





Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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

Universidad Nacional Autónoma de México

Instituto de Neurobiología

Los miembros del Comité Tutor certificamos que la tesis elaborada por Iris Pineda Mújica, cuyo título es: "Análisis de la actividad noradrenérgica en estructuras cerebrales involucradas en la evocación de la evitación inhibitoria" se presenta como uno de los requisitos para obtener el grado de Maestría en Ciencias (Neurobiología) y cumple con los criterios de originalidad y calidad requeridos por la División de Estudios de Posgrado de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Presidente

Dr. Manuel Salas Alvarado \_\_\_\_\_

Secretario (Tutor)

Dra. María Isabel Miranda Saucedo \_\_\_\_\_

Vocal

Dra. Selva Lucía Rivas Arancibia \_\_\_\_\_

Suplente

Dra. Gina Lorena Quirarte \_\_\_\_\_

Suplente

Dra. Verónica Mireya Rodríguez Córdova \_\_\_\_\_

Aprobado por el Comité Académico

\_\_\_\_\_  
Dra. María Teresa Morales Guzmán  
Coordinadora del Programa

## AGRADECIMIENTOS

Sinceramente, para:

la Dra. Isabel Miranda y al Dr. Roberto Prado, mis tutores.

la Dra. Thalía Fernández Harmony y al Dr. Manuel Salas, miembros de mi comité tutorial.

Mireya Romero Hernández, Técnico Académico del laboratorio.

la Dra. Andrea Cristina Medina Fragoso, Técnico Académico del laboratorio B-04

Alejandro Rangel y Angel Méndez Olalde, Auxiliares de laboratorio B-04 y B-14

el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología: proyectos *C54524*, *46161M*, *41754Q*. Becaria No. 209094.

el Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Proyecto *IN201308*.

el personal de la biblioteca: Pilar Galarza, Ignacio Caballero, Rafael Silva, Román Pacheco, Ángel Salazar.

el personal del bioterio: M.V.Z. Martín García Servín.

## DEDICATORIA

Sinceramente, a mi esposo y a mi hija por su incanzable apoyo,  
a mis tutores por su paciencia e interés,  
y mis padres, mis ángeles de la guarda, que siempre estarán conmigo.

## ÍNDICE.

Resumen.....	1
Abstract.....	2
1. Introducción.....	3
2. Antecedentes.....	4
A. Plasticidad cerebral como sustrato de la memoria.....	4
B. Memoria.....	6
C. Estrés y activación del eje hipotálamo-hipófisis- adrenal durante la formación y expresión de la memoria.....	9
D. Evitación inhibitoria.....	12
E. Estructuras involucradas en la memoria de largo plazo.....	13
1. Amígdala.....	14
2. Estriado.....	17
3. Hipocampo.....	19
4. Corteza Insular.....	21
F. Sistema noradrenérgico y memoria.....	21
1. $\beta$ -receptores.....	26
2. $\alpha$ -receptores.....	27
G. Participación de la noradrenalina en la consolidación y la evocación de la memoria.....	27
3. Justificación.....	30
4. Hipótesis.....	31
5. Objetivos general y específicos.....	31
6. Material y métodos.....	32
6.1 Sujetos.....	32

6.2 Procedimiento de evitación inhibitoria.....	32
6.3 Grupos experimentales.....	35
6.3.1 Grupos experimentales para objetivo 1.....	36
6.3.2 Grupos experimentales para objetivo 2.....	37
6.4 Obtención de tejido cerebral para homogenados.....	38
6.5 Análisis de NA.....	39
6.6 Análisis estadístico.....	40
7. Resultados.....	41
A. Resultados conductuales durante las diferentes etapas de la EI.....	41
B. Niveles de NA con respecto al estímulo aversivo.....	42
8. Discusión.....	47
9. Conclusiones.....	50
10. Referencias.....	51

## ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS.

### Figuras.

1. Conexión en serie y en paralelo.....	5
2. Memoria de corto plazo y de largo plazo.....	8
3. Respuesta adaptativa al estrés.....	10
4. Eje hipófisis-hipotálamo-adrenal.....	12
5. Regiones cerebrales involucradas en la tarea de evitación inhibitoria .....	14
6. Probables conexiones neuronales.....	19
7. Neurotransmisión.....	22
8. Vía de la síntesis de la noradrenalina.....	23
9. Proyecciones de entrada desde el tallo cerebral.....	24
10. Sinapsis noradrenérgica.....	25
11. Adrenoreceptores y segundos mensajeros.....	26

12.	Vía hipófisis-hipotálamo-adrenal a memoria y aprendizaje.....	28
13.	Cámara de evitación inhibitoria.....	33
14.	Procedimientos en la cámara de evitación inhibitoria.....	34
15.	Cromatografía líquida de alta presión.....	39
16.	Resultados de aprendizaje.....	41
17.	Niveles de noradrenalina en el estriado.....	43
18.	Niveles de noradrenalina en el hipocampo.....	44
19.	Niveles de noradrenalina en la corteza insular.....	45
20.	Niveles de noradrenalina en la amígdala.....	46

#### Tablas.

1.	Grupos experimentales en línea de tiempo.....	35
2.	Grupos experimentales organizados de acuerdo a los objetivos.....	36
3.	Grupos experimentales de acuerdo al tipo de aprendizaje.....	42



## RESUMEN

La memoria de largo plazo comprende tres componentes: adquisición, consolidación y evocación. La evitación inhibitoria es una tarea en la que el animal aprende a reconocer un contexto y suprimir la tendencia natural por preferir los sitios oscuros sobre los iluminados mediante el apareamiento de un choque eléctrico con un ambiente oscuro. El almacenaje efectivo de esta memoria involucra la secreción adrenal de hormonas y la secreción consecuente de noradrenalina en estructuras límbicas como la amígdala. Los antecedentes muestran que la noradrenalina está involucrada en la consolidación de la tarea de evitación inhibitoria; sin embargo, no hay información de si la noradrenalina también es necesaria durante la evocación de la evitación inhibitoria. En esta investigación se estudió la participación del sistema noradrenérgico durante la evocación de la memoria de esta tarea, evaluando los cambios en el contenido de noradrenalina de homogenados de corteza insular, estriado, hipocampo y amígdala de ratas entrenadas en la evitación inhibitoria.

Los experimentos se realizaron en ratas que fueron entrenadas en evitación inhibitoria con sus respectivos controles y fueron sacrificadas inmediatamente después de la prueba de retención. Los cerebros fueron extraídos y se obtuvieron la corteza insular, la amígdala, el estriado y el hipocampo. Las áreas, después de procesadas, fueron analizadas con cromatografía líquida de alta resolución para evaluar los niveles de noradrenalina en cada área.

Los resultados del aprendizaje de la tarea de evitación inhibitoria, mostraron que las ratas entrenadas aprendieron la tarea asociando la cámara con el estímulo del choque, no así las ratas del grupo control que aprenden un contexto no asociativo.

En los casos del estriado y del hipocampo, se observó que los niveles de noradrenalina en los sujetos control de choque y sin contacto con la cámara d, aumentan durante el aprendizaje del contexto no asociativo, o asociado al estímulo aversivo; estos niveles disminuyen nuevamente cuando este aprendizaje es evocado, lo que sugiere que las vesículas de noradrenalina, vacían su contenido en el proceso de evocación. En la corteza insular, los niveles de noradrenalina de los animales control de choque se mantienen altos a largo plazo. En la amígdala, la concentración de noradrenalina disminuye con el entrenamiento asociado a un estímulo aversivo.

## ABSTRACT

Long-term memory has three components: acquisition, consolidation and recall. The inhibitory avoidance is a task in which an animal learns to recognize a context and suppresses its natural preference for dark spaces over light ones by the association of an electric shock with a dark environment. The effective storage of this memory involves the release of adrenergic hormones and the subsequent release of norepinephrine at limbic structures such as the amygdala. The background information reveals that norepinephrine is involved during inhibitory avoidance consolidation, however, there is no information of whether the norepinephrine is also necessary during inhibitory avoidance recall.

In the present work the noradrenergic system during memory recall of the inhibitory avoidance task was studied, by the evaluation of the changes of the norepinephrine level in homogenated brain tissue (insular cortex, striatum, amygdala and hippocampus) of rats trained in an inhibitory avoidance task, that were sacrificed just after the retention test. Their brains were excised and the target areas were dissected. Later they were processed and analyzed with high precision liquid chromatography to identify levels of norepinephrine in each area.

The learning results show that the trained rats learned the inhibitory avoidance task by the association of the inhibitory avoidance chamber with the shock as an aversive stimulus, while the control group that was not shocked only learned the non-associative context.

In hippocampus and striatum the norepinephrine levels increased during the acquisition of the no associative learning or the one associated to the aversive stimulus and diminished when this memory was recalled, suggesting that the neurotransmitter vesicles drain the contents of norepinephrine during this recall process.

## 1. INTRODUCCIÓN

La memoria de largo plazo, que será definida adelante, comprende tres componentes: adquisición, consolidación y evocación. La evitación inhibitoria (EI) es una tarea en la que el animal aprende a reconocer un contexto en el que previamente se le aplicó un estímulo aversivo. El almacenaje efectivo de esta memoria involucra la secreción adrenal de hormonas y la secreción consecuente de noradrenalina (NA) en estructuras límbicas como la amígdala (Williams, Men & Clayton, 2000). La activación noradrenérgica dentro de la amígdala basolateral (ABL) es crítica en la modulación de la consolidación de la memoria (Ferry, Roozendaal & McGaugh, 1999). Las infusiones de agonistas de  $\beta$ -adrenoreceptores en BLA, después del entrenamiento de EI, mejoran la memoria de largo plazo; asimismo, la actividad noradrenérgica en la ABL modula los efectos que ejercen las drogas que afectan a sistemas opioides peptidérgicos, GABAérgicos y al sistema de glucocorticoides sobre la memoria (LaLumiere, Buen & McGaugh, 2003). El bloqueo de receptores de NA o el decremento de su concentración en la amígdala impide el incremento en la memoria producido por las hormonas adrenérgicas (Williams, Men & Clayton, 2000). Estos antecedentes demuestran que la NA está involucrada en la consolidación de la EI; sin embargo, no hay información de si la actividad noradrenérgica también es necesaria durante la evocación de la EI. En esta investigación se estudió la participación del sistema noradrenérgico durante la evocación de la memoria de la EI, evaluando los cambios en el contenido de NA de homogenados de la corteza insular (CI), el estriado, el hipocampo y la amígdala de ratas entrenadas en EI y sacrificadas inmediatamente después de la evocación de la memoria de EI.

## 2. ANTECEDENTES

### *A. Plasticidad cerebral como sustrato de la memoria*

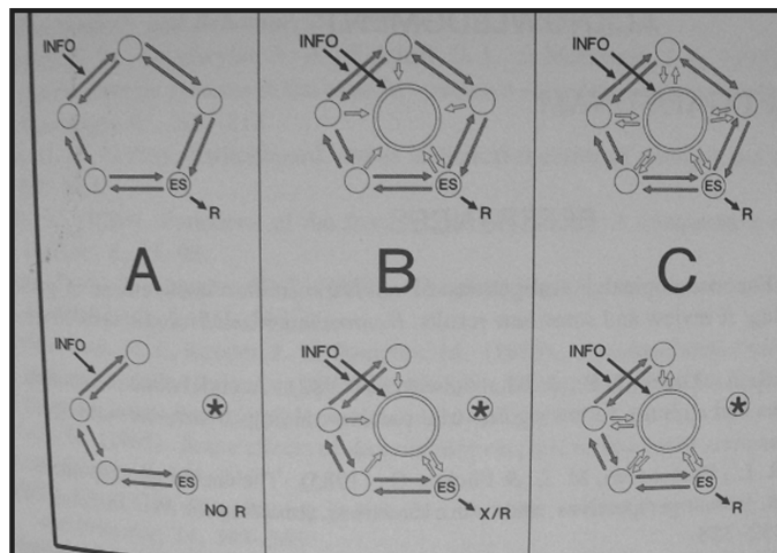
La plasticidad cerebral puede resultar de los cambios anatomofuncionales en la sinapsis. La formación de nuevas sinapsis tiene un costo, con incremento de dendritas, terminales axonales, glía, y capilares sanguíneos. Los mecanismos que controlan la plasticidad incluyen, además de los que directamente cambian la sinapsis o crean nuevas sinapsis, también los mecanismos que cambian los componentes de soporte de la sinapsis. Las correlaciones más obvias de la plasticidad cortical son cambios en el soma, axón, dendritas y glía. Los cambios en la estructura de cualquiera de éstos, requieren de cambios en la producción de proteínas estructurales de las que están compuestos, así como cambios en la expresión génica.

Hebb fue el primero en reportar, en 1949, que las ratas criadas en sus madrigueras muestran un aumento en la habilidad para crecer en tamaño con relación a las criadas en el laboratorio. Ahora está claro que las demandas del ambiente pueden modificar profundamente la estructura cortical; por ejemplo, hay cambios en la longitud total de las dendritas, en la estructura del árbol dendrítico, en el número de sinapsis por neurona, e incluso en el tamaño de la neurona. Asimismo, hay cambios en elementos no neurales, como el aumento en el número de vasos capilares y el tamaño de los astrocitos. Sorprendentemente estos cambios pueden ocurrir tan rápido como en el curso de días (Kolb, 1995).

