



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

FACULTAD DE CIENCIAS

**"LA CONSOLIDACIÓN DE LA MEMORIA NO  
DEPENDE DE EVOCACIÓN: CONDICIONAMIENTO  
DE AVERSIÓN A LOS SABORES"**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**BIÓLOGA**

**P R E S E N T A :**

**CRISTINA ZAMORANO NG TEAJAN**



**TUTOR:**

**DR. CARLOS DE JESÚS RODRÍGUEZ ORTIZ**

**MÉXICO, D.F.**

**2009**

## Hoja de Datos del Jurado

### 1.- Datos del alumno

Zamorano  
Ng Teajan  
Cristina  
53 68 72 48  
Universidad Nacional Autonoma de Mexico  
Facultad de Ciencias  
Biología  
302573435

### 2.- Datos del tutor

Dr.  
Rodríguez  
Ortiz  
Carlos de Jesús

### 3.- Datos de sinodal 1

Dr.  
Bermúdez  
Rattoni  
Federico

### 4.- Datos del sinodal 2

Dra.  
Escobar  
Rodríguez  
Martha Lilia

### 5.- Datos del sinodal 3

Dr.  
Ramírez  
Amaya  
Víctor

### 6.- Datos del sinodal 4

Biól.  
Salcedo  
Tello

### 6.- Datos del trabajo escrito

La consolidación de la memoria no depende de evocación: condicionamiento de aversión a los sabores

57 p.  
2009

## **INDICE**

<b>Resumen</b> .....	4
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	5
<b>II. ANTECEDENTES</b> .....	6
2.1 La clasificación de la memoria .....	6
2.2 La consolidación de la memoria.....	8
<b>III. MEMORIA GUSTATIVA</b> .....	10
3.1 El CAS como paradigma conductual.....	11
3.2 Vías del procesamiento de información gustativa.....	13
3.3 La amígdala basolateral (anatomía y funciones) .....	14
3.4 Participación de la ABL en el CAS .....	16
3.5 El glutamato como neurotransmisor.....	17
3.6 Participación del glutamato en la memoria de aversión al sabor.....	20
3.7. Participación de los receptores AMPA en la evocación de la memoria de aversión al sabor.....	24
<b>IV. LA TEORÍA DE LA RECONSOLIDACIÓN</b> .....	25
4.1. La reconsolidación de la memoria no depende de evocación.....	27
4.2 La teoría de la actualización de la memoria.....	30
<b>V. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA, HIPÓTESIS, OBJETIVOS</b> .....	34
5.1 Planteamiento del problema.....	34
5.2 Hipótesis.....	34
5.3 Objetivos específicos.....	35
<b>V. METODOLOGÍA</b> .....	35
6.1 Sujetos.....	35
6.2 Cirugía e implantación de cánulas.....	36
6.3 Fármacos.....	36
6.4 Microinyecciones.....	36
6.5 Procedimientos conductuales.....	37
6.5.1 Inyección antes de la evocación del condicionamiento de aversión a los sabores (CAS).....	37
6.5.2 Inyección antes de la evocación del condicionamiento de aversión a los sabores (CAS) en condiciones de asíntota de desempeño.....	37

6.5.3 Inyección antes de la primera adquisición del condicionamiento de aversión a los sabores (CAS).....	37
6.5.4 Inyección antes de la primera presentación de un sabor no familiar.....	38
6.5.5 Histología.....	38
6.6.6 Análisis estadístico.....	39
<b>VII. ANÁLISIS DE RESULTADOS.....</b>	<b>39</b>
7.1 Experimento 1.....	39
7.2 Experimento 2.....	42
7.3. Experimento 3.....	44
7.4 Experimento 4.....	46
<b>VIII DISCUSIÓN.....</b>	<b>47</b>
8.1. La actualización de la memoria de aversión no depende de su evocación.....	47
8.1.1 La evocación de la memoria de aversión al sabor depende de receptores AMPA/kainato.....	48
8.1.2 La evocación de la memoria de aversión al sabor depende de receptores AMPA/kainato en condiciones de asíntota de desempeño.....	49
8.1.3 Los procesos de adquisición-consolidación del CAS no penden de receptores tipo AMPA/kainato.....	49
<b>IX. CONCLUSIONES.....</b>	<b>52</b>
<b>X. LITERATURA CITADA.....</b>	<b>53</b>



## **Resumen**

La actualización de la memoria es un proceso por el cual los organismos son capaces de agregar información novedosa o relevante a un trazo de memoria previamente establecido y se ha propuesto que dicho proceso depende de la reconsolidación de la memoria. La reconsolidación se ha definido como un proceso mediante el cual se estabiliza de nuevo la memoria previamente almacenada cuando es reactivada. Por lo anterior, en este trabajo se evaluó el papel de la evocación en la actualización de la memoria. Para esto, se utilizaron condiciones donde existió nueva información que se incorporó a la memoria, esto fue, una segunda adquisición de la misma tarea. Se utilizó el paradigma conductual del condicionamiento de aversión a los sabores, en el cual se asocia un sabor (sacarina) como estímulo condicionado (EC) con un inductor de malestar gástrico (cloruro de litio), como estímulo incondicionado (EI); como respuesta a esta asociación el animal evita beber el sabor en las presentaciones posteriores del mismo. La amígdala basolateral (ABL) es una estructura necesaria para la formación de la memoria de aversión al sabor y se sabe que dentro de esta participación los receptores de glutamato tipo AMPA juegan un papel importante, ya que si se bloquean se afecta la evocación de la tarea. Se entrenaron a los animales en el primer día y, al siguiente día, por medio de una microinyección de un antagonista (NBQX) o bien solución vehículo, se bloquearon los receptores AMPA/kainato en la ABL; posteriormente se realizó un segundo condicionamiento de aversión a los sabores. Al día siguiente se presentó de nuevo el sabor sin el EI. Los animales inyectados con la droga no fueron capaces de evocar, sin embargo, adquirieron y consolidaron el segundo condicionamiento. Lo anterior confirma que los receptores AMPA/kainato en la ABL son necesarios para la evocación de la memoria de aversión, sin embargo, no son necesarios para adquirir y consolidar dicha memoria. Lo anterior es de particular interés dado que los animales son capaces de adquirir y consolidar un segundo condicionamiento, lo cual demuestra que sin evocación es posible agregar información nueva o relevante a un trazo previamente establecido, es decir, que la actualización de la memoria de aversión no depende de evocación.

## **I.-Introducción**

Los organismos pueden adaptarse al entorno que los rodea según los estímulos que reciben de él, a través de cambios en su comportamiento. Estos cambios se generan de acuerdo a las experiencias individuales y se pueden conservar en el tiempo (Dudai, 2004). Dichas experiencias tienen una implicación directa en el comportamiento de cada individuo, a esta capacidad de generar cambios en la conducta se le denomina aprendizaje (Kandel *et al.*, 2000). Ese aprendizaje es capaz de durar en el tiempo para luego ser utilizado de nuevo si es necesario. A la capacidad de almacenar y recuperar dicho aprendizaje se le denomina memoria (Kandel *et al.*, 2000). Los conocimientos adquiridos son capaces de generar modificaciones en el cerebro, las cuales permiten que se almacenen a lo largo del tiempo (Martínez y Kesner, 1998). Por lo tanto, podemos decir que la memoria es una herramienta que nos ha dado la naturaleza para poder adaptarnos y sobrevivir según las condiciones variantes del medio ambiente, ya que el organismo puede modificar su conducta de acuerdo a lo que ha aprendido previamente.

Todas las formas de memoria que permanecen a lo largo del tiempo ocurren en tres fases: adquisición, consolidación y evocación, cada una de las cuales depende de estructuras específicas y mecanismos moleculares específicos (Quirk y Mueller, 2007). Estas etapas han sido definidas de la siguiente manera:

- Adquisición: Cambio en el desempeño conductual durante un entrenamiento que se toma como la representación del aprendizaje (Dudai, 2002).
- Consolidación: Proceso por el cual una memoria se estabiliza (Dudai, 2002).
- Evocación: Proceso por el cual una memoria previamente almacenada es utilizada por un organismo (Rozenzweig y Leiman, 1992).

El aprendizaje, como una propiedad del sistema nervioso, depende de las propiedades plásticas de los circuitos cerebrales que son capaces de reorganizar funcionalmente las representaciones del mundo en respuesta a cambios en la información relevante entrante (Bermúdez-Rattoni, 2007). Esta reorganización puede provocar cambios plásticos en las conexiones neuronales o en la morfología neuronal que tienen como resultado cambios funcionales duraderos, estos cambios en las sinapsis subyacen los cambios en el comportamiento y se presumen son el correlato celular de la memoria (Tronson y Taylor, 2007).

## **II.- Antecedentes**

### **2.1.La clasificación de la memoria**

La memoria ha sido un tema de amplio interés para los científicos desde hace mucho tiempo, y el desarrollo de este campo de investigación ha sido muy grande. El intento por entender los distintos procesos inherentes a la memoria se puede remontar a los antiguos griegos, sin embargo esta rama adquirió la característica de ciencia experimental muchos años después en el siglo XIX. Hermann Ebbinghaus en su trabajo “*Über das Gedächtnis*” (*Sobre la memoria*), en el año de 1885, realizó un análisis sistemático de la memoria por medio de experimentos basados en la memorización de sílabas sin sentido y realizó una curva de aprendizaje; a través de estos experimentos observó una relación entre el tiempo y la capacidad para recordar las sílabas, ya que entre mayor era el tiempo después de la adquisición, menor número de sílabas podía recordar. Posteriormente William James en su obra “*Principles of Psychology*” realizó una distinción entre lo que él llamó memorias “primarias” y “secundarias” (Martínez y Kesner, 1998). Las primeras las definió como el conocimiento que no era necesario evocar porque no ha abandonado el curso principal de nuestro conocimiento, mientras las segundas se refieren a la información que ha dejado de ocupar nuestra atención y que hemos dejado de tener conciencia en ella pero que puede recuperarse a voluntad cuando se necesite (Bermúdez-Rattoni y Prado, 2001).

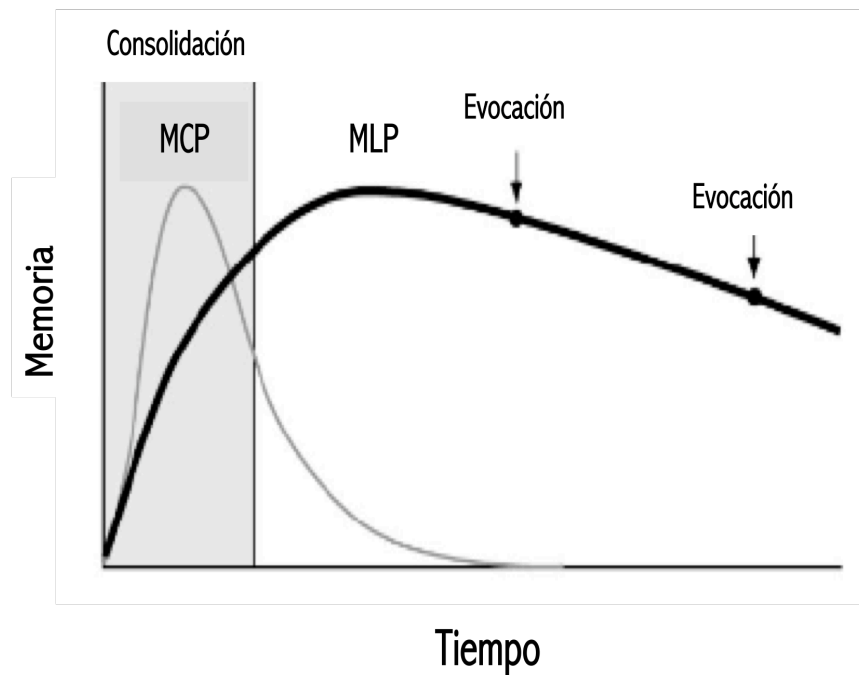
El concepto de consolidación se refiere a una fase de la memoria donde se lleva a cabo la estabilización de la misma (Dudai, 2002). Se ha propuesto que las memorias nuevas necesitan estabilizarse para durar en el tiempo, y que mientras se da dicho proceso se puede interferir en él a través de ciertos procedimientos como lesiones o inyección de ciertos fármacos, como inhibidores de la síntesis de proteínas, los cuales sólo tienen efecto si se aplican durante un cierto tiempo después del aprendizaje.

El término de consolidación se atribuye a Muller y Pilzecker quienes observaron, en una serie de experimentos realizados entre los años 1892 y 1900, que las memorias tardan tiempo en fijarse (Dudai, 2004). Así lo propusieron en su hipótesis de la preservación-consolidación de la memoria a partir de los estudios que realizaron en humanos. Ellos encontraron que la memoria recién aprendida era

interrumpida por el aprendizaje de otro tipo de información si éste era presentado poco tiempo después, sugiriendo así que los procesos que subyacen a las memorias nuevas persisten en un inicio en un estado frágil y se consolidan a través del tiempo (McGaugh *et al.*, 2000).

A mediados de los años cuarenta el psicólogo C.P. Duncan desarrolló el primer modelo animal de amnesia en la rata. En estos experimentos él aplicó diariamente choques electroconvulsivos después de ensayos diarios en un laberinto y observó una relación inversa entre el desempeño en la tarea y la aplicación del tratamiento amnésico. De esta manera reportó que sus estudios contribuían a la hipótesis de Muller y Pilzecker que propone que el aprendizaje requiere de tiempo para estabilizarse en una memoria duradera. Duncan propuso que los choques electroconvulsivos afectan a la memoria porque contribuyen a la prevención de lo que Muller y Pilzecker llamaron consolidación (Sara, 2006).

En la actualidad conocemos dos tipos de memoria según su temporalidad: memorias de corto plazo (MCP) y memorias de largo plazo (MLP). Las primeras tienen una duración relativamente corta en el tiempo, segundos u horas, mientras que las últimas pueden durar desde días a años (Dudai, 1989), como se muestra en la figura 2.1. El paso de una memoria de corto plazo a una de largo se da por medio del proceso conocido como consolidación.



*Figura 2.1. Fases de la memoria. En esta gráfica se muestra la intensidad de la memoria a lo largo del tiempo. La memoria de corto plazo (MCP) se mantiene por lapsos cortos (de segundos a horas), hasta que se da el proceso conocido como consolidación y de esta manera la información adquirida permanece en la memoria de largo plazo (MLP) por periodos más largos (de días hasta años). La información puede ser utilizada posteriormente en el tiempo por medio de su evocación (Modificado de Dudai, 2004).*

## **2.2.La consolidación de la memoria**

A partir de los experimentos antes descritos se comenzaron a realizar otros estudios en los que se probaron diferentes agentes para provocar amnesia y así observar y estudiar la llamada consolidación. En los años setenta, se realizaron trabajos muy importantes en los que se aplicaron diversos antibióticos, los cuales inhiben la síntesis de proteínas, antes o después del aprendizaje. Este tratamiento provocó amnesia cuando la memoria se midió a las 24 horas, sin embargo no observaron efecto alguno al medir la memoria el día de la inyección, entre esos estudios se encuentran los siguientes: Flexner *et al.* 1963; Agranoff *et al.* 1966; Barondes y Cohen 1966, 1967. En este último trabajo realizaron un experimento en el cual se entrenaron ratones para que aprendieran a escapar dentro de un laberinto tipo T de un brazo al otro ya que en uno de ellos recibían choques eléctricos. Realizaron un entrenamiento breve el cual consistió en llevar a cabo varios ensayos hasta que se alcanzaran 3 de 4 respuestas correctas. Si los animales alcanzaban este

criterio en 3 ensayos se consideró como un 100% de escapes, pero en promedio se necesitaron 6 ensayos para alcanzar el criterio. Inyectaron intracerebralmente 10  $\mu$ l de una solución de cicloheximida (inhibidor de la síntesis de proteínas) en la región temporal 5 horas antes del entrenamiento conductual antes descrito. Como resultado observaron que la memoria no se veía afectada si la prueba se realizaba tres horas después de la inyección de cicloheximida en una concentración de 20  $\mu$ g; sin embargo, cuando la prueba se realizó seis horas después de la inyección la memoria se vio afectada y dicho efecto se observó hasta 6 semanas después (Barondes y Cohen, 1967). Lo anterior demostró que se estaba afectando la fase de consolidación de la memoria a través de la inhibición de la síntesis de proteínas.

El hallazgo de que la inhibición de síntesis de proteínas afectara sólo algunas memorias fue muy importante, ya que al afectar sólo la memoria medida después de varias horas pero no medida en las primeras horas nos indica que al menos existen 2 tipos de memoria y que se requiere de la síntesis de proteínas para el segundo de estos tipos (McGaugh, 2000).

Todos estos estudios confirmaron los diferentes puntos de la hipótesis de la consolidación de la memoria, los cuales establecen, primero, que las memorias se estabilizan o consolidan a través del tiempo, segundo, una vez consolidadas las memorias son estables por lo que sólo se consolidan una vez y, por último, que la consolidación de una memoria depende de la síntesis de proteínas (McGaugh, 1966, 2000).

