimates 2020: Deaths by Cause, Age, Sex, by Country and by Region, 2000-2019. Recuperado de [who.int/data/gho/data/themes/mortality-and-global-health-estimates/ghe-leading-causes-of-death](http://who.int/data/gho/data/themes/mortality-and-global-health-estimates/ghe-leading-causes-of-death)
- Ortega-de San Luis, C., & Ryan, T. J. (2022). Understanding the physical basis of memory: Molecular mechanisms of the engram. *The Journal of Biological Chemistry*, 298(5), 101866. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2022.101866>
- Osorio-Gómez, D., Saldivar-Mares, K. S., Perera-López, A., McGaugh, J. L., & Bermúdez-Rattoni, F. (2019). Early memory consolidation window enables drug induced state-dependent memory. *Neuropharmacology*, 146, 84–94. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2018.11.033>
- Parker, L. A., Hills, K., & Jensen, K. (1984). Behavioral CRs elicited by a lithium-or an amphetamine-paired contextual test chamber. *Animal Learning & Behavior*, 12(3), 307-315.
- Parsaei, L., Torkaman-Boutorabi, A., Asadi, F., & Zarrindast, M. R. (2016). Interaction between dorsal hippocampal NMDA receptors and lithium on spatial learning consolidation in rats. *Brain Research Bulletin*, 127, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2016.07.007>

- Paxinos, G. & Watson, C. (1998). *The rat brain in stereotaxic coordinates* (4th ed.). San Diego: Academic Press.
- Pinto, V., Costa, J. C., Morgado, P., Mota, C., Miranda, A., Bravo, F. V., Oliveira, T. G., Cerqueira, J. J., & Sousa, N. (2015). Differential impact of chronic stress along the hippocampal dorsal-ventral axis. *Brain Structure & Function*, 220(2), 1205–1212. <https://doi.org/10.1007/s00429-014-0713-0>
- Quinn, J. J., Loya, F., Ma, Q. D. & Fanselow, M. S. (2005). Dorsal hippocampus NMDA receptors differentially mediate trace and contextual fear conditioning. *Hippocampus*, 15, 665–74
- Reber, P. J. (2008). Cognitive neuroscience of declarative and nondeclarative memory. *Advances in Psychology*, 139, 113-123.
- Rodríguez M. (2013). Individual differences in chemotherapy-induced anticipatory nausea. *Frontiers in Psychology*, 4, 502. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2013.00502>
- Roesler, R., Vianna, M. R., De-Paris, F., Quevedo, J., Walz, R., & Bianchin, M. (2000). Infusions of AP5 into the basolateral amygdala impair the formation, but not the expression, of step-down inhibitory avoidance. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research = Revista Brasileira de Pesquisas Medicas e Biologicas*, 33(7), 829–834. <https://doi.org/10.1590/s0100-879x2000000700014>
- Rogers, J. L., Hunsaker, M. R., & Kesner, R. P. (2006). Effects of ventral and dorsal CA1 subregional lesions on trace fear conditioning. *Neurobiology of Learning and Memory*, 86(1), 72–81. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2006.01.002>
- Roscoe, J. A., Morrow, G. R., Aapro, M. S., Molassiotis, A. & Olver, I. (2011) Anticipatory nausea and vomiting. *Supportive Care in Cancer: Official Journal of the Multinational Association of Supportive Care in Cancer*, 19(10), 1533–1538.
- Scoles, M. T., & Siegel, S. (1986). A potential role of saline trials in morphine-induced place-preference conditioning. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 25(6), 1169–1173. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(86\)90106-1](https://doi.org/10.1016/0091-3057(86)90106-1)
- Scoville, W. B., & Milner, B. (1957). Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 20(1), 11–21. <https://doi.org/10.1136/jnnp.20.1.11>
- Scoville, W. B., & Milner, B. (2000). Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. 1957. *The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences*, 12(1), 103–113.
- Shrager, Y., Bayley, P. J., Bontempi, B., Hopkins, R. O., & Squire, L. R. (2007). Spatial memory and the human hippocampus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(8), 2961–2966. <https://doi.org/10.1073/pnas.0611233104>
- 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>
- Squire, L. R., & Dede, A. J. (2015). Conscious and unconscious memory systems. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 7(3), a021667. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a021667>
- Squire, L. R., Genzel, L., Wixted, J. T., & Morris, R. G. (2015). Memory consolidation. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 7(8), a021766.
- Stackman, R. W., Jr, Cohen, S. J., Lora, J. C., & Rios, L. M. (2016). Temporary inactivation reveals that the CA1 region of the mouse dorsal hippocampus plays an equivalent role