La plasticidad neuronal conlleva cambios en las funciones neuronales en rangos de tiempo de horas, semanas o meses. En las neuronas noradrenérgicas del locus cerúleo, los cambios a largo plazo se identifican bajo tres circunstancias: después de la destrucción subtotal de las terminales noradrenérgicas, después de la administración crónica de drogas antidepresivas o choques electroconvulsivantes, o como el resultado de estrés crónico (Fillenz, 1990).

Se propuso un modelo hipotético que puede explicar algunos de los eventos que probablemente ocurran en el sistema nervioso central (SNC), durante la consolidación de la memoria de tareas instrumentales aprendidas en condiciones de entrenamiento normales o forzadas.

Es necesaria la integridad anatómica y funcional de diferentes estructuras para la consolidación de la memoria de condicionamientos instrumentales que fueron adquiridos durante un número limitado de sesiones o con un nivel de estimulación aversiva leve. La lesión de cualquiera de estas estructuras produce disminución marcada en la memoria en una gran variedad de situaciones de aprendizaje. Esto refleja un arreglo en el que todas estas estructuras están interconectadas funcionalmente en serie; es decir, las lesiones u otro tipo de interferencia con la actividad de cualquiera de éstas, provocará la alteración en el almacenamiento permanente de esta información. De acuerdo a este modelo, los diferentes aspectos de la experiencia son procesados por diferentes estructuras involucradas en el almacenamiento de la información (Prado-Alcalá, 1995, 2007).



**Figura 1.** Conexión en serie y en paralelo.

Modelo hipotético propuesto para explicar los eventos que probablemente ocurren en el sistema nervioso central durante la consolidación de la memoria de tareas instrumentales aprendidas en condiciones de entrenamiento normales o forzadas. Modificado de Prado-Alcalá, 1995.

La Figura 1 provee una representación esquemática del modelo propuesto. En A, durante la adquisición, las estructuras o áreas (círculos vacíos) involucradas en el procesamiento y/o almacenamiento de la información (INFO) están conectadas en serie y la retroalimentación se da así misma; las estructuras particulares están a cargo de procesar diferentes aspectos de la situación de aprendizaje. La participación de cada una de ellas

es necesaria para que este proceso se lleve a cabo y para la activación del sistema efector (ES) que media la respuesta condicionada (R). Cuando hay una interferencia con la actividad de cualquiera de estas estructuras (\*), el flujo de información necesario para la consolidación y para la activación del ES, está interrumpido, incapacitando al animal para ejecutar la respuesta (NO R).

En B, cuando la experiencia de aprendizaje es incrementada, la información sigue dos rutas: la original (a través de las estructuras que están conectadas en serie) y un camino adicional en paralelo. Para que la consolidación se lleve a cabo, ambas rutas deben ser activadas. Cuando la actividad de una o varias de las estructuras de este sistema esté alterada, el arreglo en serie será interrumpido y la información será procesada únicamente por la nueva conexión funcional en paralelo. Esta situación permitirá el almacenamiento parcial de la memoria y la deficiencia concomitante en la respuesta (X/R).

Finalmente, cuando las condiciones de aprendizaje son óptimas (sobrentrenamiento y sobrerreforzamiento), como se muestra en C, hay una retroalimentación de la comunicación en todos los elementos. Si hubiera una interrupción en la actividad de cualquiera de las estructuras, el resto de las estructuras tendrían acceso a la información, y tanto la consolidación de la memoria, como la ejecución, se llevaría a cabo como en condiciones normales. En esta situación, aunque todos o la mayoría de los elementos del sistema están involucrados en el proceso mnemónico, ninguno es indispensable (Prado-Alcalá, 1995, 2007).

## *B. Memoria*

La capacidad para aprender es una de las habilidades más sorprendentes del funcionamiento cerebral. El aprendizaje es el cambio en la conducta debido a una experiencia, que no es debida a la maduración, fatiga, efectos farmacológicos o enfermedad, y que es más o menos permanente (Hilgard y Bower, 1975); y se define como la adquisición de una conducta modificada, esta capacidad se produce en respuesta a un conjunto de estímulos en el entorno. La memoria es un sistema de almacenamiento de información increíblemente complejo y eficiente; es el conjunto de datos o información adquiridos y el proceso a través del cual es recopilada la

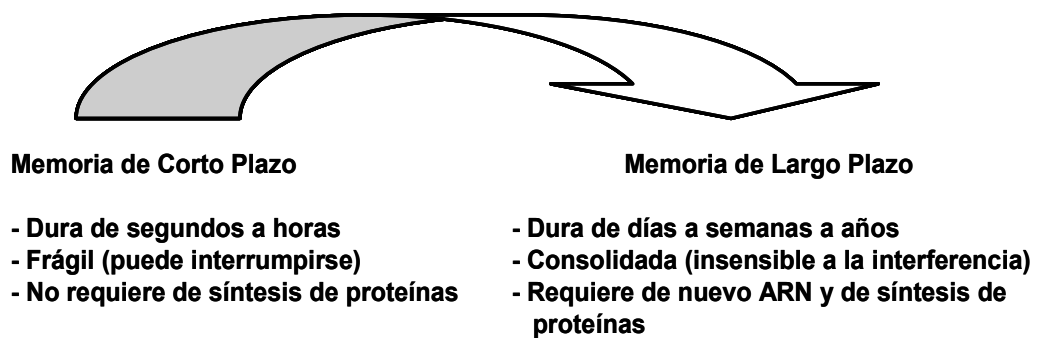
información aprendida (Sweatt, 2002); asimismo, son representaciones internas en el cerebro creadas cuando los eventos o experiencias son codificados (Dudai, 1989). Necesariamente, la memoria es recuperada por algún mecanismo, que puede ser un proceso consciente o inconsciente, donde la conducta modificada se manifiesta. La memoria de largo plazo, que definiremos más adelante, comprende tres componentes: aprendizaje, consolidación/almacenamiento y recuperación; y esta porción de información no es estática, sino que cambia en el tiempo (Sweatt, 2002).

Para referirse a la duración de los recuerdos, a finales del siglo XIX William James acuñó los términos de memorias primaria y secundaria (1890), que son el equivalente moderno de las memorias de corto y largo plazos.

Por otra parte, la teoría de la consolidación de la memoria, basada en el trabajo que Georg Elias Müller y Alfons Pilzecker publicaron hace más de un siglo (1900), ha guiado directa o indirectamente la investigación acerca de la neurobiología de la memoria. En su monografía clásica concluyeron que la fijación de la memoria requiere del paso del tiempo (consolidación) y que la memoria es vulnerable durante este periodo de consolidación, ya que se presenta un cuadro amnésico cuando se interfiere con el funcionamiento cerebral antes de que concluya el proceso de consolidación.

En el transcurso de 100 años de investigación sobre la neurobiología de la memoria, la comunidad científica ha aceptado tres principios fundamentales, que han regido la experimentación en el campo de la memoria:

1. La información derivada del aprendizaje pasa de un almacén lábil (memoria de corto plazo) a uno permanente, resistente a la interferencia (memoria de largo plazo), a través del proceso de consolidación.
2. Para la formación de la memoria de corto plazo no es necesaria la síntesis de proteínas.
3. La formación de la memoria de largo plazo depende de la síntesis de proteínas.



**Figura 2.** Memoria de corto plazo y de largo plazo.

Representación esquemática de las características de las memorias de corto y largo plazo.

La memoria de corto plazo, que dura de seg a hr, se puede interrumpir, y es de capacidad limitada; y a la de largo plazo que dura desde días hasta años, es de capacidad ilimitada, es insensible a interferencias y conlleva un proceso de consolidación (Figura 2).

La formación de la memoria es un fenómeno gradual, por lo que la duración de la memoria de un evento aprendido suele depender del número de veces que un sujeto experimenta la modificación de la conducta por la estimulación o por la relevancia del evento aprendido (Sweatt, 2002). La memoria de largo plazo tiene un atributo general que conlleva un periodo de consolidación, durante el cual es susceptible a deterioro por alguna interferencia en el proceso de consolidación.

Sweatt (2002) establece cuatro clasificaciones de memoria basadas en los tipos de aprendizaje: aprendizaje inconsciente con evocación consciente (por ejemplo, condicionamiento aversivo al sabor), aprendizaje inconsciente con evocación inconsciente (aprendizaje no asociativo por ejemplo, habituación), asociativo (por ejemplo, condicionamiento al miedo) y motor (por ejemplo, cualquier tarea de procedimiento); aprendizaje consciente con evocación consciente (por ejemplo, un aprendizaje declarativo), memoria de trabajo con evocación consciente (por ejemplo, una habilidad motora).

Otra clasificación subdivide la memoria humana en declarativa (explícita) formada por hechos y eventos; y no declarativa (implícita) en donde se incluye el aprendizaje no asociativo, el condicionamiento simple clásico (formación de memoria inconsciente), y la memoria incidental (Tulving, 1985; Squire & Morgan, 1983).



Otro tipo de clasificación de memorias incluye el tipo de estímulos involucrados; un ejemplo es la memoria espacial, que ha sido estudiada de diversas maneras, como con el modelo de aprendizaje del laberinto acuático de Morris, en el que las ratas aprenden a ubicar una plataforma en la que estarán a salvo a partir de señales espaciales para ubicarse. Por otra parte, la memoria contextual permite asociar un estímulo aversivo, como un choque eléctrico, con un ambiente/contexto determinado (por ejemplo, una cámara con estímulos auditivos, olfativos o visuales específicos); la rata aprende que al recibir el tono u otro de los estímulos, recibirá el estímulo aversivo y muestra conducta de miedo, evitación o reconocimiento. El modelo más utilizado para este tipo de memorias suele ser el condicionamiento al miedo.

Muchas aproximaciones experimentales para el estudio del engrama de la memoria (que ha sido definido como el conjunto de cambios duraderos en el cerebro del que depende la persistencia de la memoria) involucran la alteración del funcionamiento de diferentes estructuras que, por ejemplo, al lesionarlas o perturbar su funcionamiento normal han inducido cuadros amnésicos. Entre estas estructuras, sobresalen el hipocampo, la neocorteza, la amígdala y los ganglios basales (Prado-Alcalá, 1995).

A partir de las evidencias de lesiones y manipulaciones farmacológicas, se ha planteado que la memoria es un proceso dinámico que se establece a través de varios subprocesos. Es posible que el engrama tenga propiedades holográficas (que radique en más de una estructura) tales que, cuando una conducta aprendida ha sido sobreentrenada o se ha convertido en un acto reflejo, su representación cerebral esté a cargo de múltiples estructuras o circuitos neuronales (Prado-Alcalá, 1995).

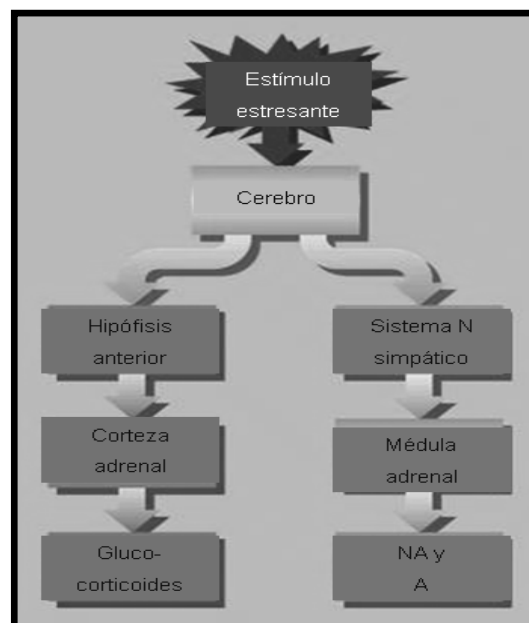
### *C. Estrés y activación del Eje Hipotálamo-Hipófisis-Adrenal durante la formación y expresión de la memoria*

El estrés es una respuesta fisiológica que comparten humanos y animales y que se acompaña por una serie de cambios fisiológicos, mediados por el sistema simpático adrenal periférico; estas respuestas de adaptación ayudan a la supervivencia del individuo.

La respuesta al estrés se define como cualquier evento real o percibido que actúa para alterar el balance homeostático. La homeostasis fue definida

por Claude Bernard en 1800, como un estado en el que las variables fisiológicas se mantienen a un nivel óptimo durante un tiempo determinado. Las respuestas homeostáticas, mediadas por el sistema nervioso autonómico, son específicas de un estímulo y son, por lo tanto, predecibles.

En los vertebrados, la respuesta al estrés se ha descrito con tres componentes. La fase inicial que sigue a la percepción del estímulo estresante se caracteriza por liberación rápida de catecolaminas por vía del sistema nervioso autonómico (Figura 3), y unos minutos después por la liberación de glucocorticoides a la circulación. Seguida de ésta, es la respuesta de los órganos a las catecolaminas y los glucocorticoides. Esto involucra cambios en la función cardíaca, respiratoria, en la captación de oxígeno, en el flujo sanguíneo, en el movimiento de energía y el balance de minerales. La fase final involucra efectos a largo plazo como la inhibición del crecimiento, de la actividad reproductiva e inmune, y la tolerancia a estímulos estresantes adicionales (Lovejoy, 2005).