Dado que la consolidación de la memoria ha sido ampliamente estudiada se han desarrollado diversas metodologías para su estudio, lo cual ha permitido describir procesos celulares y moleculares involucrados en el procesamiento de las memorias a corto y largo plazo. El proceso celular detrás de una memoria de corto plazo implica sólo la activación de cascadas de transducción que alteran la excitabilidad sináptica y la liberación de neurotransmisor. Para el paso a una memoria de largo plazo, estas cascadas activan factores de transcripción, permitiendo la modulación de la expresión de genes ya que las señales de transducción llegan hasta al núcleo celular, en donde se produce el proceso de transcripción. Posteriormente otro proceso llamado traducción del RNA, lleva a la síntesis de nuevas proteínas, la cual culmina en modificación de proteínas sinápticas así como en remodelamiento y crecimiento sináptico. La

activación, expresión y función de ciertos factores de transcripción y genes son una parte esencial de la cascada de eventos que ocurren durante una ventana temporal posterior a la adquisición y que dan lugar a las memorias de largo plazo. Estos eventos pueden ser interrumpidos por varios tipos de agentes, entre ellos los inhibidores de síntesis de proteínas. Se asume que esta ventana temporal corresponde a la consolidación celular de la memoria (Dudai, 2004).

### **III.- Memoria Gustativa**

En la naturaleza existen múltiples formas o mecanismos que pueden desarrollar los animales para adecuarse al mundo en el que viven y así poder sobrevivir. Una de las estrategias que han desarrollado es el poder recordar y discriminar la comida de acuerdo a las consecuencias posteriores a su consumo, este aprendizaje ha sido necesario ya que la alimentación es una actividad de vital importancia. A este tipo de memoria se le conoce como memoria de reconocimiento del sabor, que consiste en la capacidad de reconocer comida o algún líquido que ya había sido previamente probado (Bermudez-Rattoni, 2004), como se explica a continuación. Cuando un animal se encuentra un nuevo sabor éste se rehúsa a consumirlo en grandes cantidades ya que no conoce sus consecuencias, teniendo un comportamiento neofóbico. Sin embargo, si dicho sabor no tuvo consecuencias nocivas se registra como un sabor seguro lo que provoca un incremento en su consumo y a esto se le llama atenuación de la neofobia. Por el contrario, cuando el sabor tiene alguna consecuencia de malestar gástrico el sabor se registra como tóxico y en consecuencia el animal se rehúsa a seguirlo consumiendo presentando una aversión a dicho sabor. A esta conducta se le llama condicionamiento de aversión a los sabores (CAS) (Bermúdez-Rattoni, 2004). En la figura siguiente (3.1.) se muestran estos dos tipos de conductas.



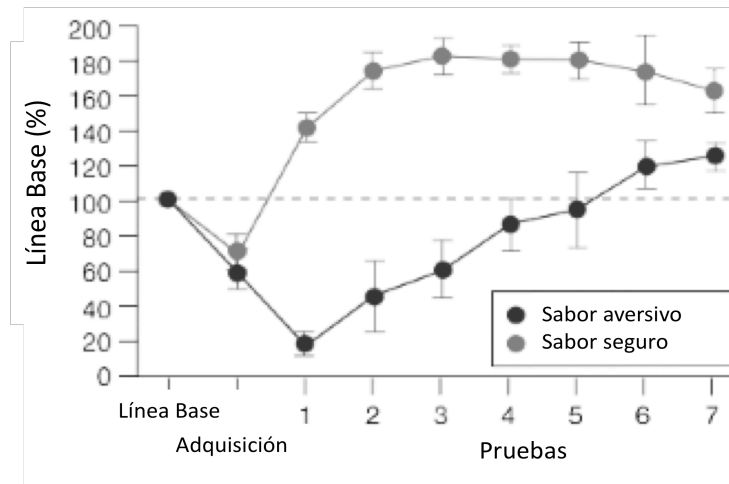


Figura 3.1. En esta figura se muestran dos tipos de conducta que se observan como consecuencia de haber ingerido un sabor nuevo. Si dicho sabor se codifica como seguro los días posteriores se incrementará el consumo (atenuación de la neofobia o sabor seguro), o bien si se asocia el sabor novedoso con un malestar gástrico el consumo en el día posterior del sabor disminuirá (aversión a los sabores o sabor aversivo) e irá aumentando en los días siguientes dicho consumo si ya no se vuelven a presentar consecuencias gástricas nocivas, fenómeno llamado extinción (Modificado de Bermúdez-Rattoni, 2004).

Una gran variedad de mamíferos presentan aversión a comidas o líquidos específicos, tanto en la naturaleza como en condiciones de laboratorio, si éstos produjeron algún tipo de malestar gástrico, tal como lo describió John García por primera vez en 1955 (Welzl, 2001). El CAS protege a los animales de una repetición de la ingesta de comida o bebidas tóxicas (Reilly *et al.*, 2005).

### **3.1. El CAS como paradigma conductual**

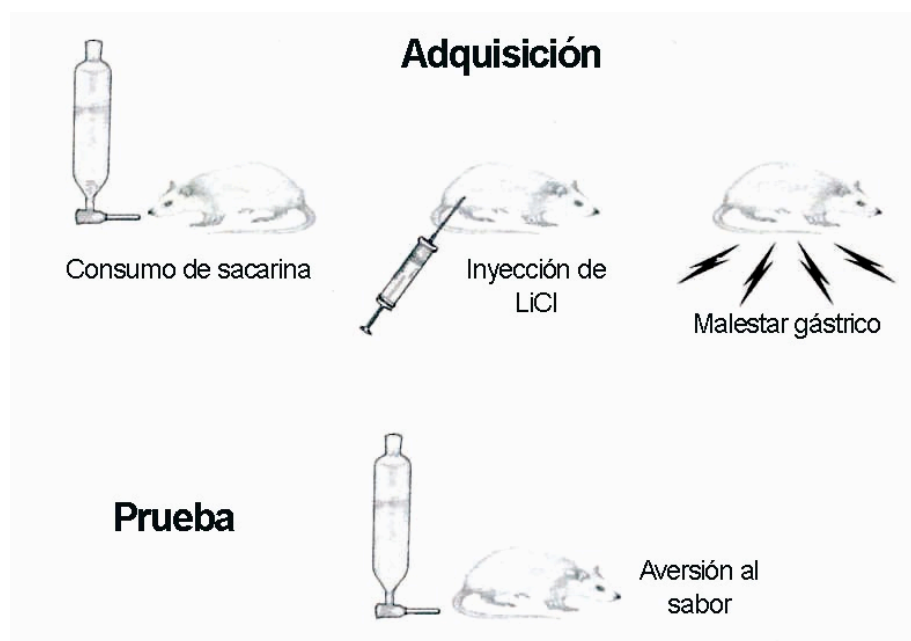
En condiciones de laboratorio, el CAS es un paradigma ampliamente utilizado en la investigación de procesos de memoria. Durante la adquisición del CAS, el animal asocia un sabor o estímulo condicionado (EC) con un tratamiento que produce malestar (ej., inyección intraperitoneal de LiCl) o estímulo incondicionado (EI). El CAS sigue las reglas del condicionamiento clásico donde se asocian los dos estímulos antes mencionados, dicha asociación tiene como consecuencia la evasión del sabor, llamada respuesta condicionada (RC), como se muestra en la figura 3.2. En este tipo de condicionamiento el sabor se convierte en desagradable para el animal y es evitado (Bernstein y Koh, 2007).

El CAS tienen un gran número de ventajas por las cuales es un modelo muy útil en la investigación de la neurobiología, y que a su vez lo hace diferente de otros tipos de paradigmas conductuales. Algunas de estas ventajas son (Bernstein y Koh, 2007):

1.- Rápida adquisición, el CAS se adquiere en un solo apareamiento del EC (sabor) con el EI (inductor de malestar gástrico).

2.-El aprendizaje es potente y durable por lo que proporciona una ventana clara de tiempo en la cual se pueden identificar señales neuronales.

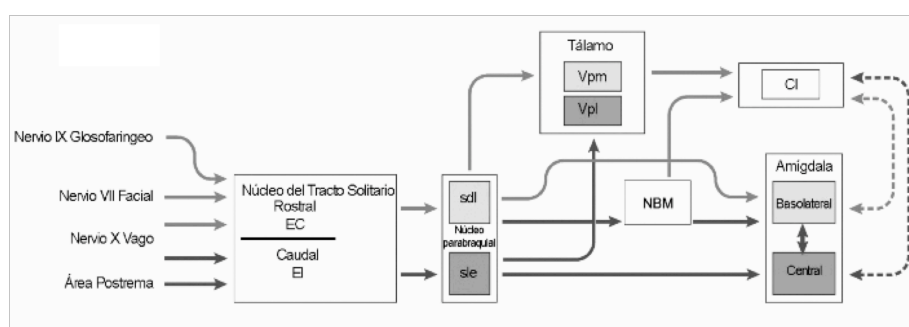
3.- Se puede adquirir aunque exista una separación amplia entre la presentación de los dos estímulos (EC y EI), ésta puede ser desde minutos hasta horas.



*Figura 3.2. Esquema representativo del paradigma conductual del CAS. En este protocolo le es presentado al animal un sabor novedoso, sacarina (EC). Posterior al consumo del sabor se le inyecta vía intraperitoneal un inductor de malestar gástrico (EI), cloruro de litio (LiCl). Cuando el sabor es presentado nuevamente al animal, éste evita beber dicho sabor debido a las consecuencias negativas experimentadas, a este comportamiento se le conoce como aversión al sabor (Modificado de Bermúdez-Rattoni y Prado, 2001).*

### **3.2. Vías de procesamiento de la información gustativa**

Las vías de procesamiento de la información gustativa de sabor y visceral del malestar gástrico han sido ampliamente descritas y estudiadas, por lo que están muy bien caracterizadas, y se muestran en la Fig. 3.3. Dicho procesamiento inicia con la transducción de la señal del sabor que se realiza en células especializadas localizadas en la cavidad oral, dichas células están inervadas por neuronas sensoriales y cuando son excitadas envían la señal a través de varios nervios craneales, entre ellos el facial (VII), el glosofaríngeo (IX) y el vago (X) (Kandel *et al.*, 2000). La información se recibe en la porción anterior del núcleo del tracto solitario, luego viaja al núcleo parabraquial del tálamo, a partir de aquí existen dos vías posibles, una que va tanto al hipotálamo lateral, la sustancia innominata, y la amígdala, mientras la otra viaja al núcleo ventroposterior del tálamo, de donde luego viaja a la neocorteza (Bermúdez-Rattoni *et al.*, 2004). Las vías viscerales que transmiten la información de malestar, detectado por la irritación del sistema gastrointestinal, llegan al nervio vago (X) y al núcleo del tracto solitario y al subnúcleo lateral del núcleo parabraquial, luego finalmente llega al núcleo central de la amígdala y al núcleo paraventricular hipotalámico (Bures *et al.*, 1998). Son de particular interés la corteza insular y la amígdala, estructuras para las cuales existe un gran número de estudios que han demostrado su importancia en la adquisición y almacenamiento a largo plazo de la memoria de aversión al sabor (Bermúdez-Rattoni *et al.*, 2004).



*Figura 3.3. Dibujo esquemático de las vías de procesamiento de la información gustativa (líneas continuas) y visceral (líneas punteadas) en el sistema nervioso. EC, estímulo condicionado. EI, estímulo incondicionado. sdl, subnúcleo dorsolateral. sle, subnúcleo exteriorlateral. NBM, núcleo basal magnocelular. Vpm, ventroposteromedial. Vpl, ventroposterolateral. CI, corteza insular (Modificado de Bermúdez-Rattoni, 2004).*

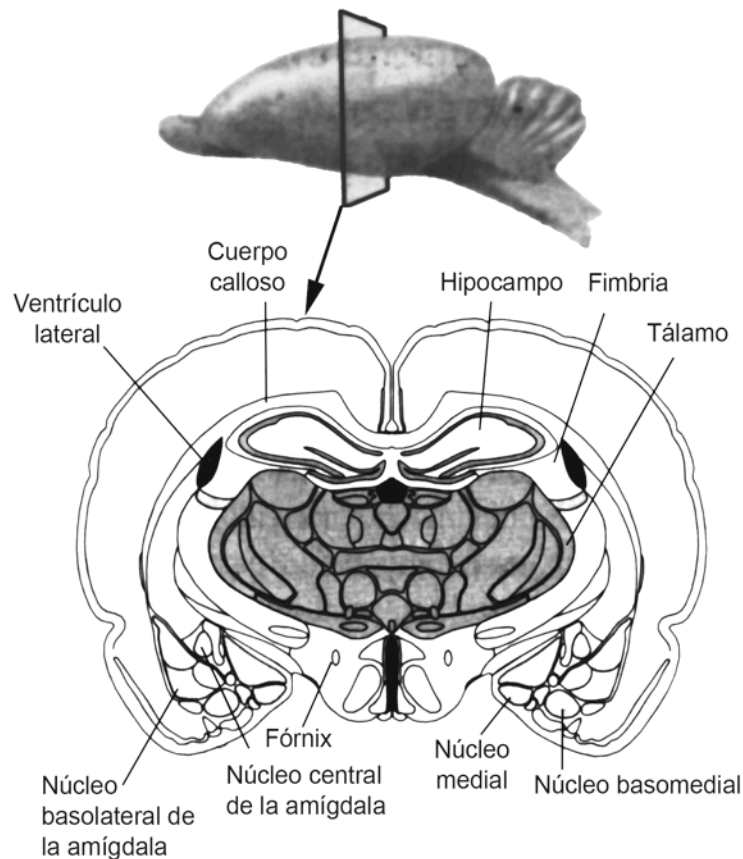
En este trabajo nos enfocamos en el estudio de la amígdala basolateral y en el papel que juega en la memoria de aversión al sabor, razón por la cual a continuación

se describen los antecedentes de esta estructura.

### **3.3. La amígdala basolateral (anatomía y funciones)**

La primera evidencia de la participación de la amígdala en el aprendizaje y la memoria se publicó hace más de 70 años, sin embargo con el tiempo esta estructura ha ido adquiriendo especial atención e importancia en los estudios de este campo. Existe evidencia de que está involucrada en los procesos de atención y recompensa; así como también de que es una estructura en donde se llevan a cabo cambios neuronales que subyacen la asociación de tareas adquiridas con respuestas de tipo emocional. Así también existe un fuerte consenso de que está involucrada en mediar el componente emocional de las memorias (McGaugh *et al.*, 2002).

El sistema límbico es un grupo de estructuras involucrado en la formación y procesamiento de las emociones, aprendizaje y memoria. Dentro de las estructuras que lo componen se encuentra la amígdala así como también el hipocampo, hipotálamo y distintas cortezas cerebrales (Purves *et al.*, 2003). La amígdala es un conjunto pequeño de neuronas que forman parte del sistema límbico localizado en el lóbulo temporal, como se muestra, para la rata, en la figura 3.4. En los mamíferos la amígdala se puede dividir en dos grupos de núcleos: un grupo filogenéticamente más antiguo compuesto por un núcleo medial, uno central y cortical, mientras el otro, filogenéticamente más nuevo, está compuesto por un núcleo lateral y uno basal (amígdala basolateral, ABL) (Bures *et al.*, 1998).



*Figura 3.4. Corte coronal del cerebro de la ratona donde se muestra los distintos núcleos de la amígdala (Modificado de Swanson L. W., 1992).*

Se sabe que el sistema límbico, en particular la amígdala está involucrada en procesos asociativos de diferentes tareas de aprendizaje, incluyendo las asociaciones viscerales en el condicionamiento de aversión al sabor. La amígdala ha sido asociada con aspectos emocionales que regulan la ingesta de comida y agua. El núcleo central de la amígdala juega un papel muy importante en la adquisición y retención de reacciones a la aversión condicionada. Los efectos en el CAS han sido diversos cuando se han dañado distintos núcleos de la amígdala (Bures *et al.*, 1998).

El interés por conocer el papel de la amígdala en la consolidación de la memoria fue estimulado por los hallazgos de Goddard en el año de 1964, quien en ratas, administró estimulación eléctrica en la amígdala inmediatamente después de un entrenamiento y así afectó la memoria de una tarea de aversión. Dichos descubrimientos sugirieron que la amígdala es una región involucrada en la consolidación de la memoria (McGaugh *et al.*, 2002).

### **3.4. Participación de la ABL en el CAS**

Diversos estudios han investigado el papel de la amígdala en el condicionamiento de aversión a los sabores (CAS), así como también la participación diferencial de cada uno de sus núcleos en este mismo paradigma. En base en estudios de lesiones de la amígdala basolateral (ABL) (Gallo *et al.*, 1992; Roldan y Bures, 1994) o de la aplicación de antagonistas después de la presentación del sabor novedoso (Miranda *et al.*, 2003), se ha establecido la importancia que tiene este núcleo en la formación del CAS. En particular el trabajo de Gallo y colaboradores estudió el papel de la amígdala en la adquisición del CAS por medio de lesiones bilaterales con TTX (tetrodotoxina), bloqueador de canales de sodio, administradas entre los dos estímulos en el CAS. Lo que observaron fue que cuando se afecta la ABL entre los dos estímulos, se daña la memoria de aversión ya que las ratas incrementaron su consumo de sacarina el día de la prueba (48 horas después de la inyección) en comparación con el grupo control. Los resultados anteriores sugieren la importancia de la estructura en la tarea de aversión a los sabores.