- in the retrieval of long-term object memory and spatial memory. *Neurobiology of Learning and Memory*, 133, 118–128. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2016.06.016>
- Stockhorst, U., Enck, P., & Klosterhalfen, S. (2007). Role of classical conditioning in learning gastrointestinal symptoms. *World Journal of Gastroenterology*, 13(25), 3430–3437. <https://doi.org/10.3748/wjg.v13.i25.3430>
- Strange, B. A., Witter, M. P., Lein, E. S., & Moser, E. I. (2014). Functional organization of the hippocampal longitudinal axis. *Nature Reviews Neuroscience*, 15(10), 655–669. <https://doi.org/10.1038/nrn3785>
- Sugar, J., & Moser, M. B. (2019). Episodic memory: Neuronal codes for what, where, and when. *Hippocampus*, 29(12), 1190–1205. <https://doi.org/10.1002/hipo.23132>
- Symonds M. & Hall G. (2000). Contextual conditioning with an illness US is attenuated by the antiemetic ondansetron. *Psychobiology*, 28, 360-366
- Takahashi S. (2018). The Hippocampal Ensemble Code for Spatial Navigation and Episodic Memory. *Advances in Neurobiology*, 21, 49–70. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-94593-4\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-319-94593-4_3)
- Tanaka, K. F., Samuels, B. A., & Hen, R. (2012). Serotonin receptor expression along the dorsal-ventral axis of mouse hippocampus. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 367(1601), 2395–2401. <https://doi.org/10.1098/rstb.2012.0038>
- Tao, S., Wang, Y., Peng, J., Zhao, Y., He, X., Yu, X., Liu, Q., Jin, S., & Xu, F. (2021). Whole-Brain Mapping the Direct Inputs of Dorsal and Ventral CA1 Projection Neurons. *Frontiers in Neural Circuits*, 15, 643230. <https://doi.org/10.3389/fncir.2021.643230>
- Tenk, C. M., Kavaliers, M., & Ossenkopp, K. P. (2005). Dose response effects of lithium chloride on conditioned place aversions and locomotor activity in rats. *European Journal of Pharmacology*, 515(1-3), 117–127. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2005.04.007>
- Tolman, E. C. (1948). Cognitive maps in rats and men. *Psychological Review*, 55(4), 189–208. <https://doi.org/10.1037/h0061626>
- Tonegawa, S., Morrissey, M. D., & Kitamura, T. (2018). The role of engram cells in the systems consolidation of memory. *Nature Reviews Neuroscience*, 19(8), 485-498.
- Trivedi, M. A., & Coover, G. D. (2004). Lesions of the ventral hippocampus, but not the dorsal hippocampus, impair conditioned fear expression and inhibitory avoidance on the elevated T-maze. *Neurobiology of Learning and Memory*, 81(3), 172-184.
- Tuscher, J. J., Taxier, L. R., Fortress, A. M., & Frick, K. M. (2018). Chemogenetic inactivation of the dorsal hippocampus and medial prefrontal cortex, individually and concurrently, impairs object recognition and spatial memory consolidation in female mice. *Neurobiology of Learning and Memory*, 156, 103–116. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2018.11.002>
- Van Damme, S., De Fruyt, N., Watteyne, J., Kenis, S., Peymen, K., Schoofs, L., & Beets, I. (2021). Neuromodulatory pathways in learning and memory: Lessons from invertebrates. *Journal of Neuroendocrinology*, 33(1), e12911. <https://doi.org/10.1111/jne.12911>
- Van-Hedger, K., Cavallo, J. S., Ruiz, N. A., & de Vit, H. (2018). Conditioning nausea in a laboratory setting: A pilot study. *BioRxiv*, 243121.

- Van Strien, N. M., Cappaert, N. L., & Witter, M. P. (2009). The anatomy of memory: an interactive overview of the parahippocampal-hippocampal network. *Nature Reviews Neuroscience*, *10*(4), 272–282. <https://doi.org/10.1038/nrn2614>
- Walf, A. A., & Frye, C. A. (2007). The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nature Protocols*, *2*(2), 322–328.
- Wang, C., Zhang, Y., Shao, S., Cui, S., Wan, Y., & Yi, M. (2019). Ventral Hippocampus Modulates Anxiety-Like Behavior in Male But Not Female C57BL/6 J Mice. *Neuroscience*, *418*, 50–58. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2019.08.032>
- Winocur, G., Sekeres, M. J., Binns, M. A., & Moscovitch, M. (2013). Hippocampal lesions produce both nongraded and temporally graded retrograde amnesia in the same rat. *Hippocampus*, *23*(5), 330–341. <https://doi.org/10.1002/hipo.22093>
- Xiong, H. (2008). Hippocampus and spatial memory. In *Neuroimmune Pharmacology* (pp. 55-64). Springer, Boston, MA.
- Yamada, K., Arai, M., Suenaga, T., & Ichitani, Y. (2017). Involvement of hippocampal NMDA receptors in encoding and consolidation, but not retrieval, processes of spontaneous object location memory in rats. *Behavioural Brain Research*, *331*, 14–19. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.05.006>
- Zhang, W. N., Bast, T., Xu, Y., & Feldon, J. (2014). Temporary inhibition of dorsal or ventral hippocampus by muscimol: distinct effects on measures of innate anxiety on the elevated plus maze, but similar disruption of contextual fear conditioning. *Behavioural Brain Research*, *262*, 47–56. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2013.10.044>