**Figura 3.** Respuesta adaptativa al estrés.

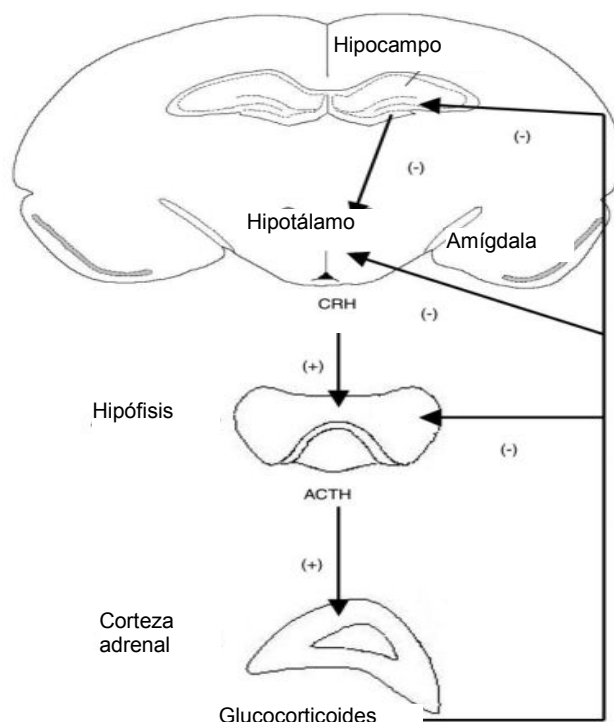
La respuesta al estrés se ha descrito con tres componentes: la fase inicial que sigue a la percepción del estímulo estresante se caracteriza por liberación rápida de catecolaminas por vía del sistema nervioso autonómico seguida por la liberación de glucocorticoides a la circulación, después la respuesta de los órganos a las catecolaminas y los glucocorticoides, y por último, la fase final, que involucra efectos a largo plazo.

Las condiciones que despiertan estas emociones de estrés, también activan el centro neuronal noradrenérgico, especialmente el del locus cerúleo. Sin embargo, aun el más mínimo estímulo, como la manipulación o la estimulación visual o auditiva, activa estas neuronas.

Otra situación clave de la respuesta a un estímulo para el incremento de la secreción de la hormona adrenocortical (corticosteroides), es la activación del eje hipófisis-adrenal. La secreción de hormona adrenocorticotrópica (que estimula la liberación de corticosteroides) podría estar relacionada con la liberación de NA en el hipotálamo que proviene del locus cerúleo y del núcleo lateral tegmental (Ferry et al., 1999).

Las hormonas adrenales del estrés pueden actuar para facilitar el almacenamiento de una memoria, si son administradas en un intervalo de tiempo particular después del evento. Incluso ciertos niveles tienden a facilitar la memoria y altas concentraciones pueden atenuarla. La Figura 4 representa el eje hipófisis-hipotálamo-adrenal y cómo se desencadena la respuesta ante el estrés.

La adrenalina (A) y los glucocorticoides pueden promover la retención de la memoria. Los glucocorticoides pueden pasar a través de la barrera hematoencefálica, y llegar a la amígdala. Sin embargo la A no pasa la barrera hematoencefálica. La A periférica activa neuronas en el núcleo del tracto solitario (NTS) que subsecuentemente proyectan al locus cerúleo. Éste contiene las principales proyecciones de NA del mesencéfalo y además proyecta directamente a partes de la amígdala. Durante el estrés las neuronas del locus cerúleo disparan en los rangos más altos, y esto aumenta la NA en la amígdala sugiriendo que este circuito (locus cerúleo) es responsable de la vía mediada por receptores  $\beta$  adrenérgicos. Durante un evento emocional, la histamina, la dopamina, la NA, y la acetilcolina son liberadas centralmente en una mayor concentración que en condiciones de reposo, esto sugiere que hay activación de estos circuitos durante los eventos emotivos. Sin embargo, se ha descrito que solamente los antagonistas de los receptores muscarínicos de acetilcolina y los  $\beta$  adrenérgicos bloquean el efecto potenciador emocional en la memoria (Lovejoy, 2005).



**Figura 4.** Eje hipofisis-hipotálamo-adrenal.

CRH: hormona liberadora de corticotropina, ACTH: hormona adrenocorticotrófica.

La activación del hipotálamo resulta de una cadena de eventos que al final liberan glucocorticoides. Una vez en el torrente sanguíneo, estas hormonas esteroideas generan retroalimentación negativa en diferentes estaciones de este eje neuroendócrino. Modificado de Bermudez-Rattoni, 2007. *Neural Plasticity and Memory: From genes to brain imaging*. London: Taylor and Francis Group.

En este trabajo se estudia la memoria de largo plazo en un modelo murino, a través de la tarea de EI. En esta tarea, durante la sesión de entrenamiento, se asocia el choque eléctrico con un compartimiento oscuro, es decir, se condiciona el miedo a un estímulo neutro, que es el contexto.

#### *D. Evitación Inhibitoria*

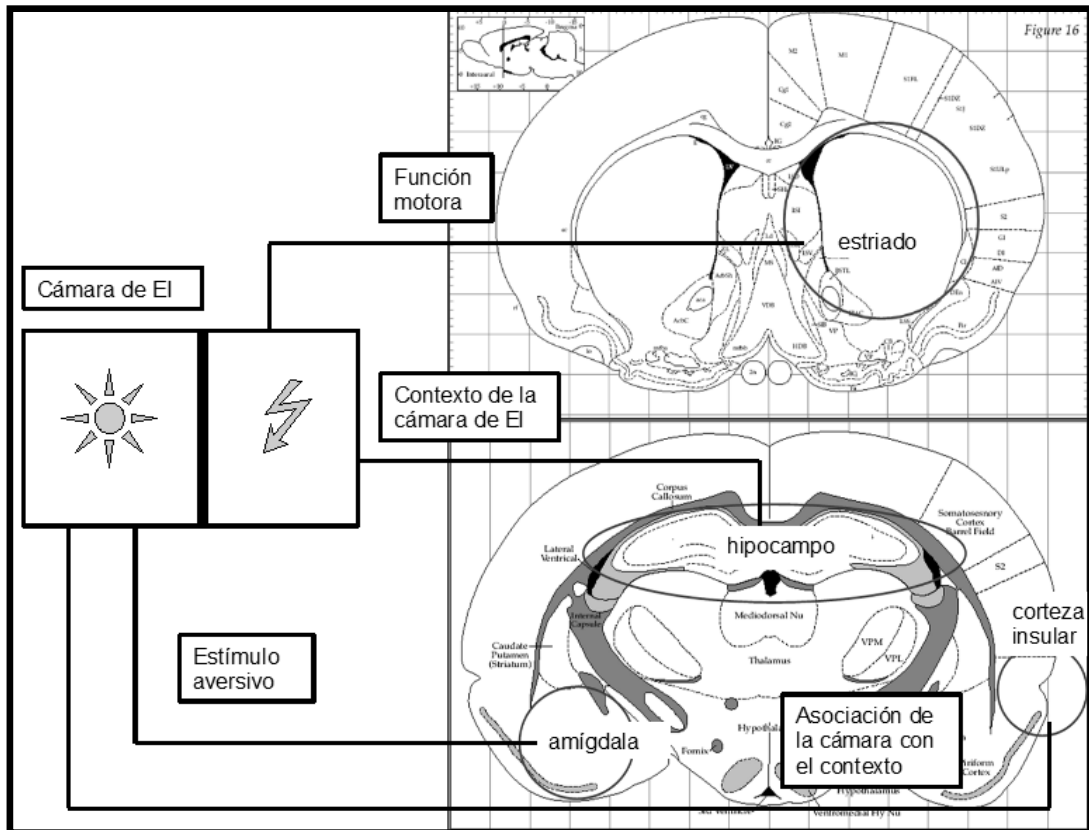
En una de sus versiones más conocidas, el animal aprende a suprimir la tendencia natural por preferir los sitios oscuros sobre los bien iluminados, mediante el apareamiento de un choque eléctrico con un ambiente oscuro. Se lleva a cabo dentro de una cámara con dos compartimentos divididos entre sí por una compuerta que se desliza a manera de guillotina; uno de los compartimentos está bien iluminado (compartimiento seguro), el otro es oscuro (compartimiento de choque) y tiene un piso metálico a través del cual se dan

pequeñas descargas eléctricas continuas a la rata durante 5 a 10 seg. Se realizan las mediciones del tiempo que tarda la rata en pasar al compartimiento de choque en el día de entrenamiento (latencia de adquisición), el tiempo que tarda en salir de éste después del choque (latencia de escape) y el día de la prueba se mide el tiempo que tarda la rata en pasar al compartimiento de choque (latencia de retención). La Figura 13 (en la sección de Material y Métodos), muestra la cámara de EI utilizada para el estudio.

Esta tarea tiene componentes tanto de aprendizaje clásico como instrumental. Mowrer (1951) propuso la teoría de los dos factores, que explica los cambios de conducta que se dan durante la EI. Se propone que durante la sesión de entrenamiento lo primero que ocurre es un condicionamiento clásico ya que se asocia el choque eléctrico con el compartimiento oscuro, en donde recibió ese estímulo aversivo. En otras palabras, se condiciona el miedo a un estímulo neutro, que es el contexto. El animal, motivado por este miedo, emite gran cantidad de respuestas (chillar, rascar, saltar, defecar) hasta que ejecuta la respuesta correcta, que lo lleva a escapar del choque y reducir su motivación de miedo. Durante la sesión de prueba o retención, el sujeto ejecuta una respuesta instrumental, que es la inhibición del movimiento, por lo que al no cruzar al compartimiento en el que previamente recibió el choque, su respuesta es reforzada por la omisión del estímulo aversivo.

#### E. *Estructuras Involucradas en la memoria de largo plazo.*

En la Figura 5 se muestra esquemáticamente la parte del proceso de aprendizaje de EI en la que intervienen algunas estructuras cerebrales y en la Figura 6 se muestra una probable relación de la NA con estructuras involucradas en la EI.



**Figura 5.** Regiones cerebrales involucradas en la tarea de evitación inhibitoria. Esquema del proceso de aprendizaje de evitación inhibitoria en la que intervienen diferentes estructuras cerebrales.

### Amígdala.

Los núcleos amigdalinos son un componente principal del sistema límbico, semejan la forma de una almendra, y en el humano se localizan en la punta del lóbulo temporal, debajo de la corteza del uncus y rostrales en relación con el hipocampo y el cuerno inferior del ventrículo lateral. La complicada conectividad neural de la amígdala dificulta imputar sólo a ella una conducta observada, ya que se le han atribuido múltiples funciones. Entre éstas están las siguientes:

Autonómica: después de la estimulación amigdalina se observan cambios en la frecuencia cardiaca, la respiración, la presión arterial, la motilidad gástrica, etc.

Orientación: la estimulación de la amígdala aumenta la respuesta de orientación hacia acontecimientos nuevos, estos animales experimentales,

detienen la actividad en curso y adaptan su cuerpo a la nueva situación (Afifi & Bergman, 2006).

Conducta Emocional y Alimentación: en la amígdala existen dos regiones antagónicas respecto a la conducta emocional y la alimentación. Las lesiones en el grupo nuclear corticomedial de la amígdala provocan afagia, disminución del tono emocional, miedo y agresión. Las lesiones del grupo nuclear basolateral producen hiperfagia, y reacciones agradables. La estimulación del grupo nuclear basolateral de la amígdala se acompaña de miedo y huida, la del grupo nuclear corticomedial genera una reacción defensiva y agresiva (Afifi & Bergman, 2006).

Expresión Facial: las áreas corticales visuales extraestriadas participan en especial en la construcción de la representación perceptiva y detallada de los rostros; la amígdala es necesaria para enlazar la percepción de la cara a la reintegración del reconocimiento de su significado emocional y social. Las lesiones de la amígdala en monos deterioran la capacidad para valorar el significado social y emocional de los estímulos visuales. Las lesiones amigdalinas bilaterales en el hombre dan lugar a una alteración de la conducta social y cognición social, sobre todo en relación con el reconocimiento de indicios sociales a partir de las caras. Esto se acompaña de un deterioro del reconocimiento de expresiones faciales (Afifi & Bergman, 2006).

Reacción de Despertar: la estimulación del grupo nuclear basolateral de la amígdala produce respuesta de alertamiento o despertar; en contraste, la estimulación del grupo nuclear corticomedial ocasiona el efecto inverso (Afifi & Bergman, 2006).

Actividad Sexual: la amígdala contiene la densidad más alta de receptores a hormonas sexuales. La estimulación de ésta se acompaña de una diversidad de componentes de la conducta sexual que incluyen erección, eyaculación, movimientos copulatorios y ovulación (Afifi & Bergman, 2006).

Actividad Motora: la estimulación del grupo nuclear corticomedial de la amígdala induce movimientos rítmicos complejos vinculados con la ingesta de alimento, como masticación, chasquido de labios, lamido y deglución. La eliminación bilateral de la amígdala suprime las respuestas motoras relacionadas con el miedo que ocurren de manera natural en los animales.

La estimulación eléctrica de la amígdala genera una conducta de defensa o de huida (Afifi & Bergman, 2006).

Memoria: existen evidencias que implican al núcleo lateral de la amígdala (AL) como un componente clave en el sistema neural involucrado en la formación de la memoria durante el condicionamiento al miedo, aumentando la transmisión en la sinapsis que procesa al estímulo condicionado en la AL, permitiéndole dar una respuesta defensiva (Rodrigues, Schafe & LeDoux, 2004).

Evitación inhibitoria: hay amplia evidencia experimental de que la liberación de las hormonas del estrés están involucradas de manera crítica en la consolidación de experiencias emocionales. Así la amígdala regula la consolidación de la memoria a través de las proyecciones eferentes a muchas regiones del cerebro (Roozendaal, 2008).