En otros trabajos se ha reportado que lesiones de la amígdala basolateral evitan la memoria del CAS sólo si el EC que se presenta es novedoso, pero no cuando ya es familiar sin embargo, las lesiones del núcleo central no tienen consecuencia en la memoria del CAS (Morris *et al.*, 1999; St. Andre y Reilly, 2007). En el primer trabajo mencionado se realizaron lesiones con ácido iboténico de al menos el 90% del núcleo basolateral de la amígdala en ratas. Posteriormente se realizó el condicionamiento con sacarosa seguida de una inyección de cloruro de litio intraperitoneal y 4 días después se evaluó la memoria y lo que observaron fue que los animales con lesiones en la ABL son incapaces de aprender el CAS. Sin embargo cuando las lesiones se realizaron en ratas que habían sido pre-expuestas días antes al EC (sacarosa) no se afectó el CAS. En este trabajo también se realizaron lesiones del núcleo central de la amígdala y no se observó ninguna diferencia con respecto a los animales control cuando dicha tarea se probó 4 días después del entrenamiento.

Así también se reportó que el bloqueo funcional de la ABL entre el estímulo gustativo y el visceral impide la formación de la memoria de aversión (Miranda *et al.*,

2003). En ese trabajo se estudió el papel del sistema noradrenérgico en la amígdala basolateral durante la presentación del estímulo incondicionado (EI) y durante la consolidación de la tarea. Se realizaron inyecciones bilaterales de propanolol, antagonista de receptores noradrenérgicos, en la ABL de la rata. Se les dio como estímulo condicionado sacarina y 30 minutos después se les realizó la microinyección del fármaco antes mencionado e inmediatamente después se aplicó el cloruro de litio intraperitoneal como estímulo incondicionado. La prueba de memoria se llevó a cabo tres días después y se observó que el consumo de sacarina aumentó en los animales experimentales en comparación con el grupo control, sin embargo no se observó ninguna diferencia en los consumos del día de la inyección. Este efecto indica la participación de la ABL por medio de los receptores noradrenérgicos y dado que éste efecto se obtiene cuando la inyección se da entre los dos estímulos se sugiere así que está involucrada en el procesamiento de la información visceral de esta tarea de aversión.

Esto indica, en resumen, que la participación de la amígdala en el aprendizaje del CAS, a través del núcleo basolateral, es necesaria.

Se sabe que dentro de la participación de la ABL en la memoria, el glutamato tiene una función importante como neurotransmisor, y que dentro de ésta acción varios de sus receptores son necesarios para la adquisición del CAS (Yamamoto *et al.*, 1997).

A continuación daré una breve introducción acerca del glutamato como neurotransmisor y de sus receptores, para después hacer una descripción de la participación de este neurotransmisor en la memoria de aversión a los sabores.

### **3.5.- El glutamato como neurotransmisor**

Uno de los neurotransmisores más extensivamente estudiados en el contexto de la plasticidad sináptica es el glutamato, que está involucrado en la plasticidad dependiente de experiencia y en la consolidación de la memoria (Bermúdez-Rattoni, 2004).

El glutamato participa en la mayoría de la neurotransmisión excitatoria del

sistema nervioso central. Su participación es muy importante en distintos procesos como es el caso de la coordinación motora, las emociones, la cognición, así como también la formación y evocación de la memoria (Siegel *et al.*, 1999).

Es un aminoácido del tipo no esencial y su síntesis se da en neuronas a partir de precursores que se encuentran en ellas. Su precursor principal es la glutamina la cual se libera por células de la glia, ésta es metabolizada por una enzima llamada glutaminasa en la terminal de la neurona presináptica para después ser empaquetado en vesículas que son liberadas durante la transmisión sináptica. Dicho proceso es dependiente de ATP y magnesio (Purves *et al.*, 2003).

Los receptores de glutamato han sido divididos en dos grupos (Purves *et al.*, 2003):

- Receptores Ionotrópicos: Existen tres tipos nombrados de acuerdo a los agonistas que provocan su activación (receptores NMDA, receptores AMPA y receptores kainato). Los receptores del tipo NMDA son canales no selectivos a cationes que permiten la entrada de calcio, sodio y potasio, y dependen de la presencia de un co-agonista (glicina) y de la liberación de magnesio que bloquea el canal cuando no está activo. La activación del canal ocurre cuando se despolariza la presinapsis y se libera el ión magnesio para después permitir el paso de iones.

Los receptores de tipo AMPA funcionan durante la transmisión excitatoria rápida y su activación provoca la mayoría de las despolarizaciones neuronales (Siegel *et al.*, 1999). Se compone de subunidades Glu R1, R2, R3 y R4 y ya formados pueden ser bloqueados específicamente dichos canales por compuestos químicos específicos como quinoxalinedionas, un ejemplo de éstas es el NBQX (6-nitro-7-sulfamobenzofurano quinoxalina-2,3-diona). El NBQX es antagonista competitivo de los receptores AMPA pero tiene un efecto débil o nulo en otros receptores (Siegel *et al.*, 1999).

Por último los receptores kainato se componen de las subunidades Glu R5, R6 y R7 y forman los receptores KA1 o KA2, los cuales para ser funcionales deben unirse entre sí.

Se sabe que los receptores NMDA y AMPA deben coexistir en la misma célula ya que actúan de manera sinérgica en la mayoría de los casos, esto se da de la siguiente manera: inicia con una estimulación que provoca la liberación presináptica de glutamato, el cual se une a sus respectivos receptores, pero únicamente se activan



los tipo AMPA que permiten la entrada de sodio y potasio a la postsinapsis, dichas iones provocan un aumento en el potencial de membrana, el cual al alcanzar un umbral provoca la despolarización de la membrana que expulsa al tapón de magnesio del receptor NMDA, éste último ahora es capaz de responder al glutamato que se une a él, dejando entrar sodio y calcio. El calcio es un segundo mensajero muy importante que activa varias cascadas de señalización intracelular. Por ejemplo, se puede unir a la proteína calmodulina que a su vez activa proteínas cinasa como la cinasa CAMK. Ésta última puede afectar a los receptores AMPA de dos maneras, la primera es fosforilándolos mientras estén en la membrana de la espina lo que provoca un aumento en la conductancia a sodio, y la segunda es promoviendo el movimiento de los receptores que se encuentren en reservorios intracelulares hacia la membrana, lo que provoca que haya más receptores disponibles para estimular la espina (Siegel *et al.*, 1999).

- Receptores metabotrópicos: Estos incluyen ocho receptores (mGluR1-8) divididos en tres clases (I-III) y se encargan de modular de manera indirecta los canales iónicos postsinápticos debido a su unión con mensajeros. Una vez activados pueden promover la inhibición de canales de calcio o sodio postsinápticos (Purves *et al.*, 2003).

En el siguiente esquema (Fig. 3.5) se observan los receptores glutamatérgicos ionotrópicos NMDA y AMPA así como los tipo I y II metabotrópicos.

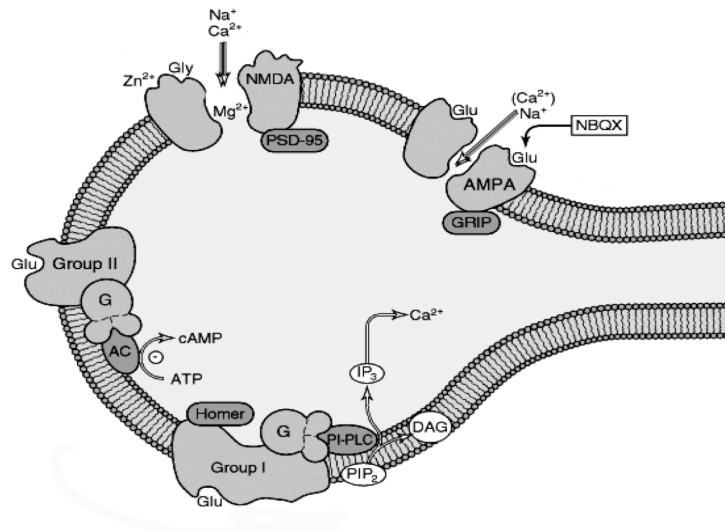


Figura 3.5. Esquema de receptores glutamatergicos. Se muestran dos tipos de receptores ionotrópicos, NMDA y los AMPA, así como también los receptores metabotrópicos tipo I y tipo II. Se muestra en un rectángulo el antagonista de receptores AMPA (NBQX). Las dos clases de receptores metabotrópicos están acoplados a proteínas G unidas a fosfolipasas (PI-PLC) para el grupo I (Group I) y a adenilato ciclasa (AC) para el grupo II (Group II). La activación de los receptores tipo II provocan que la proteína AC quede inactiva. Se cataliza la producción de inositol trifosfato (IP<sub>3</sub>) y diacilglicerol (DAG) a fosfatidilinositol-biifosfato (PIP<sub>2</sub>) por la proteína PI-PLC. Al aumentar el IP<sub>3</sub> se provoca un aumento en la liberación de calcio presente en vesículas intracelulares. Otra proteína llamada Homer tiene como papel anclar estos receptores a la membrana sináptica. (Modificado de Siegel et al., 1999).

### **3.6 Participación del glutamato en la memoria de aversión al sabor**

Estudios de potenciación a largo plazo (LTP), de condicionamiento de prevención pasiva y del condicionamiento de aversión a los sabores (CAS) indican que para los procesos involucrados en memoria se requiere de la participación de receptores glutamatergicos NMDA, AMPA y metabotrópicos (Bermúdez-Rattoni et al., 2004).

Específicamente un trabajo de 1998 de Escobar y colaboradores reportó que cuando se da una estimulación tetánica en la amígdala basolateral se puede inducir LTP en la corteza insular (CI). Esto es, mediante una estimulación de alta frecuencia que se aplica en la ABL se puede observar un incremento en las respuestas sinápticas al registrar en la corteza insular una hora después. Así bien encontraron en estos

experimentos que si se bloqueaban los receptores NMDA en la CI por medio de CPP, un antagonista de los mismos, una hora antes de la estimulación de alta frecuencia se afectaba la adquisición del CAS así como también la inducción de LTP en la corteza insular (Fig. 3.6).

El LTP se indujo con 10 trenes de alta frecuencia (1-s 100 Hz) en intervalos de 20 segundos y se registraron las respuestas en la CI por una hora. El grupo control recibió dicha estimulación pero se le aplicó solución vehículo una hora antes de la estimulación y el grupo experimental recibió la inyección del antagonista de receptores NMDA una hora antes. A otro grupo de animales se les implantaron cánulas bilaterales en la CI y después de su recuperación fueron privados para iniciar el condicionamiento de aversión a los sabores. El día de la adquisición un grupo de animales recibió una microinyección de CPP y el otro de solución vehículo, esto fue una hora antes de la presentación de sacarina como EC y diez minutos después se les inyectó cloruro de litio intraperitoneal como EI.

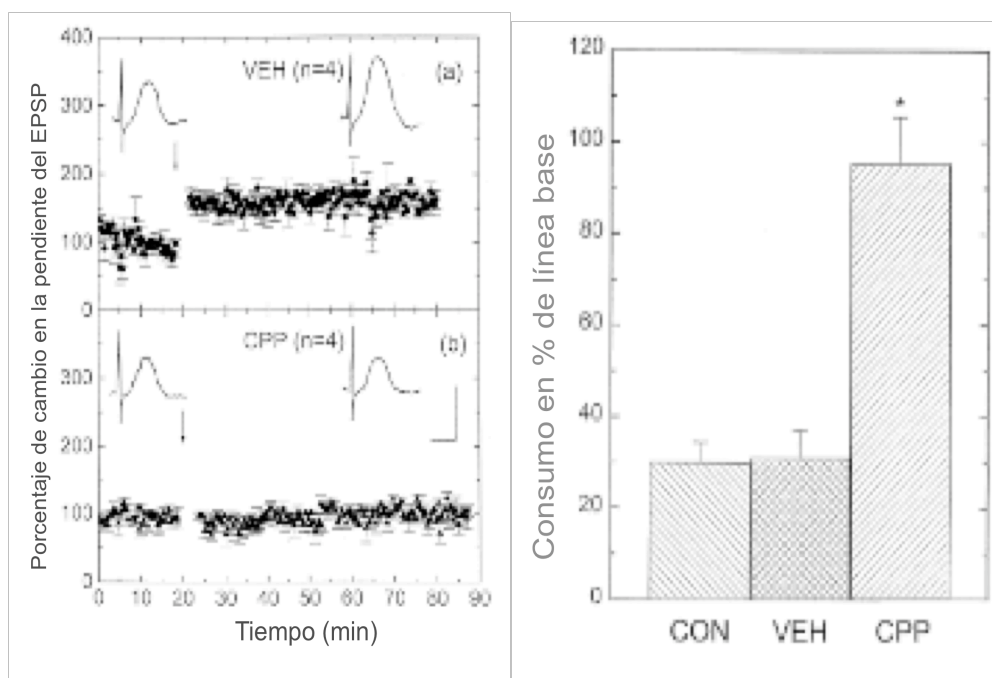
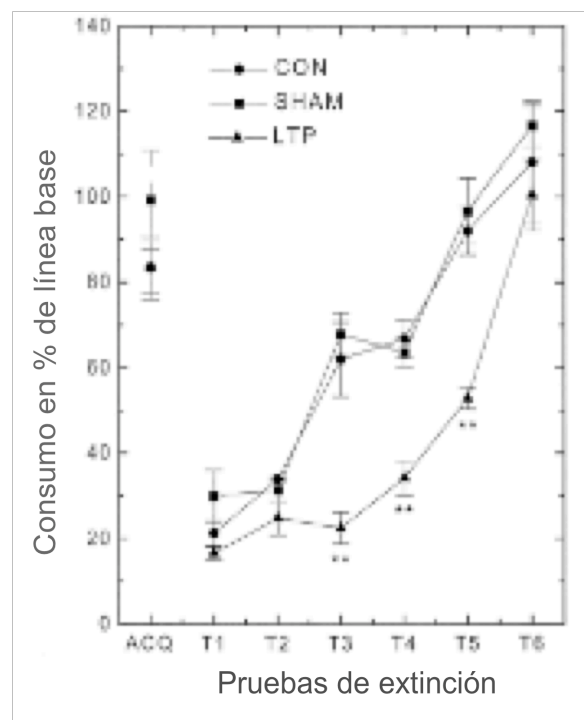


Figura 3.6. En esta figura se observa en la primera gráfica la inducción de LTP en la CI una hora después de la estimulación tetánica en ABL. Se ve el aumento de respuestas evocadas en los animales vehículo (VEH) y en los animales inyectados con CPP no se observa dicha inducción. EPSP, potenciales postsinápticos excitatorios. En la segunda gráfica se observa el efecto del CPP en CI en el CAS y se grafica el consumo de sacarina el día de la microinyección una hora antes del

consumo. CON, animales intactos (Modificado de Escobar *et. al.*, 1998).

Estos resultados sugieren que la administración del antagonista de receptores NMDA en la CI puede afectar la adquisición de la tarea del CAS de una manera similar a la inhibición que provocan estos mismos antagonistas en el LTP producido en la corteza insular (Escobar *et. al.*, 1998).

En otro trabajo relacionado se evaluó si la inducción del LTP en la CI a través de la estimulación en ABL podía provocar cambios que provocaran el mejoramiento de la tarea del CAS (Escobar y Bermúdez-Rattoni, 1999). En este reporte se llevó a cabo el mismo protocolo antes descrito para la inducción de LTP en la IC, estimulando con trenes de alta frecuencia en la ABL y una hora después se registraron los potenciales evocados en la CI, a un grupo control se le dio una estimulación que no provoca LTP y otro grupo permaneció intacto. Una semana después a los mismos animales se les entrenó en el CAS, se les dio una línea basal de agua y el cuarto día se les dio sacarina como EC y cloruro de litio como EI y se midió el consumo de sacarina durante los seis días posteriores para evaluar la participación del LTP en la memoria del CAS. El día de la adquisición no se observaron diferencias entre los grupos pero los días posteriores el grupo con LTP bebió menos sacarina lo que indica que el tratamiento aumenta la retención de la prueba (Fig. 3.7).



*Figura 3.7. En esta figura se muestra el efecto de la inducción previa al CAS de LTP y se grafica el consumo de sacarina en porcentaje de la línea basal de agua a lo largo de los días de adquisición y pruebas. Se ve un consumo menor los días de prueba (T1-T6) en el grupo de LTP en comparación con los grupos control (SHAM) y el intacto (CON) (Modificado de Escobar y Bermúdez-Rattoni, 1999).*

En resumen, los resultados anteriores demuestran que la inducción de LTP en la proyección ABL-CI antes de la tarea del CAS aumenta la retención de la misma y son coherentes con los datos anteriores donde la aplicación de CPP bloquea la adquisición del CAS y la inducción de LTP en la CI (Escobar y Bermúdez-Rattoni, 1999).