Se ha encontrado en estudios en animales y humanos que la amígdala se involucra en habilitarnos para adquirir y retener la memoria de experiencias emotivas. Los resultados encontrados en estudios de análisis de imágenes de cerebros humanos, son consistentes con los obtenidos en animales, sugiriéndose que la activación de la amígdala influye en la consolidación de la memoria de largo plazo. El grado de activación de la amígdala por la adquisición de material emotivo (placentero o no), se correlaciona altamente con la evocación subsecuente (McGaugh, 2004).

La infusión de NA o agonistas de receptores  $\beta$ -adrenérgicos en la amígdala basolateral (ABL) aumenta la memoria de la EI, así como del entrenamiento de laberinto acuático. Otros resultados muestran que la activación de los receptores  $1-\alpha$  adrenérgicos también aumenta la memoria del entrenamiento de la EI en interacción con mecanismos  $\beta$ -adrenérgicos. Los resultados de experimentos usando ratas han demostrado que los efectos moduladores de la memoria de las hormonas adrenalina y glucocorticoides, son mediados por la activación de receptores  $\beta$ -adrenérgicos. Además, mediante estudios de conducta y de microdiálisis, se ha visto que el sistema noradrenérgico de la ABL también regula la influencia de los sistemas neuromoduladores, como los sistemas opioide, peptidérgico y GABAérgico en la adquisición de la memoria (Ferry, Roozendaal & McGaugh, 1999).



## **2. Estriado.**

En los roedores, el término estriado alude al núcleo caudado y al putamen. Estos son parte de los ganglios basales que son un grupo de núcleos interconectados que participan en funciones motoras y no motoras. En el humano el núcleo caudado tiene forma de "C" con una extremidad rostral, la cabeza, un cuerpo y una cola. El putamen posee una ubicación lateral al globo pálido y medial a la cápsula externa.

Función Motora: los ganglios basales tienen una función en la planeación y ejecución automática del plan motor aprendido en la preparación para el movimiento. Los estudios del inicio del movimiento desencadenado por un estímulo, sugieren que la actividad dentro de los ganglios basales se inicia en niveles corticales. En el movimiento iniciado de forma cortical, la información que fluye de la corteza a los ganglios basales, empieza con una instrucción que, a su vez, inicia la activación de neuronas estriatales. La aferencia nigral al estriado proporciona un efecto amortiguador continuo, de tal manera que se priorizan las instrucciones corticales. La aferencia del tálamo y otros sitios informa y actualiza al estriado sobre la actividad en otros sistemas relacionados con el movimiento. El estriado integra y alimenta la información en el globo pálido y la parte reticular de la sustancia nigra. A medida que se aprende una actividad motora, los ganglios basales toman la función de ejecutar de modo automático la destreza aprendida. Cuando están dañados los ganglios basales, el sujeto debe regresar a un mecanismo cortical más lento, menos automático y menos preciso para la expresión del movimiento (Afifi & Bergman, 2006).

Función de Control: según la hipótesis de control, la dopamina (inhibidora) y las aferencias corticales sensoriomotoras (excitadoras) al estriado se encuentran en un equilibrio fisiológico en sujetos normales. La aferencia inhibidora del globo pálido regula así el acceso sensoriomotor. En la enfermedad de Parkinson, la pérdida de la dopamina hace posible una facilitación cortical libre para el acceso de la información sensorial al sistema motor y disminuye la actividad motora. En la Corea de Huntington, la pérdida de las neuronas de los ganglios basales da lugar a una disminución de la aferencia inhibidora de estos últimos, con un incremento resultante del

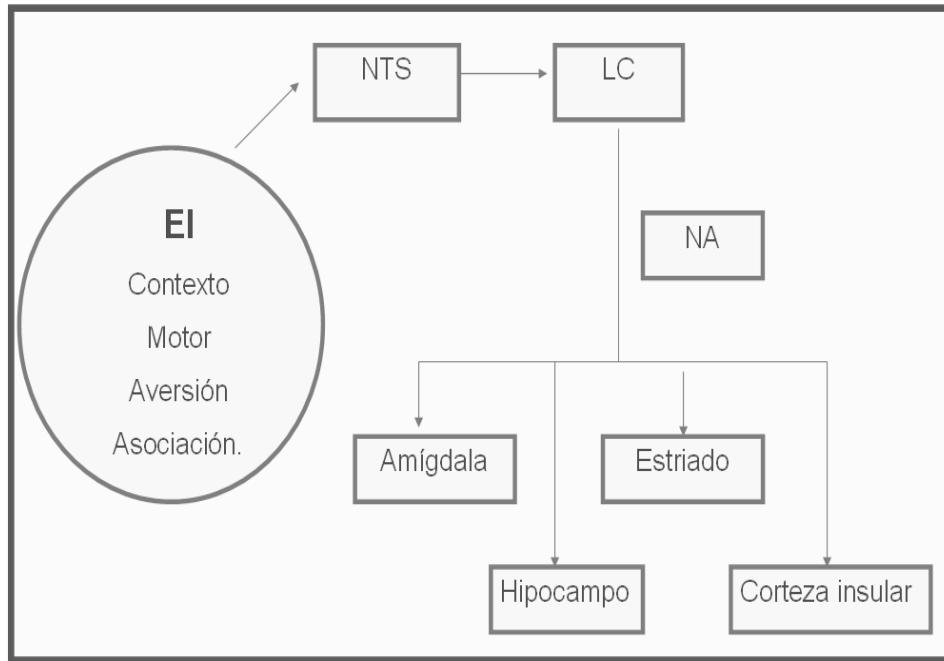
acceso de información sensorial al sistema motor e incremento de la actividad (Afifi & Bergman, 2006).

Función Cognoscitiva: las lesiones del circuito prefrontal dorsolateral causan deficiencias cognoscitivas y en las tareas que requieren memoria espacial. Los ganglios basales participan en la recuperación de información episódica y semántica para la memoria explícita y tareas implícitas que requieren el inicio o la modificación de programas motores centrales. Las lesiones en el circuito prefrontal dorsolateral en el hombre se relacionan con alteraciones cognoscitivas en la esquizofrenia, corea de Huntington, y la enfermedad de Parkinson (Afifi & Bergman, 2006).

Funciones Emocionales y Motivacionales: se ha publicado una disminución del tamaño de los ganglios basales en trastornos bipolares. Las lesiones del circuito orbitofrontal lateral se vinculan a menudo con una conducta obsesiva y compulsiva (Afifi & Bergman, 2006).

Negligencia Espacial: varios estudios relacionan al putamen con la negligencia espacial producida por lesiones de los ganglios basales del lado derecho. Ambos núcleos, derecho e izquierdo, están conectados de forma directa con el giro temporal superior que tiene un papel central en ésta (Afifi & Bergman, 2006).

Evitación inhibitoria: extensa evidencia indica que el estriado dorsal juega un papel en el aprendizaje y la memoria. Una hipótesis dice que esta región cerebral, media un tipo de aprendizaje en el que la asociación estímulo-respuesta o hábitos se adquieren de manera incrementada. Los estudios en pacientes humanos con enfermedades neurodegenerativas que comprometen a los ganglios basales, así como en estudios usando técnicas de neuroimagen, proveen evidencia de que los ganglios basales participan en el aprendizaje de los hábitos. Muchos de estos estudios disocian el papel del aprendizaje en estímulo-respuesta de los ganglios basales, de aquellos tipos de aprendizaje cognitivos o declarativos que incluyen al hipocampo como principal componente. La evidencia sugiere que durante el aprendizaje, los ganglios basales y los sistemas de memoria del lóbulo temporal se activan simultáneamente, lo cual causa interferencia competitiva entre ambos sistemas (Packard & Knowlton, 2002).



**Figura 6.** Probable relación de la noradrenalina con las estructuras involucradas en la evitación inhibitoria (EI). La tarea de evitación inhibitoria estimula al núcleo de tracto solitario (NTS) y este a su vez al locus cerúleo (LC) liberando noradrenalina (NA) directamente en la amígdala, el hipocampo, el estriado y la corteza insular.

### 3. Hipocampo

La formación hipocámpica, en el ser humano, es una invaginación del giro parahipocámpico hacia el cuerno inferior del ventrículo lateral y consta de tres regiones: hipocampo, giro dentado y subículo. En cortes coronales, el hipocampo aparece en forma de “C” que protruye hacia el cuerno inferior del ventrículo lateral.

Tanto la estimulación como la ablación del hipocampo suscitan cambios en las funciones conductuales, endocrinas y viscerales. El hipocampo se ha relacionado con el proceso de atención y alerta; su estimulación en animales produce movimientos de observación y exploración que se acompañan de azoramiento y ansiedad. La importante función del hipocampo en la memoria fue evidente cuando en 1957 Scoville y Milner describieron la pérdida de memoria consecutiva a lobectomías temporales anteriores bilaterales.

La ablación bilateral del hipocampo en el hombre ocasiona pérdida de la memoria de corto plazo y amnesia anterógrada. Sin embargo, permanece intacta la memoria de largo plazo.

La ablación unilateral del hipocampo en el hombre no afecta considerablemente la memoria de largo plazo. Estudios en seres humanos con lesiones cerebrales indican que el hipocampo es importante para la memoria declarativa, la memoria de hechos, palabras y datos que pueden traerse a la mente y analizarse de modo consciente.

La memoria declarativa incluye reconocimiento episódico y semántico, basado en la familiaridad, con el señalamiento adicional de que el hipocampo ejerce una función limitada por el tiempo (sólo es necesario para la información recién adquirida). La memoria episódica suele alterarse de forma más grave en lesiones hipocámpicas que la memoria semántica. De manera similar a la especialización hemisférica, el hipocampo izquierdo se especializa en la memoria verbal y el derecho en la no verbal (Afifi & Bergman, 2006).

Está extensamente aceptado que el hipocampo juega un papel crucial en la memoria. Algunas teorías dicen que está encargado de unir las discontinuidades a lo largo del tiempo. Estos modelos enfatizan el papel de éste en representar episodios conductuales como eventos secuenciales; también ha sido propuesto para respaldar la memoria episódica, y la habilidad de recolectar experiencias pasadas y revivirlas. El hipocampo media la unión de episodios sobrepuestos a través de sus elementos comunes. Está visto que sustenta un gran rango de capacidad de memoria incluyendo memoria episódica, navegación espacial y expresión de memoria flexible (Kumaran & Maguire, 2006).

El hipocampo tiene innumerables conexiones aferentes y eferentes con otras estructuras cerebrales. Tiene receptores para muchas diferentes señales de los neurotransmisores clásicos como la acetilcolina, así como para las hormonas esteroideas y los factores neurotróficos. Algunos de estos receptores están localizados en la sinapsis que forman los circuitos hipocámpicos intrínsecos y otros son los blancos de las vías de proyección específicas desde otras partes del cerebro (Perry, Ashton & Young, 2002).

#### **4. Corteza Insular.**

En el ser humano la corteza insular (CI) es una estructura muy desarrollada en la profundidad de la cisura de Silvio, recubierta por los opérculos frontal, parietal y temporal. Se le atribuye una diversidad de funciones, entre ellas la olfacción, el gusto, el control visceral, la memoria, el afecto y la iniciativa. El análisis basado en lesiones de ésta, demostró que la destrucción de la zona anterior izquierda deteriora la coordinación de la articulación y la producción del habla (Afifi & Bergman, 2006).

La CI tiene un papel importante durante la formación de la memoria aversiva; la actividad colinérgica de la CI es necesaria durante la adquisición y la consolidación de la memoria de evitación, pero al parecer es necesaria solamente durante la adquisición de la memoria de pre exposición al contexto no aversivo (Miranda & Bermúdez-Rattoni, 2006).

En el condicionamiento de aversión al sabor (CAS), el sujeto aprende a asociar el sabor novedoso con un malestar visceral. En la formación de esta memoria están involucrados el cerebro medio, estructuras límbicas y neocorticales. La interacción de la ABL con la CI regula un CAS intenso, a pesar de utilizar una dosis pequeña del estímulo aversivo (Ferreira et al., 2005).

La CI y la amígdala están involucradas en el aprendizaje y la memoria de las tareas motivadas por la aversión. En el estudio de Miranda y McGaugh publicado en 2004, se demostró que la CI está involucrada en la consolidación de la memoria de la EI y del CAS, y este efecto requiere de una actividad noradrenérgica intacta en la ABL.

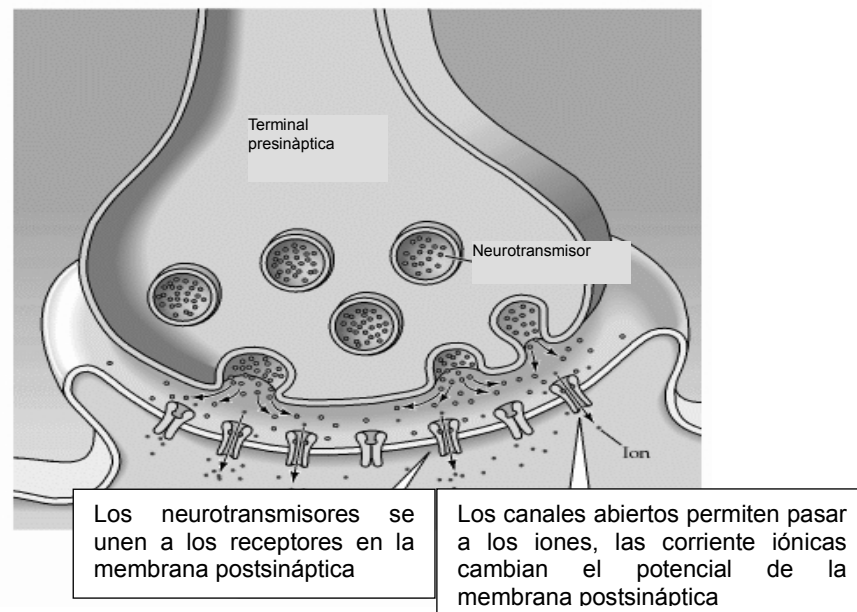
#### *F. Sistema noradrenérgico y memoria*

El almacenaje efectivo de la memoria involucra la secreción adrenal de hormonas en respuesta a eventos emocionales y la secreción subsiguiente de NA en estructuras límbicas que codifican nuevas experiencias.