Estos datos en conjunto son de particular interés ya que sugieren que los mecanismos que están involucrados en la inducción de LTP en la ABL-CI pueden ser los mismos que ocurren en la formación de la memoria de aversión al sabor, en particular la participación de receptores glutamatérgicos en la ABL.

Utilizando otra metodología para evaluar la participación del glutamato en la formación de la memoria de aversión Miranda y cols. (2002) realizaron un estudio con microdiálisis *in vivo*. Este grupo de trabajo realizó un conjunto de experimentos donde monitorearon la liberación del neurotransmisor en la amígdala basolateral durante la presentación del estímulo condicionado e incondicionado del CAS. Sus resultados revelaron que existe un gran incremento del neurotransmisor en esta estructura después de la inducción del malestar gástrico, no así después del consumo del sabor novedoso. También encontraron que por medio de infusiones de glutamato en la misma estructura, antes de la presentación del estímulo incondicionado, es posible acentuar el CAS. En resumen encontraron que la transmisión por glutamato en este núcleo de la amígdala señala la entrada visceral del cloruro de litio (EI) durante la formación de la memoria de aversión al sabor.

Los resultados anteriores indican que la amígdala basolateral, por medio de su activación glutamatérgica, participa en la formación del CAS (Ferreira *et al.*, 2005). Así como también sugieren que esta señal glutamatérgica eventualmente converge con la señal del estímulo condicionado para la formación de esta memoria (Bermúdez-Rattoni *et al.*, 2004).

### **3.7.Participación de los receptores AMPA en la evocación de la memoria de aversión al sabor**

Existen estudios en los cuales se ha afectado la evocación de algunas tareas de aversión como consecuencia de la inhibición de los receptores AMPA a través de la infusión de CNQX, antagonista de estos receptores (Izquierdo *et al.*, 1993; Kim *et al.*, 1993 y Yasoshima *et al.*, 2005). El último trabajo en particular utilizó el condicionamiento de aversión a los sabores para estudiar los receptores glutamatérgicos.

El estudio de Yasoshima y colaboradores del 2005 reveló el papel de los receptores ionotrópicos AMPA en la evocación de la memoria de aversión al sabor. Realizaron el protocolo conductual en ratas de la siguiente manera: se les dio una línea base de agua por varios días hasta que se estabilizó el consumo, al día siguiente se les presentaron dos estímulos, EC (sacarina 0.005M) y EI (LiCl 0.15M). Al día siguiente se realizó la microinyección en la ABL de los fármacos, 20 minutos antes de la segunda exposición a la sacarina, a este día de prueba se le llamó T1, al día siguiente se repitió la presentación de sacarina (T2).

Se separaron los grupos en vehículo y experimental, los últimos fueron inyectados con alguno de los antagonistas a receptores glutamatérgicos: CNQX, D-APV o MCPG. Se utilizó como solución vehículo el enantiómero inactivo de cada uno de los reactivos anteriores para cada caso.

Las ratas que fueron inyectadas con CNQX no presentaron aversión al sabor el día T1 en comparación con los animales de los demás grupos los cuales bebieron menos sacarina, como se muestra en la siguiente gráfica (Fig. 3.8). Al día siguiente, en T2, todos los animales, incluyendo los inyectados con CNQX presentaron una gran aversión al sabor, lo cual indica que el efecto de la droga amnésico fue temporal y reversible.

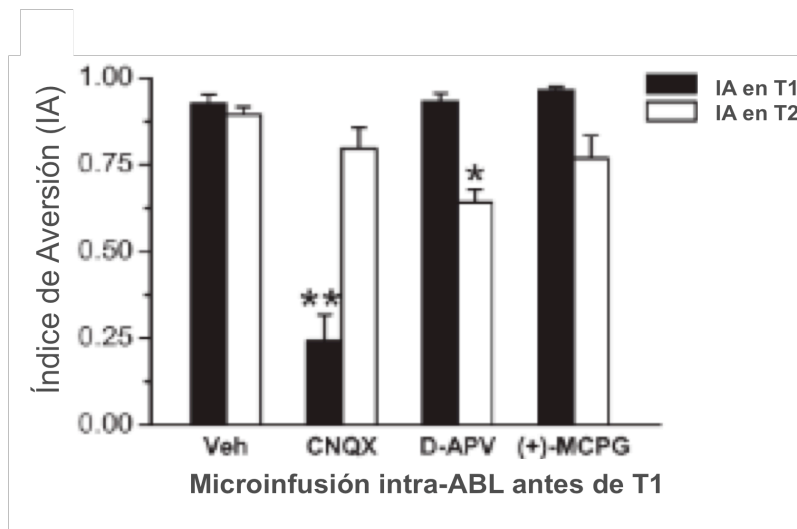


Figura 3.8. En esta figura se muestra el efecto de la inyección de antagonistas de tres tipos diferentes de receptores glutamatérgicos. Se graficó el consumo de sacarina representado en índice de aversión, para cada grupo durante el día 1 (T1) cuando se llevó a cabo la inyección y día 2 (T2). Se observa un menor índice de aversión en el grupo inyectado con CNQX en el T1 por lo que dicho fármaco afectó la evocación de la memoria de aversión, mientras que ninguno de los otros fármacos tuvo ese efecto. sin embargo durante el T2 los animales inyectados con CNQX si presentaron un alto índice de aversión (Modificado de Yasoshima et al., 2005).

En resumen, los resultados obtenidos en este trabajo revelaron que la actividad de los receptores AMPA en la ABL es indispensable para la evocación del CAS, no así los receptores del tipo NMDA o metabotrópicos. Estos resultados también sugieren que el bloqueo de los receptores AMPA no modifica el trazo de memoria ya que el segundo día los animales presentaron aversión al sabor (Yasoshima et al., 2005).

#### **IV.- La teoría de la reconsolidación.**

En el año 2000, Nader y colaboradores encontraron que una memoria previamente consolidada es susceptible de ser afectada por medio de un inhibidor de síntesis de proteínas después de ser evocada.

En estos experimentos utilizaron el paradigma conductual del condicionamiento auditivo del miedo, el cual consiste en la asociación de un tono como estímulo condicionado, con un choque eléctrico en la pata como estímulo incondicionado. Como respuesta a esta asociación los animales presentan una respuesta de congelamiento cuando se presenta el EC nuevamente. Los investigadores

realizaron el protocolo antes descrito en ratas y 24 horas después presentaron únicamente el tono para que hubiera una reactivación de la memoria e inmediatamente después realizaron microinyecciones bilaterales de anisomicina (inhibidor de la síntesis proteica). Éstas las realizaron en la amígdala basolateral, una estructura implicada en el aprendizaje de esta tarea. Al día siguiente volvieron a presentar únicamente el EC, para realizar la prueba de memoria, en la cual midieron el porcentaje de congelamiento de los animales. Durante la prueba de memoria los animales inyectados con anisomicina presentaron un porcentaje de congelamiento menor en comparación con los animales vehículo como se muestra en la siguiente figura 4.1., indicando que se requiere de la síntesis de proteínas en la ABL para estabilizar una memoria del miedo previamente consolidada. Sin embargo cuando se realizaron las microinyecciones 24 horas después del condicionamiento sin la presentación del tono, es decir sin reactivación, los animales presentaron el mismo porcentaje de congelamiento en comparación con los vehículo. Lo anterior indica que se necesita de la reactivación para que la memoria sea susceptible de ser afectada.

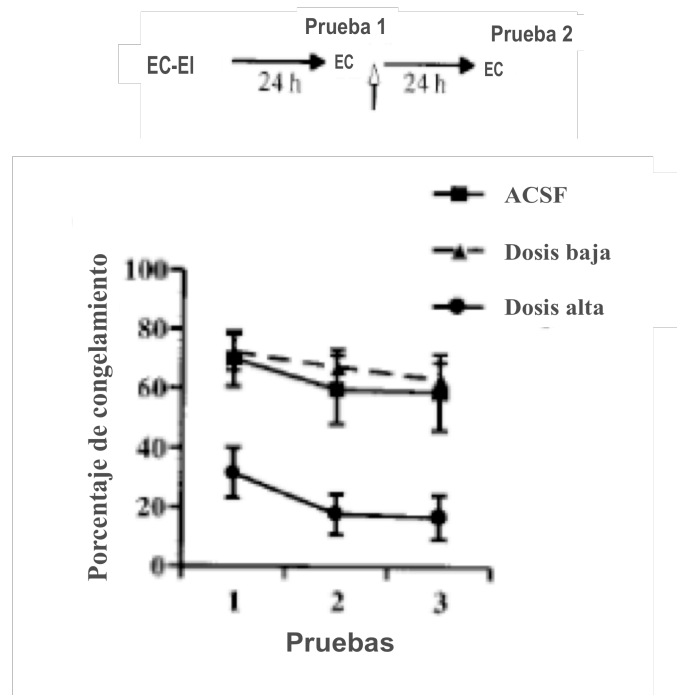


Figura 4.1. a) En esta figura se muestra arriba el protocolo conductual llevado a cabo en el trabajo antes descrito El primer día se realizó el condicionamiento donde se presentaron los dos estímulos (EC-EI). Al siguiente día (Prueba 1) se presentó el tono e inmediatamente se dio el tratamiento de anisomicina en la ABL. La prueba de memoria se realizó el día posterior a la inyección presentando de nuevo el EC (Prueba 2). b) En esta gráfica se muestra el porcentaje de congelamiento de los animales durante los tres ensayos realizados el día de la



*prueba 2. Se observa que los animales inyectados con anisomicina en alta dosis presentan un porcentaje menor de congelamiento en comparación con los vehículo (ACSF) o los inyectados con baja dosis lo que revela una falta de memoria (Modificado de Nader et al., 2000).*

Los resultados anteriores demostraron que la memoria después de ser reactivada es susceptible a la inhibición de la síntesis de proteínas como lo es cuando está siendo consolidada. A este proceso se le denominó reconsolidación.

El primer reporte en el que se observó el fenómeno de la reconsolidación fue el de Misanin y colaboradores de 1968, aunque no tuvo gran impacto hasta años recientes (Nader, 2003). En ese estudio se utilizó el mismo paradigma conductual que el trabajo anterior, pero se aplicaron choques electroconvulsivos en la rata para inducir amnesia. El resultado fue que 24 horas después del entrenamiento, el tratamiento de choques posterior a la presentación del tono provocó una falta de memoria cuando ésta fue evaluada un día después de los choques. A este fenómeno se le denominó amnesia dependiente de clave, más tarde llamado reconsolidación.

La reconsolidación se ha definido como el mecanismo por el cual una memoria previamente consolidada es estabilizada nuevamente por medio de la síntesis de proteínas después de ser evocada (Tronson y Taylor, 2007).

#### **4.1. La reconsolidación de la memoria no depende de evocación**

La reconsolidación de la memoria es un proceso por el cual las memorias previamente establecidas son estabilizadas y se sabe que el proceso iniciador para que ocurra es la reactivación de la memoria (Tronson y Taylor, 2007). Hasta hace unos años no se había reportado alguna evidencia que mostrara que la reconsolidación podía ocurrir sin la evocación de la memoria, incluso en la mayoría de los trabajos de reconsolidación se reporta un experimento control en el cual la reconsolidación de los animales que no habían tenido una sesión de reactivación de la memoria no se veía afectada con los tratamientos utilizados.

Por ejemplo el trabajo de Nader y colaboradores del 2000 en el cual entrenaron a los animales en el condicionamiento de miedo al contexto y utilizaron como EC un tono y como EI un choque eléctrico. Al día siguiente presentaron únicamente el EC para reactivar la memoria e inmediatamente después inyectaron anisomicina, mientras otro grupo fue inyectado sin la presentación previa del tono. Lo que observaron fue que únicamente se afectó la reconsolidación de la memoria del grupo que tuvo una sesión de reactivación de la memoria, mientras que la memoria del otro grupo de animales permaneció intacta. No fue hasta el año 2006 cuando en un trabajo se reportó un experimento en el cual se afectó la reconsolidación cuando se había bloqueado la evocación de la memoria de miedo a un tono.

En éste último trabajo mencionado (Ben-Mamou *et al.*, 2006) se realizaron experimentos con el objetivo de evaluar si los receptores glutamatérgicos, tipo AMPA son necesarios para la reconsolidación de una memoria del miedo después de su reactivación. En dicho estado la memoria es dependiente de nueva síntesis de proteínas para estabilizarse de nuevo, ya que la anisomicina tiene efectos sobre el trazo de memoria previo cuando es inyectada en la reactivación de la misma. El objetivo de este trabajo fue evaluar si existía un papel crítico de alguno de estos receptores en la transformación de la memoria auditiva del miedo en la amígdala basolateral de un estado consolidado a un estado lábil. Utilizaron el paradigma de condicionamiento auditivo del miedo en ratas, en el cual se aparea un tono como estímulo condicionado (EC) con un choque eléctrico en la pata del animal como estímulo incondicionado (EI). Dicho apareamiento se realizó el primer día, y el día posterior se realizó la sesión de reactivación durante la cual sólo se presentó el estímulo condicionado. Durante este día se realizaron microinyecciones del antagonista de receptores AMPA/kainato, CNQX, antes de la presentación del EC y posteriormente la de anisomicina, o bien la de sus respectivos vehículos. Se realizó una prueba para evaluar la memoria de corto plazo 4 horas después de la reactivación (PR-MCP) y una para la de largo plazo 24 horas después (PR-MLP).

La inactivación de los receptores AMPA no tuvo ninguna consecuencia en la inducción de labilidad de la memoria, con tratamiento de anisomicina, ya que durante la prueba de largo plazo este grupo de animales presentó menor conducta de congelamiento, lo cual indica que bajo estas condiciones la inhibición de síntesis de

proteínas afectó la reconsolidación. Su efecto fue sobre la evocación de la memoria de miedo el día de la reactivación ya que los animales inyectados sólo con CNQX o acompañado de anisomicina presentaron un porcentaje menor de congelamiento, en comparación con el grupo vehículo, lo que muestra que no fueron capaces de recordar al no mostrar una conducta de miedo. El grupo de animales que recibió el tratamiento de CNQX sin anisomicina presentó una conducta normal de congelamiento en las pruebas de corto y largo plazo, mientras que los animales con tratamiento de CNQX y anisomicina presentaron un menor porcentaje de congelamiento (Figura 4.2). Lo anterior indica que el tratamiento con CNQX no impide que se afecte la reconsolidación de la memoria aunque en el grupo de CNQX con anisomicina se haya reducido la reactivación el día de la inyección. En resumen estos datos demuestran que los receptores AMPA son críticos para la expresión del condicionamiento de miedo al contexto (Ben-Mamou *et al.*, 2006).

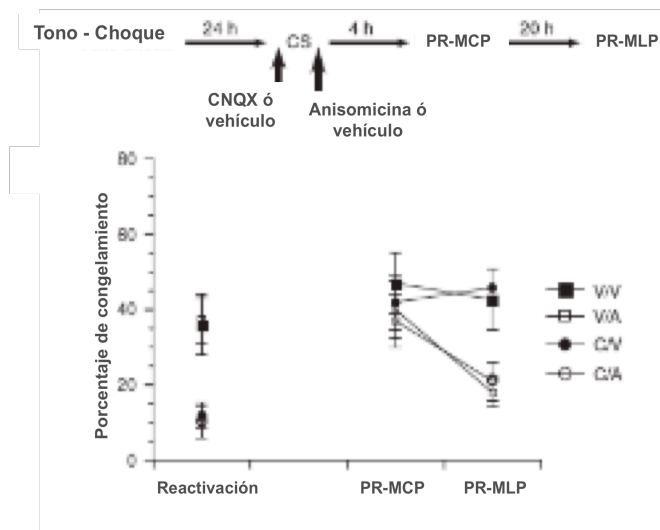


Figura 4.2. a) En el primer esquema se muestra el protocolo conductual que se llevó a cabo, se realizó el apareamiento de los dos estímulos, tono-choque, y 24 horas después se inyectaron los fármacos antes o después de la presentación del estímulo condicionado (CS). Se realizó la prueba de largo plazo al día siguiente presentando nuevamente el tono. b) En esta gráfica se muestra el porcentaje de congelamiento en la fase de reactivación, durante la cual se aplicó el tratamiento farmacológico, así como también la conducta durante las pruebas de corto (PR-MCP) y largo plazo (PR-MLP). En estos días se presentó únicamente el tono. Se observa un efecto del bloqueo de los receptores AMPA sólo sobre la evocación de la memoria durante la fase de reactivación ya que los animales inyectados con CNQX (C/V, C/A) presentaron una conducta menor de congelamiento en comparación con los vehículo (V/V, V/A). Al día siguiente los animales que fueron inyectados con anisomicina y con CNQX (C/A) o sólo con anisomicina (V/A), presentaron un congelamiento menor, lo que indica que se afectó la reconsolidación de la memoria

*(Modificado de Ben-Mamou et al., 2006).*

Estos autores sugieron que el hecho de que una memoria pueda reconsolidarse sin que haya ocurrido su expresión podría ser útil para la aplicación clínica donde se utiliza la reconsolidación en terapias de memorias traumáticas, en particular del síndrome de estrés post-traumático. De esta manera en estos tratamientos los pacientes ya no tendrían que recordar los eventos traumáticos de manera explícita ya que es una experiencia desagradable para ellos (Ben-Mamou *et al.*, 2006).

En conclusión, los resultados de este trabajo demostraron que los receptores AMPA son esenciales para la evocación de la memoria del miedo en la amígdala basolateral pero no así para su reconsolidación.

#### **4.2. La teoría de la actualización de la memoria.**

En estudios recientes, se ha discutido la función de la reconsolidación y se ha propuesto que es un mecanismo por el cual se actualiza un trazo de memoria. Uno de estos trabajos es el de Rodríguez-Ortiz y colaboradores del 2005, en el cual a través de la inhibición de síntesis de proteínas en la CI de ratas después de la reactivación de la atenuación de la neofobia se afectó la memoria de esta tarea. La atenuación de la neofobia consiste en presentar un sabor novedoso al animal, como éste no conoce las consecuencias del consumo del sabor bebe poco del mismo, si este sabor no tiene ningún tipo de consecuencia nociva, los días posteriores incrementará el consumo del sabor hasta llegar a una asíntota conductual. Los investigadores presentaron como sabor novedoso sacarina y el día posterior realizaron microinyecciones de anisomicina después de la segunda presentación del sabor, durante la cual los animales bebieron un mayor volumen de sacarina en comparación con el primero. Al día siguiente al presentar de nuevo la sacarina se observó en los animales inyectados con anisomicina una reducción en el consumo de sacarina en comparación con los animales vehículo pero esta reducción no llegó al mismo nivel del primer día (Figura 4.3), lo cual indica que se afectó el trazo previo de memoria de manera parcial por lo que se afectó la reconsolidación de la memoria por medio de la inhibición de síntesis de proteínas. Sin embargo, cuando se dio el tratamiento después de la sexta

presentación del sabor, cuando ya se ha llegado a una asíntota conductual, el tratamiento no tuvo ningún efecto. Lo anterior sugiere que si no existe información relacionada para ser aprendida, la memoria ya no es susceptible a ser afectada.

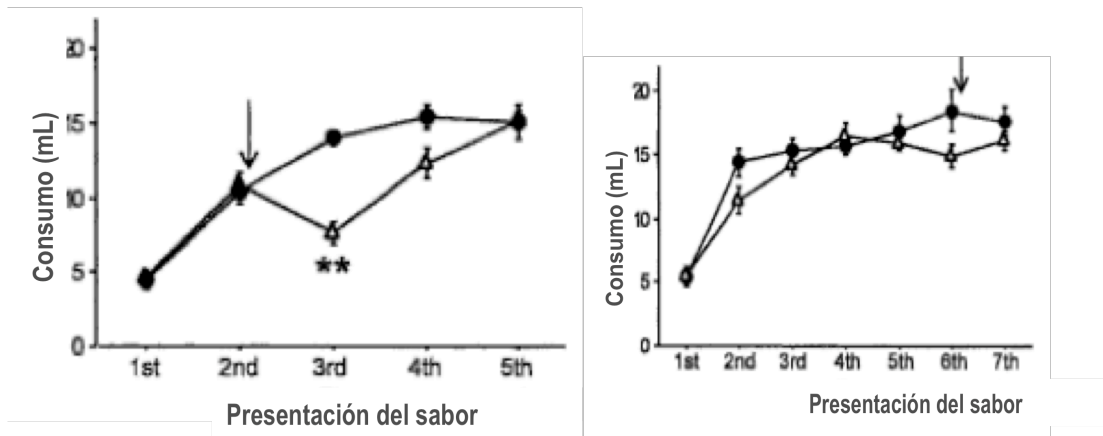


Figura 4.3. En la primer gráfica se muestra que la inhibición de síntesis de proteínas puede afectar el trazo previo de memoria de manera parcial. Se presenta el consumo en mL de sacarina a través de cinco días, se observa que los animales inyectados (flecha) con anisomicina (triángulos) inmediatamente después de la segunda presentación del sabor tienen un consumo menor al día anterior durante el tercer día en comparación con los vehículo (círculos) que incrementan su consumo. Si se ha llegado a una asíntota de desempeño, la anisomicina ya no tiene ningún efecto sobre la memoria (segunda gráfica) (Modificado de Rodríguez-Ortiz et al., 2005).

Dado que no se vio afectada la memoria cuando se había llegado a la asíntota de desempeño, probablemente debido a que ya no existía más información acerca del sabor, se inyectó un inductor de malestar gástrico, cloruro de litio, el sexto y séptimo día, y se observó que la anisomicina administrada bajo estas condiciones puede afectar la memoria como se muestra en la siguiente gráfica (4.4). Lo anterior indica que la inhibición de síntesis de proteínas tiene efecto sobre la memoria cuando se agrega información nueva relacionada, en este caso que el consumo del sabor ya no es seguro para el animal.

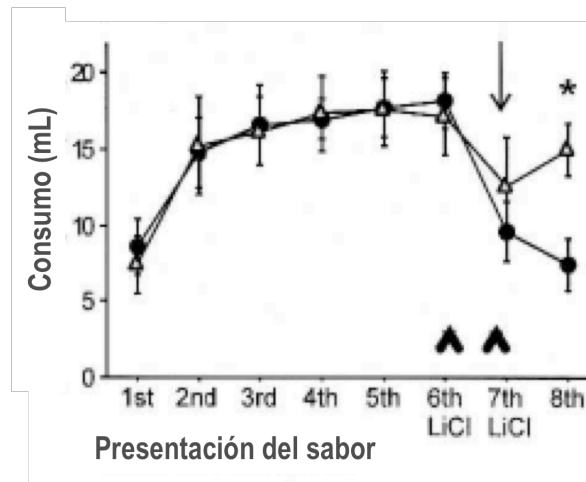


Figura 4.4. En esta figura se muestra que la anisomicina (triángulos) tiene efecto sobre la memoria previamente consolidada cuando existe información nueva relacionada, en este caso que el sabor dejó de ser seguro para la rata ya que se dio LiCl como inductor de malestar gástrico. La flecha indica la inyección intracerebral (Modificado de Rodríguez-Ortiz et al., 2005).

Se ha propuesto como hipótesis que la reconsolidación es un proceso en sí de actualización, dependiente de síntesis de nuevas proteínas y por medio del cual es posible agregar información relevante a la memoria previamente establecida (Rodríguez-Ortiz y Bermúdez-Rattoni, 2007).

Aunque el trabajo antes descrito y otros han demostrado que el proceso de reconsolidación sólo se observa bajo condiciones donde se actualiza la memoria, no se había demostrado si para actualizar la memoria es necesario que se de el proceso de reconsolidación. En el trabajo descrito a continuación se demostró el punto antes mencionado.

En el trabajo de Lee del 2008 se utilizó el condicionamiento de miedo al contexto en rata, en el cual se asocia un choque eléctrico (EI) con un contexto (EC), por lo que al colocar de nuevo al animal en el contexto se observa una conducta de congelamiento como respuesta al EI. Lee inyectó  $\beta$ -lac en el hipocampo dorsal, un inhibidor del proteosoma encargado de degradar proteínas. Un reporte previo encontró que se necesita desestabilizar la memoria por medio de la degradación de proteínas para poder reconsolidarla; al inyectar el inhibidor del proteosoma acompañado de anisomicina después de la evocación, se bloqueó el efecto sobre la reconsolidación que tiene la anisomicina (Lee et al., 2008).

Por lo tanto Lee realizó experimentos para evaluar el papel que tiene la degradación de proteínas en la actualización de la memoria. Se realizaron dos adquisiciones del condicionamiento, inmediatamente después del segundo se inyectó anisomicina (ANI),  $\beta$ -lac, anisomicina/ $\beta$ -lac o bien sus respectivos vehículos. La prueba de memoria se realizó 24 horas después y se observó que los animales inyectados con anisomicina presentaron una reducción en el porcentaje de tiempo de congelamiento con respecto al día anterior, mientras que los animales vehículo aumentaron su conducta de congelamiento, lo cual indica que este tratamiento afectó la reconsolidación de la memoria. Sin embargo, los animales que tuvieron tratamiento con  $\beta$ -lac acompañado o no de anisomicina, no presentaron cambios en la conducta de congelamiento en comparación con el día anterior, es decir, se mantuvo la memoria previamente adquirida en el mismo nivel. Lo anterior confirma que es necesario desestabilizar el trazo previo de memoria para reconsolidar, pero también indica que se necesita de esa desestabilización para actualizar la memoria (Fig. 4.5) (Lee, 2008).

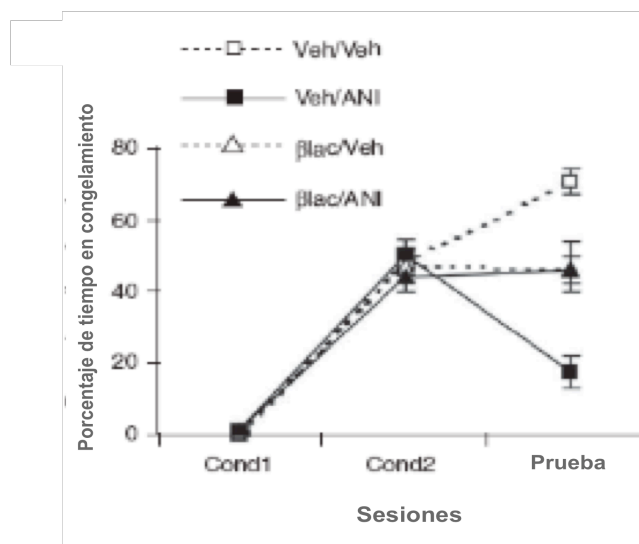


Figura 4.5. En esta gráfica se muestra el porcentaje de congelamiento durante dos adquisiciones del condicionamiento de miedo al contexto y en la prueba de memoria realizada 24 horas después. Se observa que los animales inyectados con veh/ani presentan una falta de memoria el día de la prueba ya que disminuye su conducta de congelamiento, mientras que en los vehículo se observa un incremento en el congelamiento. Sin embargo los animales que fueron inyectados con  $\beta$ -lac/ani o  $\beta$ -lac/Veh presentan la misma conducta que el día del segundo condicionamiento, manteniendo la memoria en el mismo nivel, lo anterior indica que para actualizar y reconsolidar una memoria es necesaria la desestabilización por

*medio de degradación de proteínas (Modificado de Lee, 2008).*

En conclusión este trabajo indica que para que se de la incorporación de nueva información a la memoria previamente consolidada es necesario que ocurra el proceso de reconsolidación.

Por lo anterior, es de particular interés determinar si otros procesos mnémicos son necesarios para ocurra la actualización de la memoria.

Por lo tanto en esta tesis se plantea probar si el proceso mnémico de evocación es necesario para que se actualice la memoria. En particular se estudiará la memoria de aversión a los sabores.



## **V.- Planteamiento del problema, hipótesis, objetivos**

### **5.1. Planteamiento del problema**

1.- Dado los antecedentes descritos, la amígdala basolateral es una estructura indispensable para la evocación del CAS, a través de la actividad de los receptores AMPA/kainato. El efecto sobre la memoria del bloqueo farmacológico de estos receptores es temporal y no afecta pruebas posteriores de memoria.

2.- La participación de estos receptores en la amígdala basolateral es exclusivo sobre la evocación de la memoria, por lo tanto, el bloqueo de los mismos antes de una segunda adquisición del CAS permitirá evaluar si la evocación de la memoria del CAS es necesaria para actualizar dicha memoria. Esto es, permitirá evaluar si los procesos de adquisición y consolidación de información relacionada a una memoria previamente establecida son independientes del proceso de evocación.

### **5.2.Hipótesis**

La actualización de la memoria de aversión al sabor no es dependiente del proceso de evocación.

El objetivo de este trabajo es evaluar la hipótesis anterior a través de los siguientes objetivos específicos.

### **5.3.Objetivos específicos**

1.- Corroborar la participación de los receptores AMPA/kainato en la evocación de la memoria del condicionamiento de aversión al sabor en la amígdala basolateral, incluso en condiciones de asíntota de desempeño de la tarea conductual.

2.- Evaluar si los receptores AMPA/kainato son necesarios para los procesos de adquisición y/o consolidación de la memoria del condicionamiento de aversión al sabor en la amígdala basolateral.

3.- Determinar si los procesos de adquisición y/o consolidación de la memoria del condicionamiento de aversión son dependientes de la evocación mediada por receptores AMPA/kainato en la amígdala basolateral.

4.- Determinar si la actualización de la memoria del condicionamiento de aversión es dependiente del proceso de evocación mediada por receptores AMPA/kainato en la amígdala basolateral.

## **VI.- Metodología**

### **6.1. Sujetos**

Se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar (79) con un peso inicial entre 250 y 300 gramos, dichos animales fueron obtenidos del bioterio del Instituto de Fisiología Celular, UNAM. Cada animal se colocó en una caja y se mantuvo bajo las siguientes condiciones ambientales: temperatura de  $22 \pm 1$  °C, ciclo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad, y con acceso ilimitado a comida, el agua se restringió en tiempos determinados durante la fase experimental, la cual se llevó a cabo durante la fase de luz.

### **6.2. Cirugía e implantación de cánulas**

Los animales fueron anestesiados previamente con una inyección intraperitoneal (i.p.) de una mezcla de ketamina (76 mg/ Kg) y xilazina (8 mg/ Kg). Usando un aparato estereotáxico se les implantaron cánulas bilaterales guía de 23Ga y de 12 mm de largo a los animales de acuerdo a los procedimientos establecidos para la amígdala basolateral (coordenadas: posterior 2.8mm, lateral  $\pm 5$ mm, y ventral 6.5mm con respecto a Bregma) (Paxinos y Watson, 1998). Se utilizó una fresa dental para perforar el cráneo e introducir las cánulas guía en el cerebro, dos milímetros arriba de la estructura a estudiarse para evitar lesiones. Posteriormente fueron fijadas con cemento dental y dos tornillos sujetos al cráneo del animal. Al final del procedimiento se aplicó penicilina como antibiótico para evitar infecciones. Se dejó descansar y recuperar a los animales de la implantación por 7 días durante los cuales tuvieron libre acceso a comida y agua, después se comenzó con los procedimientos conductuales.

### **6.3. Fármacos**

Se utilizó como vehículo solución salina (NaCl al 0.9%). Se utilizó el antagonista de receptores AMPA/kainato de glutamato, NBQX (6-nitro-2,3-dioxo-1,4-dihydrobenzo [f]quinoxalina-7-sulfonamida) en una concentración de 5 mg/mL.

## **6.4. Microinyecciones**

Se inyectó el fármaco o solución vehículo a través de agujas dentales introducidas en las cánulas guía y que rebasaron por 2 mm el sitio de canulación utilizando una jeringa Hamilton de 25  $\mu\text{L}$ , la cual se manejó con una bomba automática de microinyección. Se inyectó 0.5  $\mu\text{L}$  por hemisferio en la amígdala basolateral durante un minuto, al terminar este tiempo se dejó el inyector dentro de la cánula un minuto adicional para permitir la completa difusión del fármaco en el tejido.

## **6.5. Procedimientos conductuales**

### **6.5.1. Inyección antes de la evocación del condicionamiento de aversión a los sabores (CAS)**

Se privó a los animales de agua por 24 horas. Durante los siguientes tres días se les proporcionó, durante 15 minutos, agua a cada animal a través de una probeta graduada y un tapón metálico que funcionaron como bebedero, al final se registró el consumo de agua de cada animal para calcular la tasa de consumo base (línea base). Al siguiente día se realizó el condicionamiento en el cual se proporcionó sacarina 0.1% durante 15 minutos y se registró el consumo individual, 15 minutos después se les aplicó una inyección intraperitoneal de cloruro de litio 0.15 M (10 mL/kg). Cuatro horas después del condicionamiento se les dio a los animales agua durante 15 minutos para evitar su deshidratación. Al día siguiente se realizaron las microinyecciones 20 minutos antes de un segundo condicionamiento con sacarina y cloruro de litio y por la tarde se les proporcionó agua para evitar deshidratación, se registraron los consumos. El día posterior se presentó sacarina 0.1% por 15 minutos para evaluar la memoria.

### **6.5.2. Inyección antes de la evocación del condicionamiento de aversión a los sabores (CAS) en condiciones de asíntota de desempeño.**

Dos grupos de animales (experimento 2) recibieron 4 adquisiciones con sacarina y cloruro de litio con el mismo procedimiento conductual descrito arriba para llegar a una asíntota de desempeño de la tarea. Fueron inyectados, uno con solución vehículo y el otro con NBQX, 20 minutos antes de la quinta adquisición. La prueba se

realizó al día siguiente y consistió en la presentación de sacarina por 15 minutos. Cuatro horas después de cada condicionamiento se dio agua por 15 minutos para evitar deshidratación.

### **6.5.3. Inyección antes de la primera adquisición del CAS**

Para descartar efectos del NBQX sobre la adquisición y/o consolidación de la memoria del CAS, dos grupos de animales (experimento 3) recibieron 3 días de línea base y al cuarto día fueron inyectados, uno con solución vehículo y el otro con NBQX, 20 minutos antes de la primera adquisición con sacarina y cloruro de litio como se describió arriba. Al día siguiente se les dio una segunda adquisición y se les realizó la prueba con sacarina un día después. Se les proveyó con agua por 15 minutos para evitar deshidratación cuatro horas después de cada condicionamiento.