#### Noradrenalina y sus receptores:

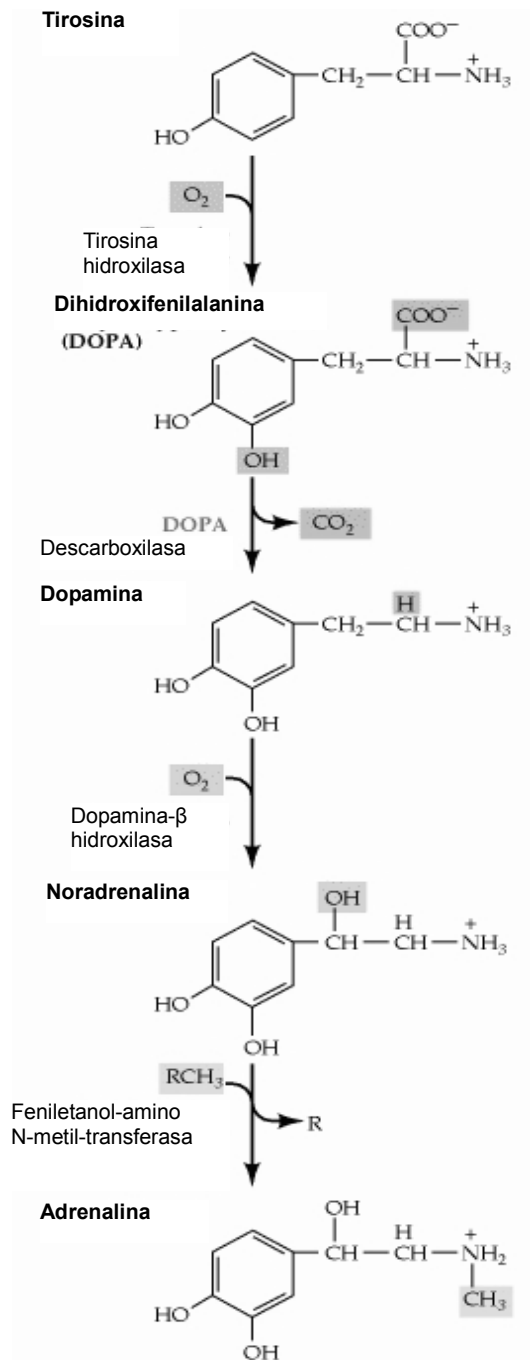
La noradrenalina es un neurotransmisor químico del grupo de las catecolaminas, presente en la mayoría de las terminaciones posganglionares simpáticas (Figura 7). Se almacena en los botones sinápticos de las neuronas

noradrenérgicas, en pequeñas vesículas y también es secretada por la médula suprarrenal. Proviene de la  $\beta$  hidroxilación de la dopamina, que a su vez se origina de la descarboxilación de la L-dopa como producto de la hidroxilación de la L-tirosina. La N-metilación de la NA da origen a la adrenalina, como se muestra en la Figura 8.



### Figura 7. Neurotransmisión.

Los receptores que median las acciones postsinápticas de los neurotransmisores tienen dos funciones. La primera, los sitios de anclaje específicos del lado extracelular del receptor, permite a las proteínas detectar la presencia del neurotransmisor en la hendidura sináptica. La segunda, la unión del receptor modifica la permeabilidad iónica de la membrana postsináptica. Modificado de Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, Katz LC, LaMantia AS, McNamara JO, Williams SM, 2001. Neuroscience. Sunderland: Sinauer Associates, Inc.



**Figura 8.**

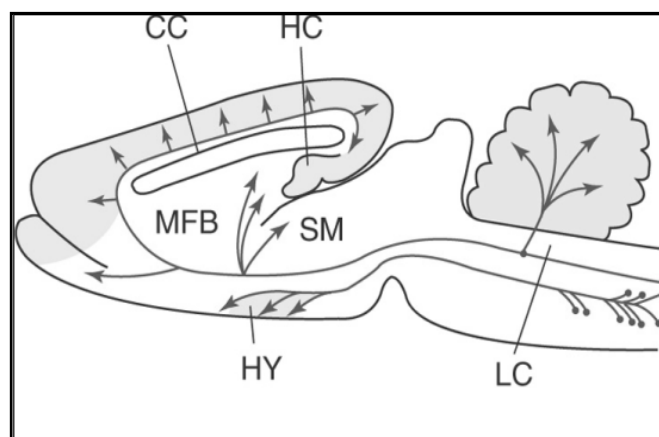
Vía de la síntesis de la noradrenalina.

La noradrenalina proviene de la β hidroxilación de la dopamina, que a su vez se origina de la descarboxilación de la L-dopa como producto de la hidroxilación de la L-tirosina. La N-metilación de la NA da origen a la adrenalina. Modificado de Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, Katz LC, LaMantia AS, McNamara JO, Williams SM, 2001. Neuroscience. Sunderland: Sinauer Associates, Inc.

Normalmente, hay niveles bajos de catecolaminas libres en el citosol, donde son metabolizadas por enzimas como la monoaminoxidasa (MAO), después de la conversión a dopamina, es almacenada en vesículas donde ocurre la última β hidroxilación. Los transportadores vesiculares son proteínas de 12 dominios transmembranales; de éstos el VMAT2 tiene una alta afinidad por la reserpina, que es un inhibidor específico de la bomba de vesículas, que bloquea la habilidad de éstas para concentrar aminas (Siegel et al., 1994).

El mecanismo que concentra las catecolaminas en las vesículas es una bomba de protones dependiente de ATP. Las vesículas mantienen listo el suplemento de catecolaminas en la terminal nerviosa para ser secretadas y además modulan el proceso de secreción, a través de canales de  $\text{Ca}^{++}$  que se abren cuando el potencial de acción alcanza la terminal nerviosa; esto permite el influjo de cationes en la terminal. El  $\text{Ca}^{++}$  intracelular elevado promueve la fusión de las vesículas con la membrana neuronal.

La organización anatómica de las catecolaminas se puede observar a través de técnicas de histofluorescencia e inmunohistoquímica. Existen seis grupos de neuronas noradrenérgicas en el bulbo, el puente y el cerebro medio, que son parte de la formación reticular, la cual proyecta desde la médula espinal hasta la formación reticular pontina lateral. Uno de los grupos mejor estudiados es el del locus cerúleo que tiene proyecciones ascendentes y descendentes del puente (Fillenz, 1990) (Figura 9).



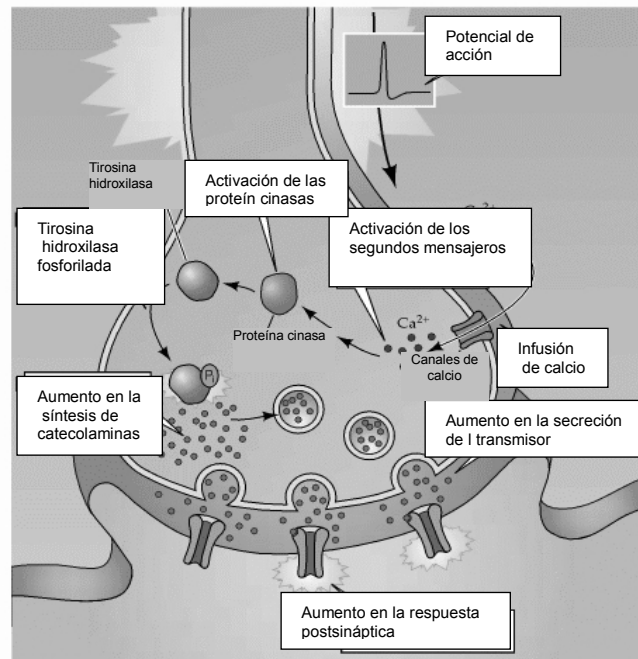
**Figura 9.** CC: cuerpo calloso, HC: hipocampo, HY: hipotálamo, LC: locus cerúleo, MFB: haz medio del cerebro anterior, SM: estría medular.

Existen seis grupos de neuronas noradrenérgicas en la formación reticular, que proyecta desde la médula espinal hasta la formación reticular pontina lateral. Uno de los grupos es el del locus cerúleo que tiene proyecciones ascendentes y descendentes del puente. Modificada de Coyle y Snyder; de Siegel GJ, Albers RW, Brady ST, Price DL, 1994. Basic Neurochemistry Molecular, Cellular and Medical Aspects. Chicago, USA: Elsevier.

La secreción de NA desde células adrenomedulares y neuronas noradrenérgicas centrales y periféricas produce cambios en células neuronales y no neuronales. Estos cambios se deben a la activación de receptores.



Los receptores posinápticos se encuentran típicamente en las dendritas y cuerpos neuronales, aunque también pueden estar en axones o terminales nerviosas (Figura 10). Los efectos de la NA y la adrenalina están mediados por 9 distintos receptores agrupados en 3 familias:  $\alpha$ -1,  $\alpha$ -2 y  $\beta$ . Todos son miembros de la superfamilia de los receptores acoplados a proteína G (Fillenz, 1990).



**Figura 10.** Sinapsis noradrenérgica.

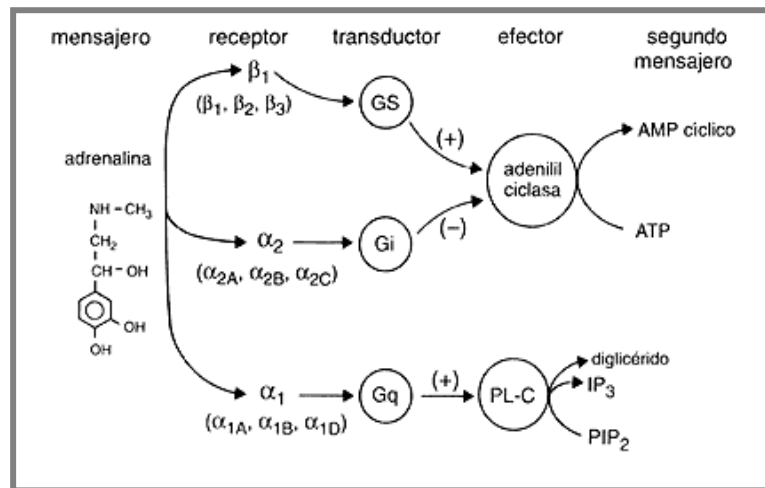
La noradrenalina es vesiculada y posteriormente secretada a la hendidura sináptica hacia los receptores noradrenérgicos en la neurona posináptica. Los receptores posinápticos se encuentran típicamente en las dendritas y cuerpos neuronales, aunque también pueden estar en axones o terminales nerviosas. Modificado de Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, Katz LC, LaMantia AS, McNamara JO, Williams SM, 2001. Neuroscience. Sunderland: Sinauer Associates, Inc.

La clasificación de los receptores adrenérgicos surge del interés por explicar las acciones fisiológicas aparentemente opuestas de la adrenalina y la NA. La búsqueda de antagonistas selectivos de adrenorreceptores reveló que la subdivisión entre receptores posinápticos  $\alpha$  y  $\beta$ , era muy simple y no incluía todos los efectos encontrados. Los receptores de las uniones de los

neuroefectores noradrenérgicos se encontraron no sólo en la membrana de la célula efectora sino también en la terminal nerviosa noradrenérgica.

1.  $\beta$ -receptores.

La transducción de la acción de NA involucra la interacción de tres proteínas de membrana: el sitio de reconocimiento o unión, la subunidad catalítica de la enzima adenilato ciclasa, y la proteína de unión de nucleótido que media la interacción entre los dos primeros elementos. El sitio de unión o receptor es una proteína que cruza la membrana plasmática; la adenilato ciclasa y la proteína G están en la membrana y proyectan al interior de la célula. El complejo receptor-transmisor se acopla a la proteína G, quien después se une al guanosin trifosfato (GTP). Esta unión convierte la proteína G en la forma activa y acciona la subunidad catalítica de la adenilato ciclasa. La enzima activa forma monofosfato de adenosina (AMPc) desde ATP, y el AMPc se une a la subunidad reguladora de la proteína cinasa A, que por fosforilación, produce cambios alostéricos en varias proteínas incluyendo canales iónicos, bombas de iones, proteínas vesiculadas y enzimas de transmisión y síntesis (Figura 11). Toda esta cascada es de corta vida porque muchos de los pasos se autolimitan (Fillenz, 1990).



**Figura 11.** Adrenoreceptores y segundos mensajeros.

La transducción de la noradrenalina involucra la interacción de tres proteínas de membrana: el sitio de reconocimiento, la subunidad catalítica de la enzima adenilato ciclasa, y la proteína de unión de nucleótido que media la interacción entre los dos primeros elementos.

Modificado de [www.psicomag.com/neurobiologia/](http://www.psicomag.com/neurobiologia/)

## 2. $\alpha$ -receptores.

La subdivisión de adrenorreceptores  $\alpha$  surge del descubrimiento de que mediaban la inhibición de la secreción de NA; los receptores  $\alpha$ -1 se han aislado del hígado de rata, los  $\alpha$ -2 de plaquetas humanas (Fillenz, 1990).

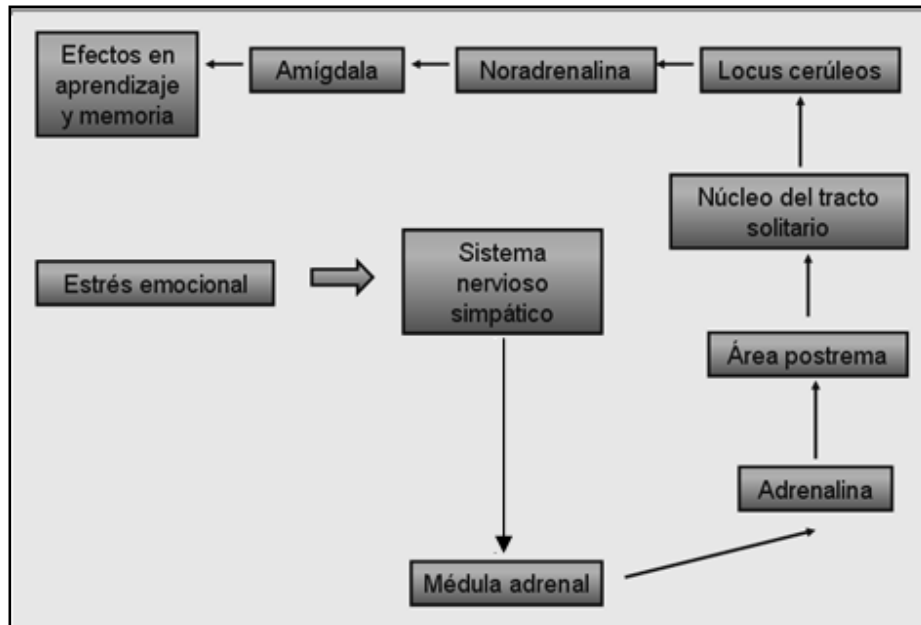
### *G. Participación de la noradrenalina en la consolidación y evocación de la memoria.*

La información que proviene del entrenamiento de EI es regulada por influencia  $\beta$  adrenérgica del complejo amigdalino. Los efectos moduladores de la memoria a través del sistema  $\beta$  adrenérgico son mediados selectivamente por el núcleo basolateral de la amígdala. La influencia noradrenérgica en el almacenamiento de la memoria, incluye también la activación de los  $\alpha$  adrenorreceptores. Los efectos moduladores de memoria de la NA en la ABL parecen ser mediados por la interacción entre los  $\alpha$  1 y los  $\beta$  adrenorreceptores. El segundo mensajero AMPc en la ABL está involucrado en el almacenamiento de la memoria de la EI. La facilitación de la memoria inducida por la activación de los  $\beta$  receptores en la ABL es mediado por la generación de AMPc, y este proceso es modulado por estimulación de los  $\alpha$  1 adrenorreceptores (Ferry, Roozendaal & McGaugh, 1999).

El bloqueo de receptores que se unen a NA o el agotamiento (decremento) de la NA en la amígdala, bloquean los efectos de facilitación de la memoria producido por las hormonas adrenérgicas (Williams, Men & Clayton, 2000).

El núcleo del tracto solitario recibe la retroalimentación relacionada con los cambios fisiológicos que ocurren después de un evento emocional al transmitir esta información a la amígdala por vía directa monosináptica. El NTS es el sitio de terminación de aferencias vagales. La liberación de NA juega un importante papel modulador de la actividad en el NTS durante la formación de la memoria; tal vez modula la actividad sináptica para facilitar el proceso neural de experiencias emocionales en la amígdala. La activación noradrenérgica del NTS con clenbuterol, mejora la memoria y promueve la retención en una tarea de discriminación motivada por el alimento. Estos efectos pueden atribuirse a la capacidad del clenbuterol para unirse a receptores presinápticos  $\beta$  noradrenérgicos y potenciar la producción de NA en el NTS durante el periodo

en que la experiencia del entrenamiento se consolida en la retención de la memoria (Williams et al., 2000).



**Figura 12.** Vía hipofisis-hipotálamo-adrenal a memoria y aprendizaje

El NTS tiene un papel vital en recibir las entradas de las vías periféricas que corresponden a la respuesta hormonal del organismo a experiencias emocionales y en transmitir esta información a estructuras límbicas. El NTS está embebido con receptores adrenérgicos que proyectan directamente a la amígdala.

Según los resultados del estudio de Clayton y Williams (2000), la activación farmacológica de receptores adrenérgicos dentro del NTS potencia la liberación de NA de la amígdala, y aumenta la memoria emocionalmente motivada y de tareas de aprendizaje espacial. Está bien documentado que el NTS está embebido con receptores  $\alpha$  y  $\beta$  adrenérgicos. Estos receptores proveen un posible sustrato con el que los agonistas de A pueden activar las neuronas del NTS, que proyectan directamente a la amígdala. La administración bilateral de A en el NTS después del entrenamiento, facilita la memoria de EI cuando se prueba la retención 48 hr después de la tarea; también produce un aumento en los niveles extracelulares de NA en la amígdala. El NTS tiene un papel vital en recibir las entradas de las vías periféricas que corresponden a la respuesta hormonal del organismo a experiencias emocionales y en transmitir esta información a estructuras límbicas como la amígdala (Figura 12). Los sujetos de estos estudios fueron

canulados bilateralmente por encima de la región caudal del NTS (Clayton & Williams, 2000).

Numerosos hallazgos indican que la activación noradrenérgica dentro de la ABL juega un papel crítico en la modulación de la consolidación de la memoria de largo plazo. De esta forma la administración de agonistas  $\beta$  adrenérgicos, incluyendo NA, en la LA después del entrenamiento de EI o tareas espaciales de laberinto acuático, mejoran la memoria de largo plazo. Algunos estudios usando el entrenamiento de EI han demostrado que la actividad noradrenérgica en la ABL modula los efectos que ejercen las drogas que afectan a los sistemas opioides peptidérgicos, GABAérgicos y al sistema glucocorticoide, sobre la memoria aversiva. La cantidad de NA liberada por la amígdala después del entrenamiento de EI se correlaciona con la prueba de retención subsecuente. La administración de NA en la ABL después del entrenamiento, aumenta la retención de aversión condicionada al contexto en ratas. La memoria derivada de diferentes tareas involucra interacciones de la ABL con otras regiones del cerebro incluyendo el estriado, el hipocampo y la corteza entorrinal, según resultados de LaLumiere et al. (2003).

### 3. JUSTIFICACION

El almacenaje efectivo de la memoria de largo plazo involucra la secreción adrenal de hormonas y la secreción subsiguiente de NA en estructuras límbicas como la amígdala. El bloqueo de receptores de NA o el decremento de su concentración en la amígdala impide la facilitación de la memoria producido por las hormonas adrenérgicas. Extensa evidencia indica que la activación noradrenérgica dentro de la ABL es crítica en la modulación de la consolidación de la memoria. La administración de agonistas de  $\beta$ -adrenorreceptores en la ABL, después del entrenamiento de EI, mejora la memoria de largo plazo. La cantidad de NA liberada por la amígdala después del entrenamiento de EI se correlaciona significativamente con la ejecución en la prueba de retención subsiguiente; de tal forma la administración de NA en ABL después del entrenamiento, mejora la retención de aversión condicional al contexto en ratas. La activación de la amígdala influye en la consolidación de la memoria de largo plazo, el grado de activación de la amígdala por la adquisición de material emotivo (placentero o no), se correlaciona altamente con la evocación subsecuente. La administración de NA o agonistas de  $\beta$  adrenérgicos en la ABL mejora la memoria de la EI. Estos antecedentes muestran que la NA está involucrada en la consolidación de EI, pero se ignora si se requiere durante el proceso de evocación de dicha memoria.

#### 4. HIPÓTESIS

Si la noradrenalina está involucrada en el proceso de evocación de la memoria de una tarea de EI, entonces habrá cambios en los niveles de este neurotransmisor durante la evocación de la tarea de EI en la corteza insular, el estriado, el hipocampo y/o la amígdala.

#### 5. OBJETIVO GENERAL

Estudiar la función del sistema noradrenérgico durante la evocación de la memoria de evitación inhibitoria, a través de la cuantificación de noradrenalina en la corteza insular, el estriado, el hipocampo y la amígdala de ratas entrenadas en la tarea de EI.

##### 5.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Evaluar los niveles de noradrenalina, mediante la técnica de cromatografía líquida de alta presión (HPLC), en homogenados de la corteza insular, el estriado, el hipocampo y la amígdala de cerebros de ratas obtenidos inmediatamente después de la evocación de una tarea de EI.
2. Evaluar los niveles de noradrenalina, mediante la técnica de HPLC, en homogenados de la corteza insular, el estriado, el hipocampo y la amígdala de cerebros de ratas obtenidos al día siguiente de la adquisición sin evocación de la tarea de EI.

## 6. MATERIAL Y MÉTODOS

El protocolo experimental y el uso y cuidado de los animales para el estudio fue aprobado por el comité de bioética del Instituto de Neurobiología de la UNAM, que está acorde con el “NIH Guidelines for the Care and Use of Laboratory Animals”. Los sacrificios sin el uso previo de anestésicos fueron realizados con la metodología adecuada para evitar el maltrato de los animales.

### 6.1 *Sujetos.*

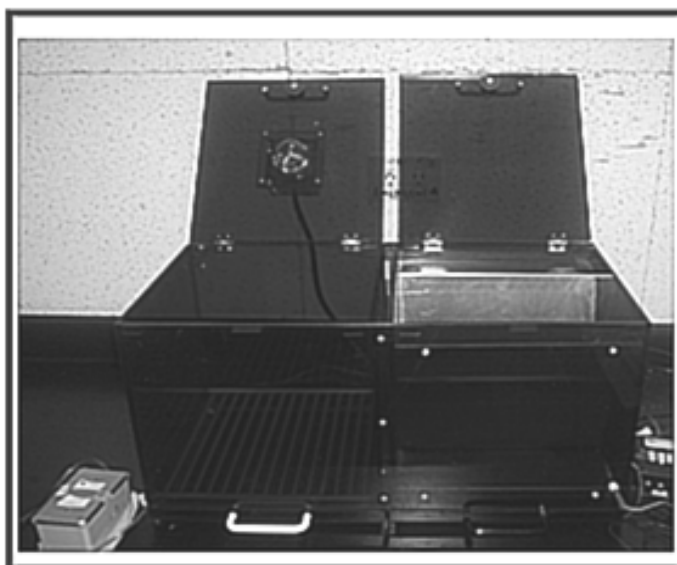
Se utilizaron ratas Wistar, macho adultas, de 250 a 300 g, sometidas a una semana de adaptación a las condiciones del bioterio del laboratorio, con ciclos 12/12 hrs (luces encendidas a las 07:00 hr), manteniéndolos a una temperatura de 22°C, y humedad al 50%. Antes del día del entrenamiento, todos los sujetos fueron manipulados en cuatro ocasiones dentro de un horario de las 12:00 a las 16:00 hr, sosteniendo a cada sujeto con las manos sobre una toalla durante 3 min, excepto los sujetos intactos. El propósito de esta manipulación fue disminuir el estrés de las ratas ante el experimentador. Los sujetos fueron manipulados, entrenados, probados y sacrificados en una ventana de tiempo de las 12:00 a las 16:00 hr.