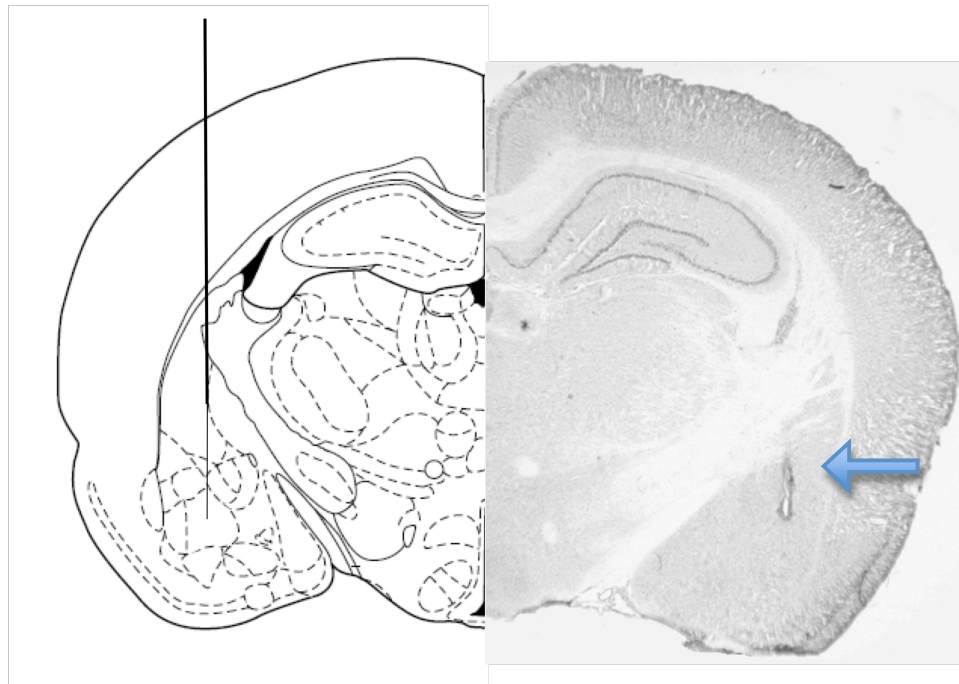
### **6.5.4. Inyección antes de la primera presentación de un sabor no familiar**

Para descartar efectos del NBQX sobre el consumo del sabor, dos grupos de animales (experimento 4) recibieron tres días de línea base de agua y el cuarto día se les presentó por primera vez un sabor cuyo consumo es reducido en comparación al consumo de sacarina 0.1% (sacarina 0.3%) por 15 minutos. 20 minutos antes de la presentación de sacarina, un grupo fue inyectado con solución vehículo y el otro con NBQX en la amígdala basolateral. A todos los animales se les proporcionó agua durante 15 minutos para evitar deshidratación inmediatamente después del consumo de sacarina.

### **6.5.5. Histología**

Para corroborar los procedimientos quirúrgicos y saber si las cánulas implantadas se encontraban en la estructura estudiada se realizó un análisis histológico. Al terminar los procedimientos conductuales, las ratas fueron inyectadas con una sobredosis de pentobarbital sódico, después se prefundieron vía aórtica con solución salina a concentración fisiológica de 0.9% para evitar cambios en el tejido. Se extrajeron los cerebros y se colocaron en paraformaldehído al 4% para fijar el tejido. Posteriormente se colocaron en solución de sacarosa al 10, 20 o 30% (24 horas en cada concentración). Días después se realizaron cortes del tejido cerebral de 40

micras con un micrótopo y se montaron los cortes en laminillas. Una vez listas las laminillas se realizó una tinción con violeta de cresilo y se observaron en el microscopio para verificar la localización de las cánulas implantadas. En la siguiente figura (6.1) se muestra una fotografía de un corte realizado en la ABL de una rata utilizada para estos experimentos y se observa el inyector localizado en esta estructura



*Figura 6.1. Corte coronal del cerebro de rata. En la derecha, la fotografía muestra la localización del inyector en la amígdala basolateral (flecha). A la izquierdo se muestra un esquema de la región (Paxinos y Watson, 1998).*

#### **6.6.6. Análisis estadístico**

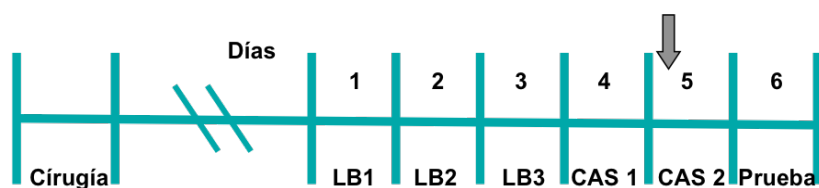
Se realizaron pruebas  $t$  de Student no pareadas para comparar el consumo de sacarina entre los grupos vehículo y NBQX en un día determinado. Un nivel de probabilidad  $< 0.05$  fue aceptado como estadísticamente significativo. También se realizaron pruebas  $t$  de Student pareadas para comparar el consumo de sacarina entre dos días para el mismo grupo, se consideró un nivel de probabilidad  $< 0.05$  como estadísticamente significativo.

## **VII.- Análisis de resultados**

### **7.1. Experimento 1**

#### **Efecto del bloqueo de receptores AMPA/kainato durante la evocación del CAS en la amígdala basolateral**

En este experimento las ratas fueron canuladas en la amígdala basolateral y posteriormente se les realizó el protocolo conductual del CAS. Se les privó durante un día de agua y en los tres días siguientes se les dio la línea base. El cuarto día se les dio una primera adquisición de CAS con sacarina y cloruro de litio, y el quinto día se les realizó la microinyección de NBQX o de solución vehículo 20 minutos antes de la segunda adquisición del CAS. Al sexto día sólo se les presentó sacarina por 15 minutos sin presentar después el cloruro de litio, a este último registro se le denominó prueba.



*Figura 7.1. Procedimiento conductual del experimento 1. En este esquema se muestra el protocolo conductual que se siguió en este experimento. Los primeros tres días todos los animales recibieron por 15 minutos agua (LB1-LB3). El cuarto día recibieron sacarina 0.1% por 15 minutos, y 15 minutos después recibieron una inyección intraperitoneal (i.p.) de LiCl (CAS 1). En el quinto día se les inyectó en la ABL (flecha) NBQX o solución salina (NaCl al 0.9%) 20 minutos antes de proporcionarles sacarina por 15 minutos y 15 minutos después se les inyectó LiCl i.p. (CAS 2). El sexto día se realizó la prueba en la cual se les presentó a los animales por 15 minutos sacarina sin LiCl.*

Como se muestra en la figura 7.2, los animales inyectados con solución vehículo presentaron en la segunda adquisición, un consumo menor del 60% del consumo observado en la primera presentación del sabor (círculos negros), lo cual indica que consolidaron la adquisición del primer CAS; además, estas mismas ratas mostraron en la prueba, un consumo menor al 30% con respecto al primer consumo. Este resultado indica que adquirieron y consolidaron el segundo CAS. Se realizaron pruebas de *t* de Student pareadas para comparar los consumos del grupo vehículo

entre CAS 1 y CAS 2, así como también entre CAS 2 y la prueba. Dichos resultados revelaron diferencias significativas en ambos casos, lo que confirma que adquirieron y consolidaron la memoria de aversión al sabor después de los dos condicionamientos (CAS 1-CAS2  $t_{(7)}= 7.222$ ,  $p < 0.01$ ; CAS2-Prueba  $t_{(7)}= 4.155$ ,  $p < 0.01$ ).

Por el contrario, el consumo de sacarina de los animales inyectados con NBQX antes del segundo CAS es similar en la primera y segunda adquisición (triángulos blancos). Además, el consumo en el segundo CAS es mayor al de los inyectados con solución vehículo, lo cual indica que la evocación de la memoria de aversión al sabor del grupo inyectado con NBQX se vio afectada durante ese día. Un análisis con prueba de  $t$  de Student no pareada entre ambos grupos reveló diferencias significativas en el segundo CAS ( $t_{(15)}= -3.382$ ,  $p < 0.05$ ). También se realizó una prueba de  $t$  de Student pareada entre los consumos del grupo inyectado con NBQX para CAS 1 y CAS 2, la cual no mostró diferencias significativas entre los consumos ( $t_{(8)}= 0.209$ ,  $p$  NS). Estos resultados apoyan la hipótesis de que se afectó la evocación de la memoria de aversión al sabor con el bloqueo de los receptores AMPA/kainato.

En el día de la prueba no se observaron diferencias entre los consumos de ambos grupos, lo que apunta a que los dos grupos pudieron asociar y consolidar las dos presentaciones del CAS a pesar del bloqueo de los receptores AMPA/kainato en el grupo experimental durante el segundo CAS. Ambos grupos consumieron menos sacarina en la tercera presentación lo que indica una mayor aversión al sabor. Una prueba de  $t$  de Student no pareada no reveló diferencias significativas para el tercer consumo de sacarina entre los dos grupos ( $t_{(15)}= -1.546$ ,  $p$  NS). Además, un análisis de  $t$  de Student entre el CAS 2 y la prueba para el grupo inyectado con NBQX ( $t_{(8)}= 4.521$ ,  $p < 0.01$ ) mostró diferencias altamente significativas, lo cual sugiere que a pesar de la falta de evocación, el grupo experimental fue capaz de adquirir y consolidar ambos condicionamientos. Estos resultados apuntan a que en la amígdala basolateral son necesarios los receptores AMPA/kainato para evocar la memoria de aversión al sabor pero no para adquirirla o consolidarla. Además, estos datos sugieren que la adquisición y consolidación de dicha memoria no es dependiente de su evocación.



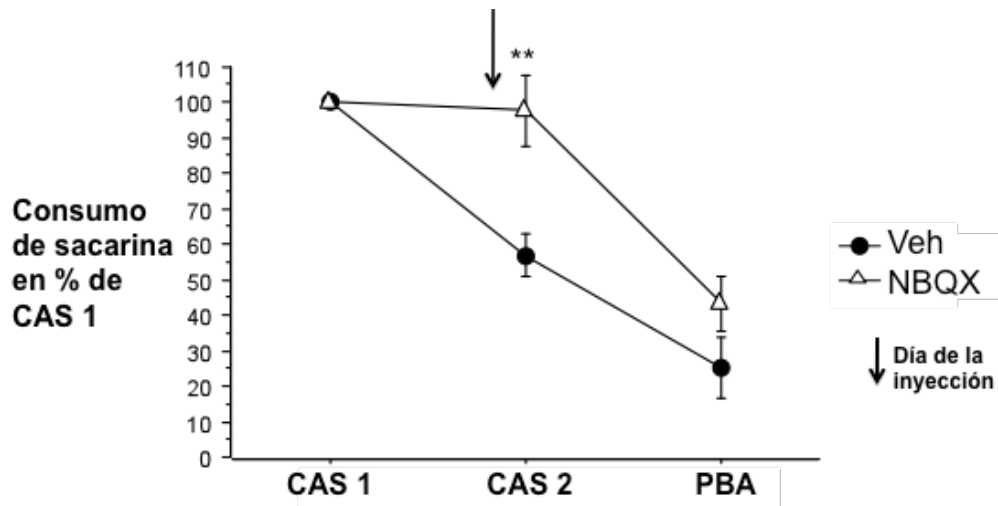


Figura 7.2. Bloqueo de receptores AMPA/kainato en la ABL durante la evocación del CAS. En esta figura se muestran los consumos (en % de CAS 1) de ambos grupos de las dos adquisiciones del CAS y de la prueba. Se puede observar el efecto del fármaco en la evocación de la memoria de aversión al sabor pero no así en su adquisición o consolidación. La flecha indica el momento de la microinyección. \*\*=  $p < 0.01$  entre los grupos en el CAS 2.

## 7.2. Experimento 2

### Efecto del bloqueo de los receptores AMPA/kainato en la amígdala basolateral en condiciones de asíntota de desempeño de la memoria de aversión al sabor.

En este experimento se realizó la línea base a las ratas igual que en el experimento anterior. Posteriormente se les dieron cuatro adquisiciones de CAS, una por día, donde se les presentó sacarina por 15 minutos y 15 minutos después una inyección intraperitoneal de LiCl. Al día siguiente se realizó la microinyección del fármaco 20 minutos antes de presentar, por quinta vez, la sacarina que fue seguida de la inyección de cloruro de litio. Este experimento se realizó con el fin de evaluar los efectos de la inhibición de los receptores AMPA/kainato en condiciones donde la fortaleza del trazo de memoria de aversión fuera mayor que en el experimento anterior. Para esto, utilizamos un protocolo en el que los animales llegaron a una asíntota de desempeño en la cual se observó que el consumo de sacarina ya no disminuyó debido a que se había alcanzado un nivel máximo conductual.

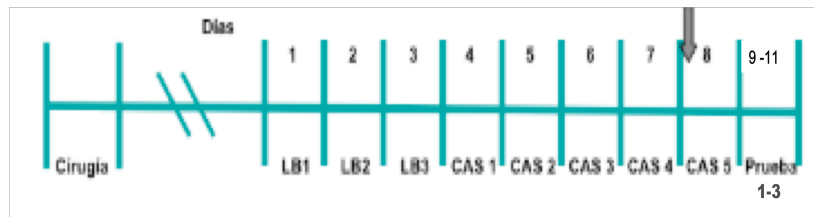


Figura 7.3. Procedimiento conductual del experimento 2. En este esquema se muestra el protocolo conductual que se siguió en este experimento en el cual se les dio a los animales agua por 15 minutos durante tres días (LB1-LB3). En los cuatro siguientes días se les dio sacarina (0.1%) por 15 minutos y 15 después una inyección intraperitoneal de LiCl (0.15M) (CAS 1-CAS 4). El día 8 se les inyectó en la ABL (flecha) el fármaco o la solución salina (NaCl al 0.9%) 20 minutos antes de presentarles la sacarina y el LiCl como en los días anteriores (CAS 5). Los tres siguientes días se presentó exclusivamente sacarina (Prueba 1-3).

Lo que se observa en la gráfica 7.4 es el efecto del fármaco sobre la memoria del CAS cuando se ha alcanzado la asíntota de desempeño. Los animales inyectados con NBQX (triángulos blancos) bebieron mucho más líquido en comparación con los animales vehículo el día de la inyección debido al bloqueo de los receptores AMPA/kainato. Este resultado sugiere, como en el experimento anterior, que la actividad de estos receptores en la amígdala basolateral es necesaria para la evocación de la memoria de aversión. Además, este experimento muestra que este fármaco impide la evocación de la memoria de aversión incluso en condiciones donde la información de aversión ya ha sido adquirida en cuatro ocasiones anteriores, esto es, afecta la evocación de la memoria de aversión a los sabores sin importar su fortaleza. Una prueba  $t$  de Student no pareada para el día de la inyección reveló diferencias significativas entre los volúmenes consumidos por los grupos ( $t_{(13)} = -2.884$ ,  $p < 0.05$ ), lo que comprueba que se afectó la evocación de la memoria de aversión al sabor. Más aún, el análisis de  $t$  pareada entre el día de la inyección y el CAS 1 mostró que los consumos fueron similares en el grupo NBQX ( $t_{(7)} = 1.4$ , NS); así como también fueron similares entre el día de la inyección y el CAS 2 ( $t_{(7)} = -1.174$ , NS). Por el contrario, una prueba  $t$  pareada para el grupo vehículo indicó diferencias significativas entre el día de la inyección y el CAS 1 ( $t_{(6)} = 27.904$ ,  $p < 0.01$ ); no obstante, la  $t$  pareada entre el día de la inyección y el CAS 2 no mostró diferencias significativas ( $t_{(6)} = 1.74$ , NS).

Sin embargo, al día siguiente de la inyección, en la prueba, los animales con infusión de NBQX presentaron una aversión similar a la observada en los animales vehículo. Una prueba  $t$  de Student no pareada entre los dos grupos para el día de la

prueba reveló la ausencia de diferencias estadísticas ( $t_{(13)} = -1.055$ ,  $p$  NS). Además, se realizó una prueba  $t$  de Student pareada entre el consumo del día de la inyección de NBQX y el día de la prueba y reveló diferencias estadísticas para el grupo experimental ( $t_{(7)} = 3.34$ ,  $p < 0.05$ ). La misma prueba no reveló diferencias para el grupo vehículo ( $t_{(7)} = 0.418$ ,  $p$  NS). Estos resultados muestran que el NBQX afectó la evocación de la memoria de aversión pero que no impidió la expresión de la memoria de largo plazo permanentemente.