### 6.2 *Procedimiento de evitación inhibitoria.*

El entrenamiento de EI y la prueba de retención se realizaron en una caja de condicionamiento (Figura 13) constituida por dos compartimientos de las mismas dimensiones (30 x 30 x 30 cm) separados por una puerta tipo guillotina. El piso del compartimiento iluminado de seguridad fue hecho con barras de aluminio de 6 mm de diámetro separadas 1.5 cm entre sí. Las paredes del compartimiento oscuro de choque están construidas de dos placas de acero inoxidable separadas entre sí en el piso por una ranura de 1 cm, dando una forma de V, lo cual permite que los sujetos hagan contacto con estas placas todo el tiempo y reciban un choque eléctrico. Este compartimiento se electrificó utilizando un estimulador de pulsos cuadrados (Grass-Instruments Co., modelo S48), conectado en serie con una unidad de corriente constante (Grass-Instruments Co., modelo CCU-1A). La cámara de condicionamiento está ubicada en un cuarto sonoamortiguado (2.44 X 1.95 X 2.50 m) que tiene



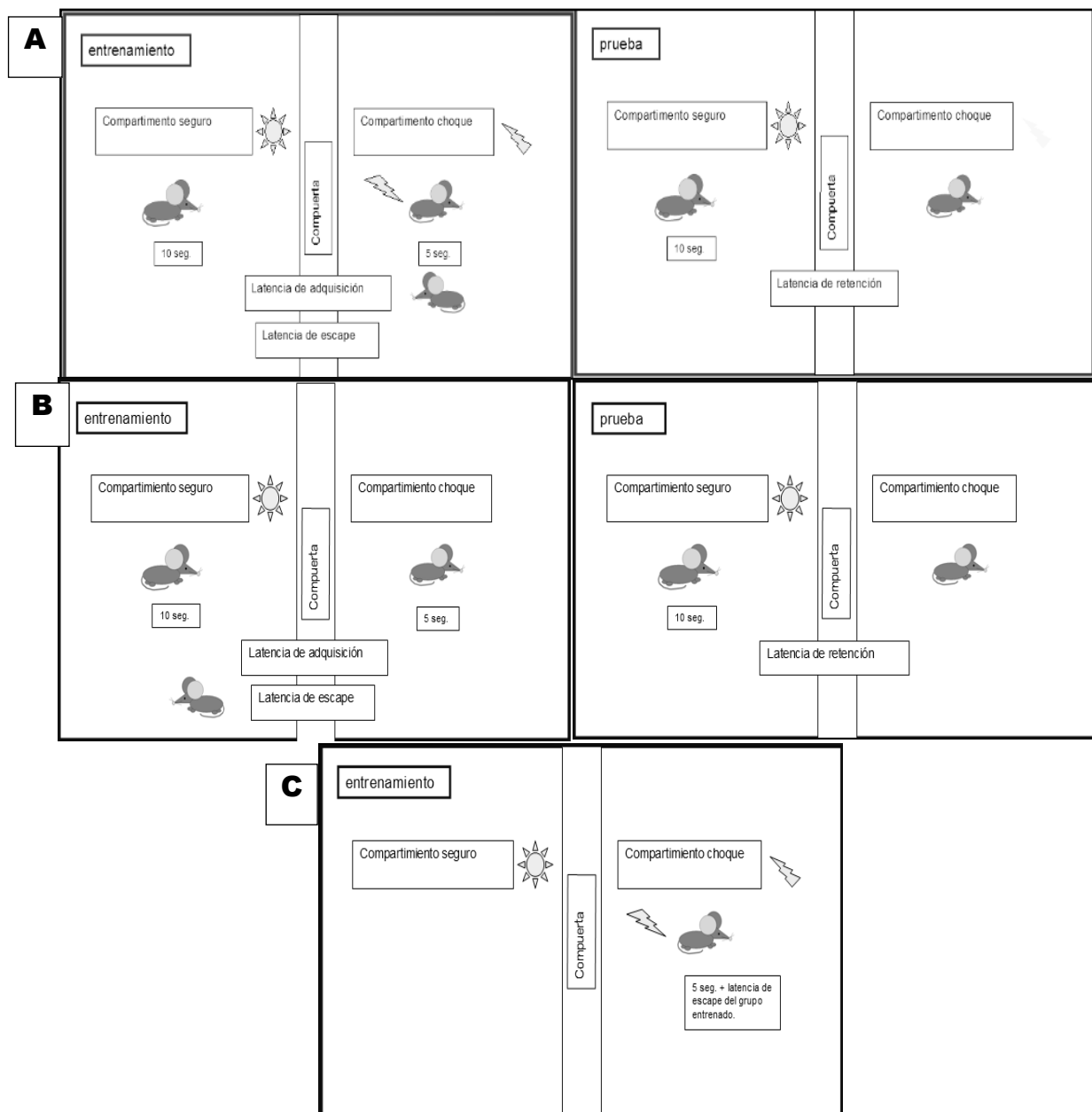
baja iluminación blanca que puede ser controlada, y está provisto de un enmascarador de ruido (BRS/LVE, modelo AU-902) que tiene por propósito neutralizar los ruidos ajenos.



**Figura 13.** Cámara de evitación inhibitoria.

Es una caja de condicionamiento constituida por dos compartimientos de las mismas dimensiones separados por una puerta tipo guillotina. El piso del compartimiento iluminado de seguridad fue hecho con barras de aluminio. Las paredes del compartimiento oscuro de choque están construidas de dos placas de acero inoxidable separadas entre sí en el piso por una ranura dando una forma de V.

El entrenamiento de EI se lleva a cabo colocando al sujeto dentro del compartimiento que está bien iluminado (compartimiento seguro); 10 seg después se abre la compuerta y se espera a que la rata pase al otro compartimiento, de choque, se cierra la compuerta y se administran descargas eléctricas continuas durante 5 seg. Finalmente se abre la compuerta y se permite escapar al sujeto al compartimiento seguro. A las 24 hr, durante la prueba de retención, se coloca al sujeto nuevamente en la cámara de EI en el compartimiento seguro y 10 seg después, se abre la compuerta, y se espera a que la rata pase al compartimiento de choque; al hacerlo, se saca al sujeto y se regresa a su jaula (Figura 14A). Se realizan las mediciones del tiempo que tarda la rata en pasar al compartimiento de choque en el día de entrenamiento (latencia de adquisición), el tiempo que tarda en salir de éste después del choque (latencia de escape) y el día de la prueba se mide el tiempo que tarda la rata en pasar al compartimiento de choque (latencia de retención).



**Figura 14.** Procedimientos en la cámara de evitación inhibitoria.

**A.** Grupo entrenado. Se inicia colocando al sujeto dentro del compartimento seguro, se abre la compuerta y se espera a que la rata pase al compartimento de choque, se cierra la compuerta y se administra el choque. Cinco seg después se abre la compuerta para dejar escapar al sujeto. A las 24 hr, en la prueba de retención, se coloca al sujeto en el compartimento seguro, se abre la compuerta, y se espera a que la rata pase al compartimento de choque, al hacerlo, se saca al sujeto.

**B.** Grupo de cámara. Se colocaron en el compartimento seguro, se abrió la compuerta y se cerró una vez que la rata entró al compartimento de choque, luego se abrió la compuerta dejando salir a la rata. Al día siguiente se colocó nuevamente al sujeto en el compartimento seguro, y se abrió la compuerta; al pasar la rata al compartimento de choque, se paró el cronómetro y se sacó a la rata.

**C.** Grupo de choque. Se colocó a la rata en el compartimento de choque y se le aplicó el choque eléctrico, posteriormente se sacó al sujeto. Al día siguiente fue sacrificado sin tener contacto nuevamente con la cámara.

### 6.3 Grupos experimentales.

El estudio se llevó a cabo con 7 grupos de ratas con diferentes condiciones, como se esquematiza en la Tabla 1.

Grupo	1ª semana Adaptación	1 <sup>ero</sup> -4 <sup>to</sup> día Manipulación	5 <sup>to</sup> día Adquisición			6 <sup>to</sup> día	
			Evitación Inhibitoria	Contexto de Cámara	Choque	Prueba (Evocación)	Sacrificio
1 Entrenado (E)	*	*	*	*	*	*	*
2 Intacto (I)	*						*
3 Manipulado (M)							No Cámara (IM)
4 Cámara (C)	*	*		*		*	*
5 Choque (CH)	*	*			*		*
6 Cámara sin Evocación (CSEvo)	*	*		*			*
7 Entrenamiento sin Evocación (ESEvo)	*	*	*	*	*		*

**Tabla 1.** Grupos estudiados. Todos los sujetos fueron manipulados excepto los intactos. Los sujetos fueron manipulados, entrenados, probados y sacrificados en la misma ventana de tiempo.

El grupo control intacto (I), de 12 sujetos, permaneció en el bioterio del laboratorio sin ninguna manipulación y, pasado el mismo tiempo que el resto de los grupos, los sujetos fueron sacrificados y las estructuras extraídas y procesadas con la técnica de HPLC. Este grupo tuvo la finalidad de comparar los niveles de NA de los sujetos sin el efecto de la manipulación, contra los niveles del grupo control manipulado.

Otro grupo de 12 ratas, fue manipulado (M) como el resto de los grupos y posteriormente los sujetos fueron sacrificados dos días después de esta manipulación. Se compararon los niveles de NA de este grupo que únicamente fue manipulado con el resto de los grupos que fueron sometidos a otros procedimientos y a la tarea de EI. De estas comparaciones pueden inferirse el efecto de la cámara de EI, el efecto del choque eléctrico y el efecto del aprendizaje de la tarea de EI independientes de la manipulación.

### 6.3.1 Grupos estudiados para objetivo 1.

En la Tabla 2 se representan los grupos. El grupo de cámara (C) sin entrenamiento de EI estuvo conformado por 12 ratas que fueron manipuladas, y posteriormente fueron introducidas en la cámara de EI. Se colocaron en el compartimiento seguro (iluminado) durante 10 seg, posteriormente se abrió la compuerta y se cerró una vez que la rata entró al compartimiento de choque con las cuatro patas, se contaron 5 seg y se abrió nuevamente la compuerta dejando que la rata regresara al compartimiento seguro, sin haber recibido ningún choque eléctrico. Al día siguiente se colocó nuevamente al sujeto en la cámara, en el compartimiento seguro, y se abrió la compuerta después de 10 seg; al pasar la rata al compartimiento de choque, se paró el cronómetro y se sacó a la rata (Figura 14B). Se registraron las latencias de ambos días. Los sujetos fueron sacrificados este mismo día inmediatamente después de la evocación de la tarea (contexto y movimiento). Con este grupo se analizaron los niveles de NA cuando los sujetos estuvieron expuestos al mismo contexto que el grupo entrenado pero sin estímulo aversivo, es decir, recibieron el mismo procedimiento del grupo entrenado, con un día de pseudoentrenamiento y un día de prueba pero sin recibir choque eléctrico. Al comparar este grupo con el entrenado, puede inferirse el efecto del entrenamiento de la tarea.

GRUPOS CON RESPECTO A LA EVOCACION DE LA TAREA	
OBJETIVO 1 después de evocación	OBJETIVO 2 sin evocación
Cámara de EI (C)	Cámara de EI (CSEvo)
Entrenamiento de EI (E)	Entrenamiento de EI (ESEvo)
	Choque (CH)

**Tabla 2.** Grupos experimentales organizados de acuerdo a los objetivos. Todos los grupos se clasificaron para los objetivos en dos series con respecto a la evocación de la memoria de la tarea, diferenciando dos grupos: los que tuvieron evocación y los que no.

En el caso del grupo entrenado (E), posterior a la manipulación, en el primer y único día de entrenamiento (sesión de adquisición o aprendizaje), cada sujeto se introdujo al compartimiento seguro durante 10 seg;

transcurrido este tiempo se abrió la compuerta y se midió la latencia de adquisición (tiempo que tarda el sujeto en pasar la compuerta hacia el compartimiento de choque con las cuatro patas, medido en seg) al compartimiento de choque. En ese momento se cerró la compuerta y se aplicó un choque durante 5 seg; después se abrió la compuerta y el choque se mantuvo hasta que la rata escapaba al compartimiento seguro, midiéndose la latencia de escape (tiempo que tarda el sujeto en pasar la compuerta con las cuatro patas después de recibir el choque eléctrico hacia el compartimiento seguro, medido en seg). Posteriormente, se cerró la compuerta y 30 seg después se colocó al animal en su jaula individual dando por terminada la sesión. Dos hr después fueron regresados al bioterio. La intensidad del choque fue de 1.0 mA, y los estímulos eléctricos tuvieron los siguientes parámetros: 100 volts, pulsos de 50 ms de duración y 10 Hz. Transcurridas 24 hr se colocó a cada sujeto en el compartimiento seguro y se midió la latencia de retención (tiempo que tarda el sujeto en pasar la compuerta con las cuatro patas hacia el compartimiento oscuro medido en seg), sin volver a aplicar el choque eléctrico. Si el sujeto no cruzaba en 400 seg se daba por terminada la sesión y se asignaba una puntuación de 400 seg (Figura 14A). Con el propósito de tener una muestra homogénea de sujetos entrenados, todos aquellos que no alcanzaron una puntuación de 400 seg fueron descartados del experimento, por lo que en tales casos, éstos fueron sustituidos por otras ratas hasta completar un grupo de 11 sujetos. Inmediatamente después de la prueba de retención, las ratas que se mantuvieron para el experimento fueron sacrificadas.

### 6.3.2 Grupos experimentales para objetivo 2.

En la Tabla 2 se representan los grupos. El grupo de choque (CH) se conformó de 9 sujetos, cada uno fue colocado en la cámara de EI en el compartimiento de choque el día de la adquisición y se le aplicaron descargas eléctricas de 1.0 mA durante 5 seg; posteriormente se sacó al sujeto de la cámara y se regresó a su jaula (Figura 14C). Al día siguiente fue sacrificado sin tener contacto nuevamente con la cámara de EI ni con el contexto de ésta (cuarto sonoamortiguado). Con este grupo se podría

identificar el efecto de la evocación de la memoria tanto en el aprendizaje aversivo como en el contexto sin estímulo aversivo.

El grupo control de cámara sin entrenamiento ni evocación (CSEvo), fue formado con 9 ratas, cada una fue introducida, después de la manipulación, en la cámara de EI sin el choque eléctrico el día del entrenamiento; 24 hr después fueron sacrificados los sujetos sin volver a entrar a la cámara de EI. Este grupo, comparado con el grupo de cámara sin entrenamiento de EI, nos permite observar el efecto de la evocación del contexto de la cámara de EI, sin el estímulo aversivo del choque eléctrico.

Diez animales constituyeron el grupo de sujetos entrenados sin evocación (ESEvo) de la tarea de EI, estos fueron sometidos a la manipulación y posteriormente a la EI similar al grupo entrenado, pero no se llevó a cabo la prueba de retención al día siguiente, y fueron sacrificados sin evocación de la tarea, 24 hr después del entrenamiento. Al comparar estos sujetos con los del grupo entrenado, se obtiene el efecto de la evocación de la tarea de EI.