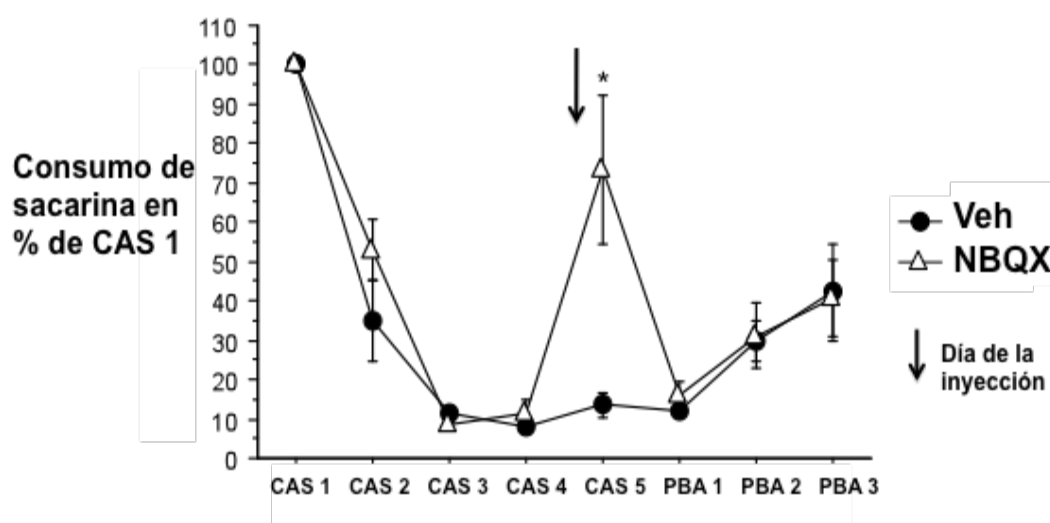


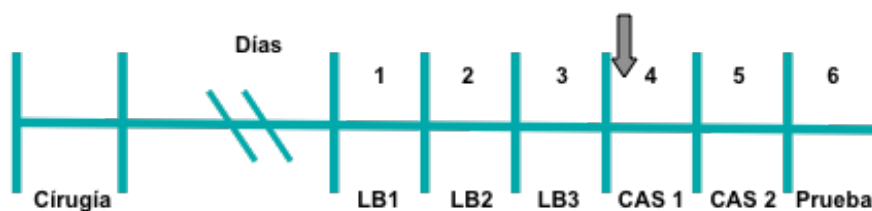
Figura 7.4.. Bloqueo de receptores AMPA/kainato en la ABL en condiciones de asíntota de desempeño del CAS. En esta gráfica se muestra el consumo de sacarina (en % de CAS 1) a lo largo de las cinco adquisiciones (CAS 1-CAS 5) y en los días donde sólo se presentó sacarina (PBA1-PBA3). La flecha indica el día de la microinyección. Se puede observar el efecto del fármaco en la evocación de la memoria de aversión al sabor incluso cuando ya se ha llegado a una asíntota de la conducta \* =  $p < 0.05$  entre los grupos el día de la inyección.

### 7.3. Experimento 3

#### Efecto del bloqueo de receptores AMPA/kainato en la amígdala basolateral durante la adquisición del condicionamiento de aversión al sabor

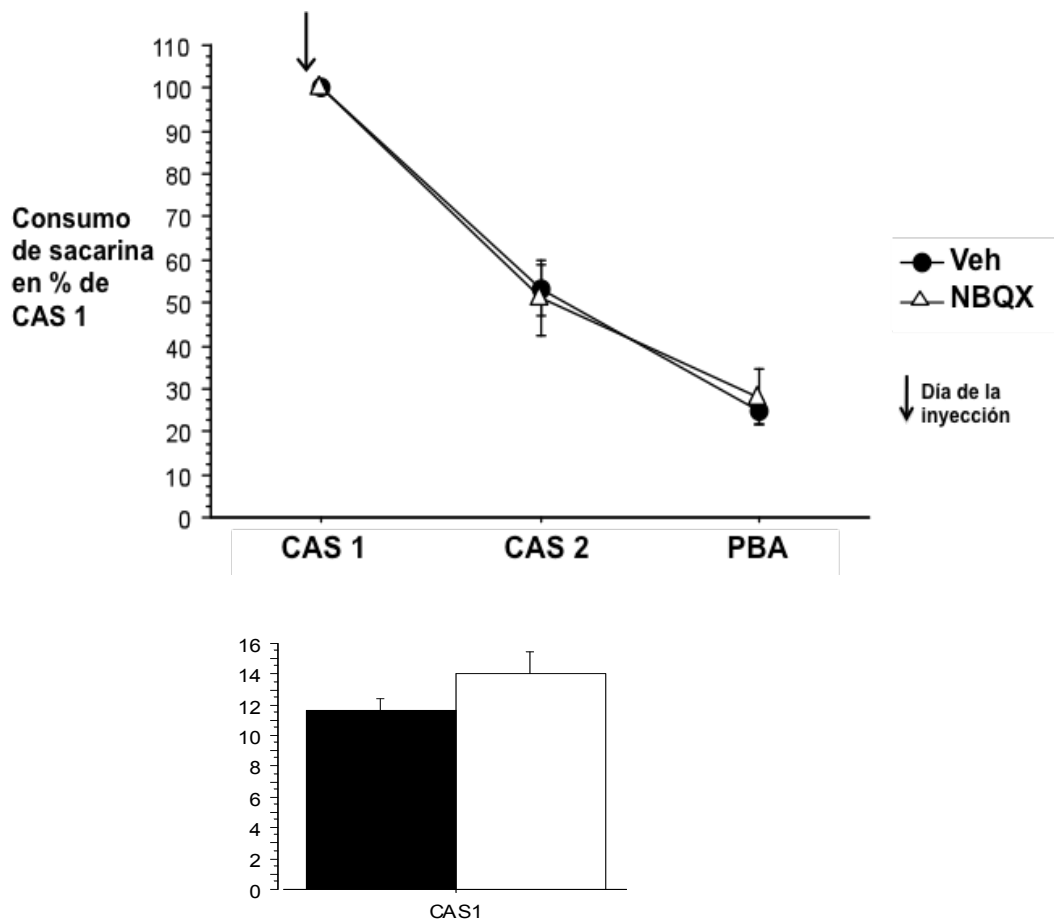
En este experimento se canularon los animales en la misma región de la amígdala basolateral y después de su recuperación se realizó la línea base como en los experimentos anteriores. Al día siguiente se les inyectó el fármaco 20 minutos antes del primer consumo de sacarina (0.1%), y 15 minutos después de terminado el consumo se les inyectó, vía peritoneal, cloruro de litio para inducir malestar gástrico.

Al día siguiente se les volvió a dar una adquisición de CAS y 24 horas después se les presentó sólo sacarina.



*Figura 7.5. Procedimiento conductual del experimento 3. En este esquema se muestra el protocolo conductual que se llevó a cabo en el experimento. Los primeros tres días se les dio línea base por 15 minutos (LB1-LB3) a todos los animales. Al siguiente día se les inyectó (flecha) en la ABL el fármaco o solución salina (NaCl al 0.9%) y 20 minutos después se les dio sacarina (0.1%) por 15 minutos seguida de una inyección intraperitoneal de LiCl (0.15M) 15 minutos después (CAS 1). El quinto día se les presentó de nuevo sacarina por 15 minutos y la inyección de LiCl 15 minutos después (CAS 2). El sexto día se les presentó exclusivamente sacarina por 15 minutos para evaluar la memoria (Prueba).*

Este experimento se realizó con el fin de corroborar que el fármaco no afecta la adquisición o consolidación de la memoria de aversión al sabor tal como lo sugieren los primeros dos experimentos. En la figura 7.6 se muestra que los animales inyectados con NBQX no difieren en los consumos de sacarina con respecto a los animales vehículo en ningún punto de la gráfica. Se realizaron pruebas *t* de Student no pareadas entre los consumos de los animales vehículo y los inyectados con la droga para CAS 2 y la prueba y no se observaron diferencias significativas en ninguno de los dos casos (CAS 2  $t_{(14)} = 0.189$ ; prueba  $t_{(14)} = -0.5$ ; *p*'s NS). Además, se realizó una prueba de *t* de Student no pareada para los consumos (en mL) del primer CAS (fig. 7.6, abajo). Este análisis tampoco reveló diferencias significativas entre los grupos ( $t_{(16)} = 0.779$ ; *p* NS). Estos resultados apoyan la hipótesis de que el fármaco inyectado en la amígdala basolateral no altera la adquisición ni la consolidación de la memoria de aversión a los sabores sino que impide exclusivamente la evocación y, puesto que en estas condiciones no hubo información relacionada previa que evocar, no se observó ningún efecto sobre la conducta.



*Figura.7.6. Bloqueo de receptores AMPA/kainato en la ABL en la adquisición del CAS. (arriba) En esta gráfica se muestran los consumos de sacarina (en % del CAS 1) de ambos grupos en el CAS 1, CAS 2 y la prueba. Se observa que la droga no tuvo ningún efecto sobre el consumo de sacarina al ser novedosa y que no se afectó la adquisición ni la consolidación del CAS. La flecha indica el momento de la microinyección. No se observaron diferencias estadísticas significativas entre los consumos de líquido de los grupos vehículo y los inyectados con el fármaco. (abajo) En la segunda gráfica se muestra el consumo en mL de sacarina durante el CAS1. No se observaron diferencias significativas entre los consumos de los dos grupos durante este día.*

#### 7.4. Experimento 4

##### **Efecto del bloqueo de receptores AMPA/kainato en la amígdala basolateral antes de la presentación de un sabor no familiar.**

Este experimento se realizó con el fin de corroborar que no existe un efecto secundario sobre la percepción del sabor que afectara el consumo de la sacarina. Cuando los animales prueban un sabor que no habían experimentado antes (no familiar) beben muy poco del sabor novedoso en comparación del agua por temor a las consecuencias que éste pueda tener en su organismo. A esta conducta se le llama

neofobia y se utilizó en este experimento para descartar algún efecto del fármaco sobre la percepción ya que éste se iba a ver reflejado en el primer consumo de los animales experimentales.

Los animales fueron sometidos al protocolo de línea base igual que en los experimentos anteriores. Al día siguiente se realizó la microinyección 20 minutos antes de que se presentara la sacarina por 15 minutos sin la presentación de cloruro de litio. Como ya se describió, la concentración de sacarina fue mayor en este experimento, 0.3%, ya que con esta concentración los animales presentan una mayor neofobia a la sacarina en comparación por ejemplo del que se observa con 0.1% en condiciones normales.

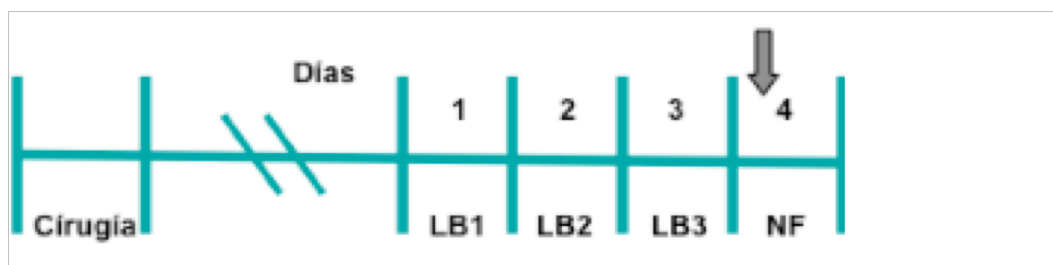


Figura 7.7. Procedimiento conductual del experimento 4. En esta figura se muestra el protocolo conductual del experimento en el cual por tres días se les dio a los animales agua, por 15 minutos (LB1-LB3). El cuarto día se realizó la inyección en la ABL (flecha) del fármaco o solución salina (NaCl al 0.9%) 20 minutos antes de presentarles sacarina al 0.3% por primera vez (NF) durante 15 minutos.

Los datos obtenidos mostraron que no existieron diferencias significativas entre los consumos de sacarina de ambos grupos ( $t_{(14)} = 0.057$ , p NS). Este resultado apoya que la droga no tiene un efecto sobre la percepción del sabor que altere el consumo del mismo y que lo observado en los experimentos anteriores es debido a un efecto específico sobre la evocación de la memoria de aversión a los sabores.

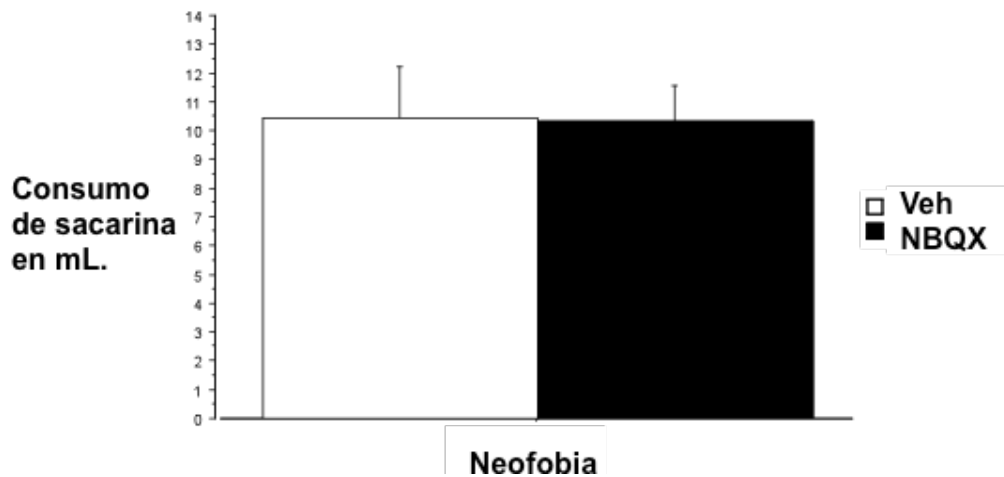


Figura 7.8. Bloqueo de receptores AMPA/kainato en la ABL en la presentación de un sabor poco apetecible. En esta gráfica se muestra el consumo de sacarina (en mililitros) el día de la primera presentación, se observa que ambos grupos beben igual de este sabor. La prueba t de Student no reveló diferencias estadísticas entre los grupos ( $p$  NS).

## **VIII.- Discusión**

### **8.1. La actualización de la memoria de aversión no depende de su evocación**

Se ha estudiado ampliamente la reconsolidación a lo largo de los años e incluso en diferentes sistemas biológicos, sin embargo no se conoce a ciencia cierta que finalidad tiene este proceso (Tronson y Taylor, 2007). Se ha propuesto que la reconsolidación es un proceso por el cual se puede añadir nueva información relacionada a una memoria previamente establecida, ya que se ha reportado que para que el proceso de reconsolidación ocurra es necesaria la presencia de información nueva relacionada a la memoria previa (Rodríguez-Ortiz *et al.*, 2005; 2008). Este proceso de actualización de la memoria puede involucrar la incorporación de nueva información o bien simplemente el reforzamiento de que la memoria es aún relevante para el organismo (Tronson y Taylor, 2007).

En este trabajo se evaluó el papel de la evocación en la actualización de la memoria de aversión, esto se realizó a través del bloqueo farmacológico de los receptores AMPA en la amígdala basolateral.

### 8.1.1 La evocación de la memoria de aversión al sabor depende de receptores AMPA/kainato

Nuestros resultados confirmaron que durante la evocación del CAS es necesaria la activación de receptores AMPA. Esto se demostró en el experimento 1, donde se inyectó NBQX 20 minutos antes de la segunda presentación de sacarina y se afectó la evocación de la memoria de aversión. Estos datos ya se habían reportado por Yasoshima y colaboradores (2005) quienes inyectaron otro antagonista de receptores AMPA, CNQX, 24 horas después del CAS y 20 minutos antes de la segunda presentación del sabor, ellos observaron que se afectaba la evocación debido a que los animales no presentaban aversión al sabor ese día. En este trabajo sugirieron que este efecto se debe a que hay un bloqueo la transmisión sináptica excitatoria, perdiendo la funcionalidad neuronal, lo cual es comparable con el efecto de la tetrodotoxina (Yasoshima *et al.*, 2005).

A diferencia de ese reporte en este trabajo dimos una segunda adquisición del CAS, con el fin de crear una condición en la cual existe nueva información, realizando la prueba al día siguiente sólo con el EC pudimos observar que los animales adquirieron y consolidaron el CAS, a pesar de que el día anterior no pudieron evocar. Lo anterior demuestra que los receptores AMPA en la ABL no son necesarios para la adquisición o consolidación de la memoria de aversión al sabor.

El hecho de que los animales pudieron adquirir y consolidar una segunda adquisición del CAS, en el experimento 1, es de particular interés ya que nos indica que es posible agregar nueva información o información relevante a una memoria previamente consolidada sin evocar, es decir, que la actualización de la memoria es independiente de su evocación.

En el 2008 se propuso que la actualización de la memoria depende de su reconsolidación ya que ambos procesos de memoria dependen de los mismos procesos celulares (Lee, 2008), por lo cual podemos sugerir que, en los experimentos descritos en esta tesis, la memoria se reconsolidada cuando se actualiza, aunque en el presente trabajo no se haya evaluado en específico la reconsolidación de la memoria de aversión. De esta manera podemos aseverar que la reconsolidación no depende de



evocación, lo cual sería coherente con los datos del trabajo de Ben-Mamou *et al.* (2006), los cuales demostraron que el proceso de reconsolidación puede ocurrir sin evocación.

### 8.1.2. La evocación de la memoria de aversión al sabor depende de receptores AMPA/kainato en condiciones de asíntota de desempeño

En el caso donde los animales ya han alcanzado una asíntota de desempeño después de cuatro adquisiciones del CAS, por lo cual la memoria es más fuerte, se sigue afectando la evocación al aplicar el antagonista de los receptores AMPA/kainato o bien su vehículo, antes de la quinta presentación del EC y del EI. Sin embargo al día siguiente los animales bebieron igual que los animales vehículo, lo cual confirma que el efecto de la droga es exclusivo sobre la evocación de la memoria incluso cuando está es más fuerte.

### 8.1.3. Los procesos de adquisición-consolidación del CAS no dependen de receptores tipo AMPA/kainato

En nuestro experimento 3, se corroboró que el NBQX no afectó ni la adquisición ni la consolidación del CAS, ya que la inyección del fármaco 20 minutos antes de la primera presentación del EC no afectó el consumo de sacarina cuando se realizó la prueba de memoria un día después. Sin embargo, a diferencia de nuestros datos, Yasoshima y colaboradores reportaron en el 2000 que para adquirir el CAS son necesarios los receptores AMPA en la ABL. En su experimento inyectaron en la ABL CNQX, antagonista de receptores AMPA, o solución vehículo después de la sacarina y antes del cloruro de litio; lo que observaron fue que al día siguiente los animales inyectados con CNQX no presentaron aversión al sabor como el grupo vehículo. Cabe señalar que ellos usaron un antagonista de receptores AMPA (CNQX) diferente al que se utilizó en este reporte (NBQX) y que aunque inyectaron el mismo volumen lo aplicaron en una concentración más alta, 1  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ , mientras que en nuestro trabajo utilizamos de 0.5  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ; también los momentos de la inyección son distintos ya que en este trabajo se inyectó 20 minutos antes del EC mientras que ellos lo hicieron entre los dos estímulos. Estas diferencias en el protocolo podrían explicar las discrepancias

entre nuestros resultados.

Así también nuestros resultados difieren en otro aspecto que a continuación se describe con el trabajo de Yasoshima y colaboradores del 2000. Se sabe que la activación de los receptores NMDA depende de la entrada de sodio por canales de tipo AMPA, ya que este ión provoca un incremento en el potencial de membrana para que eventualmente se alcance un umbral y se despolarice la célula, lo cual provoca que se expulse el ión de magnesio del canal NMDA ya que impide la entrada de iones (Siegel *et al.*, 1999). Yasoshima y colaboradores reportaron que la adquisición de la memoria de aversión depende de los receptores NMDA en la ABL. Ellos inyectaron un antagonista de los mismos entre los dos estímulos el día de la adquisición y lo que observaron al día siguiente fue que la memoria se afectó al inhibir dichos receptores. Por lo tanto concluyeron que la formación de la memoria de aversión al sabor depende de receptores glutamatérgicos de tipo NMDA. Por lo tanto si la formación de la memoria de aversión al sabor depende de éstos receptores, debería depender también de los receptores de tipo AMPA, ya que la activación de los primeros depende de los segundos. Sin embargo esto es contrario a lo que obtuvimos, una posible explicación sería que nuestra administración del fármaco no estuviera bloqueando por completo todos los receptores AMPA y que los que se mantuvieran funcionales permitieran la activación de los tipo NMDA y de esta manera los animales son capaces adquirir y consolidar la memoria de aversión al sabor.

Ben-Mamou y colaboradores (2006) sugirieron que los receptores NMDA podrían permanecer funcionales en algunos casos aunque los flujos de los receptores AMPA se encuentren reducidos, lo cual explicaría el porque no se afectó la reconsolidación de la memoria de miedo al contexto cuando se evitó la evocación.

Así también existen datos obtenidos por nuestro grupo de trabajo que muestran que la corteza insular y la amígdala central son las estructuras que participan en la consolidación de la memoria de aversión al sabor (García-DeLaTorre *et al.*, no publicado). En estos experimentos se realizaron dos adquisiciones del CAS y la inyección de anisomicina se llevó a cabo antes del segundo condicionamiento. La infusión del fármaco o bien de su vehículo se aplicó en tres estructuras diferentes: corteza insular, amígdala central o amígdala basolateral. Al día siguiente se realizó la

prueba de memoria y se observó que los animales inyectados en la corteza insular o en la amígdala central no consolidaron la memoria ya que bebieron la misma cantidad de sacarina que el día anterior, mientras que los animales inyectados en la amígdala basolateral si presentaron una aversión al sabor como los animales vehículo, lo que demuestra que no se afectó la consolidación de la memoria de aversión. Los resultados anteriores demuestran que las estructuras involucradas en la consolidación de la memoria de aversión son la corteza insular y la amígdala central, no así la amígdala basolateral.

Por lo tanto es probable que el efecto del bloqueo de receptores AMPA/kainato en ABL sobre la evocación no tenga consecuencias sobre la consolidación, debido a que la CI y la ACe se encargan de consolidar dicha memoria.

Por último, puede ser que nuestros resultados sean un reflejo de efectos no relacionados con la evocación. Sin embargo, está posibilidad parece poco probable ya que el experimento 3 demuestra que el incremento en el consumo del sabor no es por algún efecto del fármaco en la percepción del sabor, de haber sido así los animales experimentales hubieran bebido más que los vehículo durante el primer consumo de sacarina, lo cual no ocurrió. Además, para corroborar estos datos se realizó el experimento 4, el cual consistió en inyectar a los animales con NBQX o solución vehículo antes de la primera presentación de sacarina, la cual tenía una concentración más alta que la del experimento 3. Los animales experimentales y control bebieron igual durante esta prueba, lo cual confirmó que la droga no tuvo ningún efecto en la percepción del sabor u otras consecuencias no específicas que alteraran la conducta de ingesta.

## **IX.- Conclusiones**

A partir de los resultados de los experimentos antes descritos en este proyecto podemos concluir lo siguiente:

- Los receptores AMPA/kainato en la amígdala basolateral son necesarios para evocar la memoria de aversión al sabor, incluso en condiciones de asíntota de desempeño conductual donde la memoria es más fuerte.
- Los receptores AMPA/kainato en la amígdala basolateral no son necesarios para la adquisición-consolidación de la memoria de aversión al sabor.
- Los procesos de adquisición-consolidación de la memoria de aversión al sabor relacionados a un trazo de memoria, no dependen de evocación.
- Por lo tanto como no se evita la adquisición-consolidación de la memoria de aversión al bloquear evocación, podemos decir que la actualización de esta memoria no depende de evocación.

## **X.- Literatura citada**

- Agranoff, B.W; Davis, R.E; Brink, J.J. (1966) Chemical studies on memory fixation in goldfish. *Brain Research* 1(3): 303–309.
- Barondes, SH; Cohen, H.D. (1966) Puromycin effect on successive phases of memory storage. *Science* 151(710): 594–595.
- Barondes, S.H; Cohen, H.D. (1967) Delayed and sustained effect of acetoxycycloheximide on memory on mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 58(1):157-64
- Ben-Mamou, C.; Gamache, K; Nader, K. (2006) NMDA receptors are critical for unleashing consolidated auditory fear memories. *Nature Neuroscience* 10:1237-1239.
- Bermúdez-Rattoni F. y Prado Alcala. R.. (2001) *Memoria, donde reside y cómo se forma*. México: Trillas (11-36)
- Bermúdez–Rattoni F. (2004) Molecular Mechanisms of Taste – Recognition Memory. *Nature Neuroscience Reviews* 5 p. 209 -217.
- Bermudez-Rattoni F, Ramirez-Lugo L, Gutierrez R, Miranda MI (2004) Molecular signals into the insular cortex and amygdala during aversive gustatory memory formation. *Cellular and Molecular Neurobiology* 24:25-36.
- Bermúdez-Rattoni F. (2007). *Neural Plasticity and Memory, from genes to brain imaging*. Estados Unidos. *Frontiers in Neuroscience* (157-173)
- Bernstein I. L. y Koh M. T. (2007) Molecular Signaling during Taste Aversion Learning. *Chem Senses* 32, 99-103
- Bures, J. Bermudez-Rattoni, F. y Yamamoto, T. Editors, *Conditioned Taste Aversion: Memory of a Special Kind*, Oxford University Press, New York (1998)
- Dudai, Y. (1989) A cellular mnemonic device in the mammalian brain: long-term potentiation. En *The Neurobiology of memory, concepts, findings, trends*. Yadin Dudai Eds. N.Y. Oxford University. 88-105.
- Dudai Y. (2002). *Memory from A to Z. Keywords, Concepts and Beyond*. Oxford: Oxford Univ.Press. 6, 59, 210, 221.
- Dudai, Y.(2004) The neurobiology of consolidations, or, how stable is the engram? *Annual Review of Psychology*. 55: 51–86.
- Escobar, M.L; Alcocer, I; Chao, V. (1998) The NMDA receptor antagonist CPP impairs conditioned taste aversion and insular cortex long-term potentiation in vivo. *Brain Research* 812:246–251.

- Escobar, M.L. y Bermúdez-Rattoni F. (1999) Long-term potentiation in the insular cortex enhances conditioned taste aversion retention. *Brain Research* 852:208–212.
- Ferreira, G; Miranda, M.I; De la Cruz, V; Rodriguez-Ortiz, C.J; y Bermúdez-Rattoni, F. (2005) Basolateral amygdala glutamatergic activation enhances taste aversion through NMDA receptor activation in the insular cortex. *European Journal of Neuroscience* 22: 2596–2604.
- Flexner, J.B; Flexner, L.B; Steller, E. (1963) Memory in mice as affected by intracerebral puromycin. *Science* 141:57–59.
- Gallagher, M; Kapp, B.S; Musty, R.E; Driscoll, P.A. (1977) Memory formation: evidence for a specific neurochemical system in the amygdala. *Science* 198(4315):423-5.
- Gallo, M; Roldan, G; Bures, J. (1992). Differential involvement of gustatory insular cortex and amygdala in the acquisition and retrieval of conditioned taste aversion in rats. *Behavioural Brain Research* 52(1):91-7.
- Izquierdo, I; Bianchin, M; Silva, M; Zanatta, M.S; Walz, R; Ruschel, A.C; Da Silva, R.C; Paczko, N; Medina, J.H (1993) CNQX infused into the rat hippocampus or amygdala disrupt the expression of memory of two different tasks. *Behavioral and Neural Biology* 59:1-4.
- Kandel ER, Kupfermann I, Iversen S. (2000) Learning and memory. In Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM, eds. *Principles of neural science*. New York: McGraw-Hill-Health Division. 642, 1227-1246.
- Kim, M; Campeau, Falls W.A; Davis, M (1993) Infusion of the non-NMDA receptor antagonist CNQX into the amygdala blocks the expression of fear-potentiated startle. *Behavioral and Neural Biology* 59:5-8.
- Lee, J, L, C. (2008) Memory reconsolidation mediates the strengthening of memories by additional learning. *Nature Neuroscience*, Vol. 11: 1264-1266.
- Lee ,S,H; Choi, J, H; Lee, N; Lee, H, R; Kim J, I; Yu, N, K; Choi, S, L; Lee, S,H; Kim, H; Kaang, B, K. (2008) Synaptic Protein Degradation underlies destabilization of retrieved fear memory. *Science* 319: 1253 - 1256.
- Martinez, J. L., Jr., y Kesner, R. P. (Eds.) (1998). *Neurobiology of learning and memory*. San Diego, CA: Academic.
- McGaugh, J.L. (1966) Time dependent processes in memory storage. *Science* 153: 1351–1358.
- McGaugh, J.L. (2000). Memory - A century of consolidation. *Science* Vol. 287:248-51
- McGaugh, J.L., McIntyre, C.K. y Power, A.E. (2002) Amygdala modulation

of memory consolidation: interaction with other brain systems. *Neurobiology of Learning and Memory.*, 78: 539–552.

- McGaugh, J.L. (2002) Memory consolidation and the amygdala: a systems perspective. *Trends in Neurosciences* Vol.25 No.9
- McGaugh, J.L. (2004) The amygdala modulates the consolidation of memories of emotionally arousing experiences. *Annual Review of Neuroscience.* 27:1–28
- Miranda, MI; 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 Science U S A* 99:11417-11422.
- Miranda, MI; LaLumiere, T; Buen, T.V; Bermúdez-Rattoni, F; McGaugh, J.L. (2003) Blockade of noradrenergic receptors in the basolateral amygdala impairs taste memory. *European Journal of Neuroscience*, Vol. 18, pp. 2605±2610,
- Misanin, J. R., Miller, R. R. y Lewis, D. J. (1968) Retrograde amnesia produced by electroconvulsive shock after reactivation of a consolidated memory trace. *Science* 160: 203-204.
- Morris, R; Frey, S; Kasambira, T; Petrides, M; (1999) Ibotenic Acid Lesions of the Basolateral, but Not the Central, Amygdala Interfere With Conditioned Taste Aversion: Evidence From a Combined Behavioral and Anatomical Tract-Tracing Investigation. *Behavioral and Anatomical Tract-Tracing Investigation. Behavioral Neuroscience*, 291-302.
- Nader, K. Schafe G. E; Ledoux J. (2000) Fear memories require protein synthesis in the amygdala for reconsolidation after its reactivation. *Nature* 406: 722-726.
- Nader, K. (2003) Memory traces unbound. *Opinion Trends in Neurosciences* Feb; 26(2): 65-72.
- Paxinos, G. and Watson, C. (1998) *The rat brain in stereotaxic coordinates.* Academic Press, San Diego, CA.
- Purves, D; Augustine, George J; Pitzpatrick, David; Hall, William C; Lamantia, Anthony S; McNamara, James O; Williams, S. Mark (Eds.) (2003). *Neuroscience.* Sinauer Associates, Inc.; Sunderland, MA.
- Quirk G., Mueller, D., (2007) Neural mechanisms of extinction learning and retrieval. *Neuropsychopharmacology reviews* 33: 56 – 72.
- Reilly, S., y Bornovalova, M. (2005). Conditioned taste aversion and amygdala lesions in the rat: A critical review. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* Rev. 20: 1–22

- Roldan, G. y Bures, J. (1994) Tetrodotoxin blockade of amygdala overlapping with poisoning impairs acquisition of conditioned taste aversion in rats. *Behavioural Brain Research*, 65(2):213-9.
- Rodriguez-Ortiz, C.J., De la Cruz V., Gutierrez, R., Bermudez Rattoni, F. (2005) Protein synthesis underlies post-retrieval memory consolidation to a restricted degree only when updated information is obtained, *Learning and Memory*., 12 (5):533-537.
- Rodriguez-Ortiz C.J. y Bermudez-Rattoni F (2007) Memory reconsolidation or updating consolidation? In: F. Bermudez-Rattoni, Editor, *Neural plasticity and memory: From genes to brain imaging*, Taylor and Francis Group, Florida: 209–224.
- Rodriguez-Ortiz, C.J; Garcia-DeLaTorre, P; Benavidez, E; Ballesteros, M.A; Bermudez-Rattoni, F. (2008) Intrahippocampal anisomycin infusions disrupt previously consolidated spatial memory only when memory is updated. *Neurobiology of Memory* 89: 352-359.
- Rozenzweig, M,R; Leiman, A, I (1992) *Psicología fisiológica*. Mc Graw Hill. España. (688-689).
- Sara, S.J. y Hars, B. In memory of consolidation, 2006, *Learning y Memory*, 13(5) 515-521
- Schafe, G.E. y LeDoux, J.E. (2000) Memory Consolidation of Auditory Pavlovian Fear Conditioning Requires Protein Synthesis and Protein Kinase A in the Amygdala. *The Journal of Neuroscience* 20(18):RC96.
- Siegel, G; Albers, R. W.; Brady, S; Price, D; (eds.); (1999). *Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular and Medical Aspects*. 6<sup>th</sup> ed; American Society for Neurochemistry, USA.
- St. Andre, J. y Reilly, S. (2007) Effects of Central and Basolateral Amygdala Lesions on Conditioned Taste Aversion and Latent Inhibition, *Behavioral Neuroscience*, 121 (1): 90-99.
- Swanson, L.W. (1992) *Brain maps: Structure of the rat brain*. New York Elsevier.
- Tronson N.C. y Taylor J.R. (2007) Molecular mechanisms of memory reconsolidation. *Nature Reviews Neuroscience* 8(4):262-75. Review.
- Yamamoto, T; Nagai, T; Shimura, T; Yasoshima, Y. (1997) Roles of chemical mediators in the taste system. *Japanese Journal of Pharmacology* 76, 325-348.
- Yasoshima, Y; Tomoko, M; Yamamoto, T. (2000) Different disruptive effects on the acquisition and expression of conditioned taste aversion by blockades of amygdalar ionotropic and metabotropic glutamatergic receptor subtypes in rats. *Brain Research* 869: 15-24.



- Yasoshima, Y; Yamamoto, T; Kobayashi, K. (2005) Amygdala-dependent Mechanisms Underlying Memory Retrieval of Conditioned Taste Aversion. *Chemical Senses* 30: 158–159.
- Welzl, H, D’Adamo P., and Lipp H.P. (2001) Conditioned taste aversion as a learning and memory paradigm. *Behavioral Brain Research* 125: 205–213.