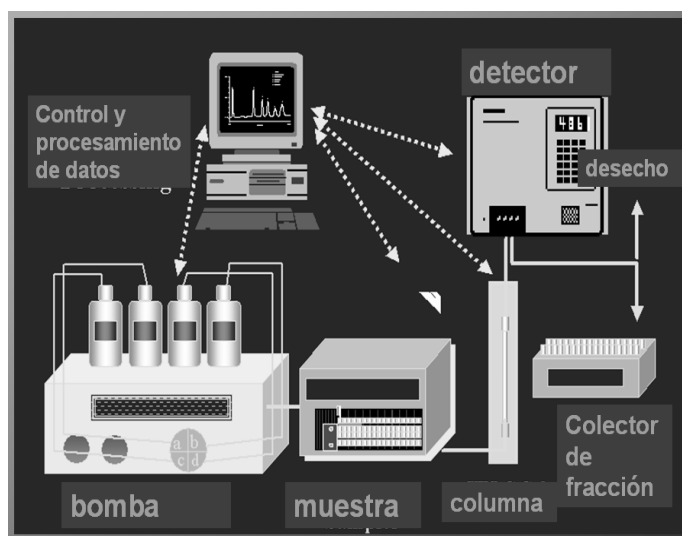
#### 6.4 *Obtención de tejido cerebral para homogenados*

El sacrificio de las ratas con prueba de retención (objetivo 1) se realizó inmediatamente después de ésta, a las 24 hr del aprendizaje. Los animales del objetivo 2 fueron sacrificados a las 24 hr del día de adquisición.

Los sujetos fueron sacrificados sin anestesia, utilizando una guillotina y un “decapicono” de plástico, y el cerebro fue extraído rápidamente (en aproximadamente 15 seg). El tejido se obtuvo mediante el corte de una rebanada de 2 mm en sentido coronal del cerebro a nivel del área preóptica, disecando la corteza insular, el estriado, la amígdala y el hipocampo de cada lado. Los fragmentos de tejido cerebral fueron colocados para su conservación, en tubos Eppendorff previamente pesados con 100 µl de ácido perclórico y 20 µl de 3,4-dihidroxibenzilamina (DHBA). Se colocaron en un homogenizador y luego en una centrífuga Eppendorf Centrifuge 5417R a -9°C durante 5 min a 14000 rpm. Se obtuvo el sobrenadante y éste fue filtrado con un filtro de 0.45 µm colocado en tubos Eppendorff limpios, en un refrigerador REVCO a -34°C.

## 6.5 Análisis de NA

Las mediciones cromatográficas para la determinación de NA en las muestras obtenidas se realizaron a través de un sistema de Cromatografía Líquida de Alta Presión (HPLC) BAS y detección electroquímica (Figura 15). A través de una columna C18 de fase reversa (10X0.5), la elusión se analizó utilizando un electrodo de carbón vidriado (EPSILON-BAS) con un potencial de +0.75 V contra un electrodo de referencia Ag/AgCl. El flujo fue mantenido a 1.0 ml/min. La fase móvil consistió en 85% de una solución de fosfato de potasio ( $\text{H}_2\text{PO}_4$ , 10Mm). El agua grado HPLC y la solución amortiguadora fueron filtrados a través de una membrana de 0.22  $\mu\text{m}$ . La columna se mantuvo a temperatura ambiente (aproximadamente 29°C). Los valores de peróxido, proporcionales a NA fueron calculados con base en estándares externos (curva de calibración de 5 puntos). Con el HPLC estabilizado, se colocaron las muestras, al azar, inyectando 20  $\mu\text{l}$  de cada una y graficando los datos para después tomar las lecturas. La NA se reportó en ng de concentración sobre mg de peso de tejido húmedo.



**Figura 15.** Cromatografía líquida de alta presión.

Las mediciones cromatográficas se realizaron a través de un sistema de HPLC, a través de una columna de fase reversa. Se colocaron las muestras, al azar, graficando los datos para después tomar las lecturas. Modificado de [www.chemistry.nmsu.edu/.../NMSU\\_HPLC\\_bkg.html](http://www.chemistry.nmsu.edu/.../NMSU_HPLC_bkg.html)

## 6.6 *Análisis estadístico*

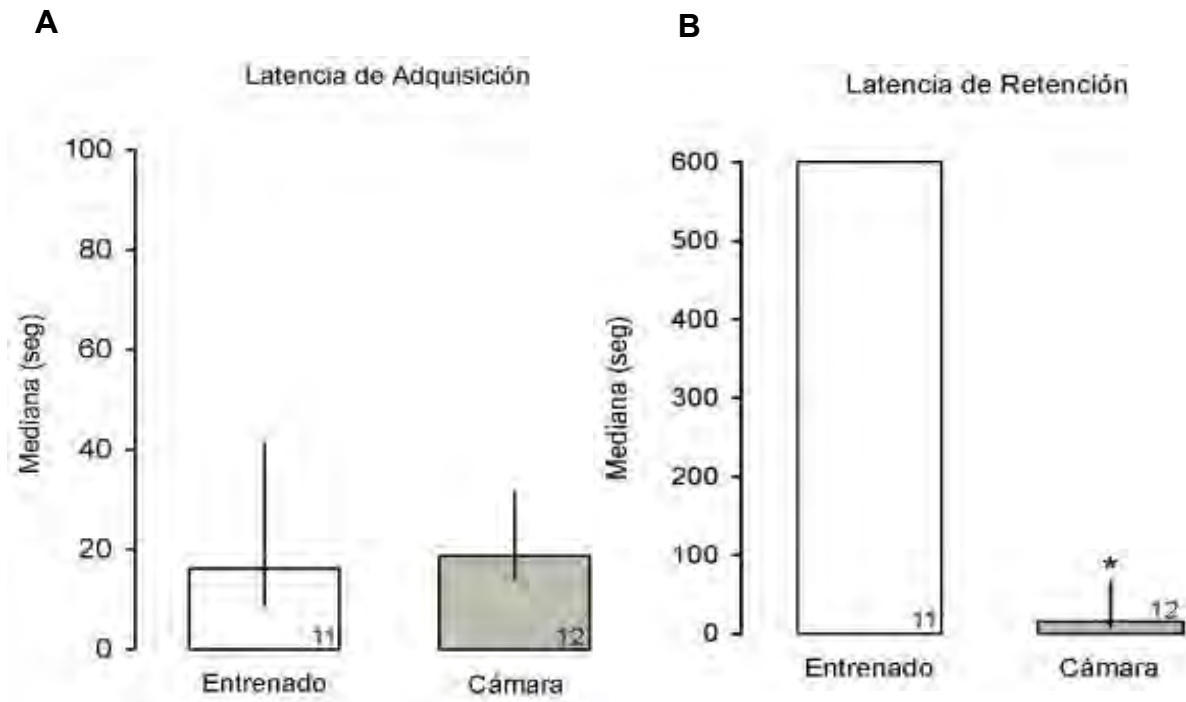
El análisis de los resultados del aprendizaje de la tarea de EI, fue realizado con estadística no paramétrica (Mann-Whitney U) para grupos independientes. Se analizaron los niveles de NA de cada grupo por estructura con la prueba estadística no paramétrica de Kruskal–Wallis, y las comparaciones entre grupos independientes con la prueba de U de Mann-Whitney.



## 7. RESULTADOS

### A. Resultados conductuales durante las diferentes etapas de la EI.

De los 18 sujetos entrenados en la tarea, 7 animales tuvieron una latencia de retención menor a 400 seg por lo que operacionalmente, fueron excluidos del grupo de sujetos entrenados (E).



**Figura 16.** Resultados de aprendizaje.

**A.** Latencia de adquisición de los grupos cámara (C) y entrenado (E). Durante la adquisición de la EI, las latencias de adquisición del grupo E comparadas con las del grupo C, no presentaron diferencias.

**B.** Latencia de retención de los grupos cámara (C) y entrenado (E). Al comparar las latencias de retención de ambos grupos se observó una mayor latencia de las ratas entrenadas. (\*,  $p < 0.0001$ ); Los números dentro de las barra representa el número de rata

Durante la adquisición de la EI, las latencias de adquisición (entrada al lado oscuro de la cámara) del grupo entrenado (E) comparadas con las del grupo de cámara (C) (Figura 16A), no presentaron diferencias significativas. Sin embargo, al comparar las latencias de retención de ambos grupos (Figura 16B) se observó una diferencia significativa ( $p < 0.0001$ ), siendo mayor la latencia de las ratas entrenadas con una mediana de 420.5 seg contra 47.5 seg de latencia de las ratas del grupo C.

De igual manera, la mediana de las latencias de escape de los sujetos del grupo E fue significativamente mayor ( $p < 0.0001$ ) que la mediana de las latencias del grupo C. Esto era de esperarse, ya que los animales entrenados escaparon del choque que se les estaba administrando, mientras que los del grupo C no recibieron choque alguno, por lo que no tuvieron ésta motivación para “escapar” hacia el compartimiento seguro.

El grupo E, mostró diferencias significativas ( $p < 0.01$ ) entre las latencias de adquisición y las de retención, siendo mayores estas últimas; sin embargo, no se observaron diferencias entre las latencias de adquisición y retención en el grupo C.

*B. Niveles de NA con respecto al estímulo aversivo.*

Al observar que no se encontraron diferencias entre el grupo intacto (I) y el manipulado (M), se reagruparon en un solo grupo que se identificó como “no cámara de EI” (IM).

GRUPOS CON RESPECTO AL ESTIMULO AVERSIVO	
APRENDIZAJE NO ASOCIATIVO NO CHOQUE	APRENDIZAJE ASOCIATIVO CHOQUE
Cámara (C)	Entrenamiento (E)
Cámara sin evocación (CSEvo)	Entrenamiento sin evocación (ESEvo)
Control no cámara (IM)	Control (CH)

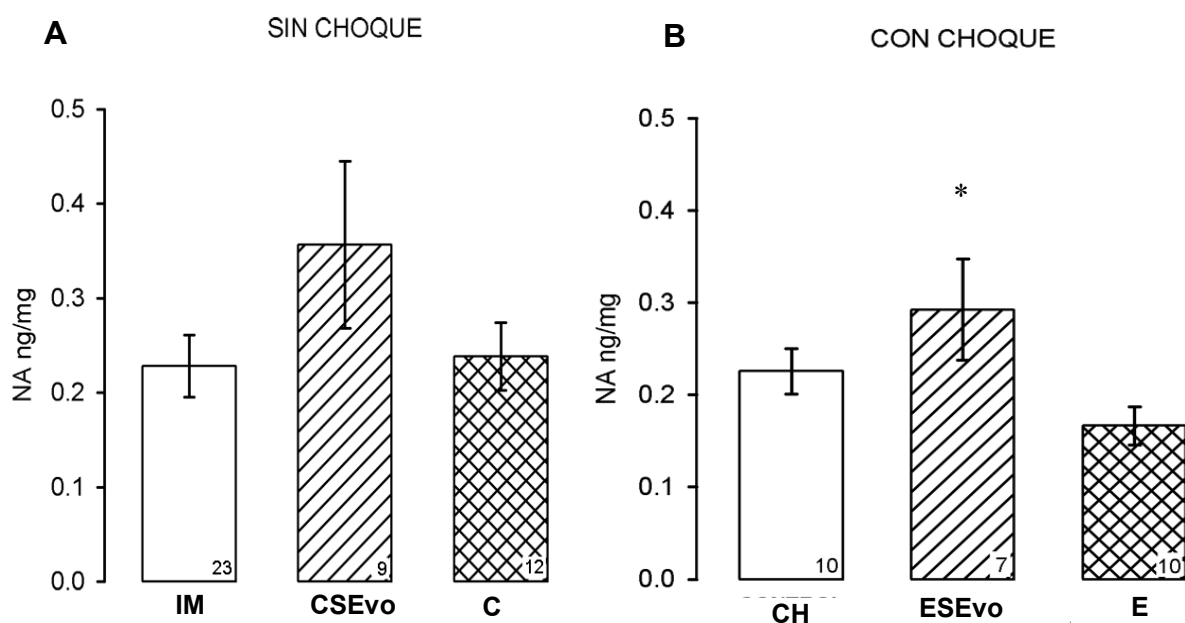
**Tabla 3.** Grupos experimentales de acuerdo al tipo de aprendizaje. Los grupos se clasificaron para los resultados en dos series con respecto a la aplicación o no del choque eléctrico, diferenciando dos tipos de aprendizaje: asociativo y no asociativo.

Todos los grupos se clasificaron para los resultados en dos series con respecto a la aplicación o no del estímulo aversivo del choque eléctrico (Tabla 3), diferenciando así dos tipos de aprendizaje: asociativo, aquel que asoció su entrenamiento al choque eléctrico; y no asociativo, el que no tuvo estímulo aversivo durante la adquisición de la memoria de contexto. De esta manera la evocación de la tarea es independiente del estímulo aversivo para su análisis.

Se compararon los grupos IM, C, CSEvo entre sí; al igual que los grupos CH, E y ESEvo, en cada estructura.

### Estriado.

Como se muestra en la Figura 17A, al comparar los grupos IM, C Y CSEvo, no se observó aumento significativo en los niveles de NA del estriado, aunque los niveles de NA tienden a incrementar en el grupo CSEvo. En la serie de animales que recibieron choque: CH, E y ESEvo (Figura 17B), se observó diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en la concentración de NA entre el grupo ESEvo y el grupo E. Además, se observó tendencia también de disminución de NA en el grupo E con respecto al CH.



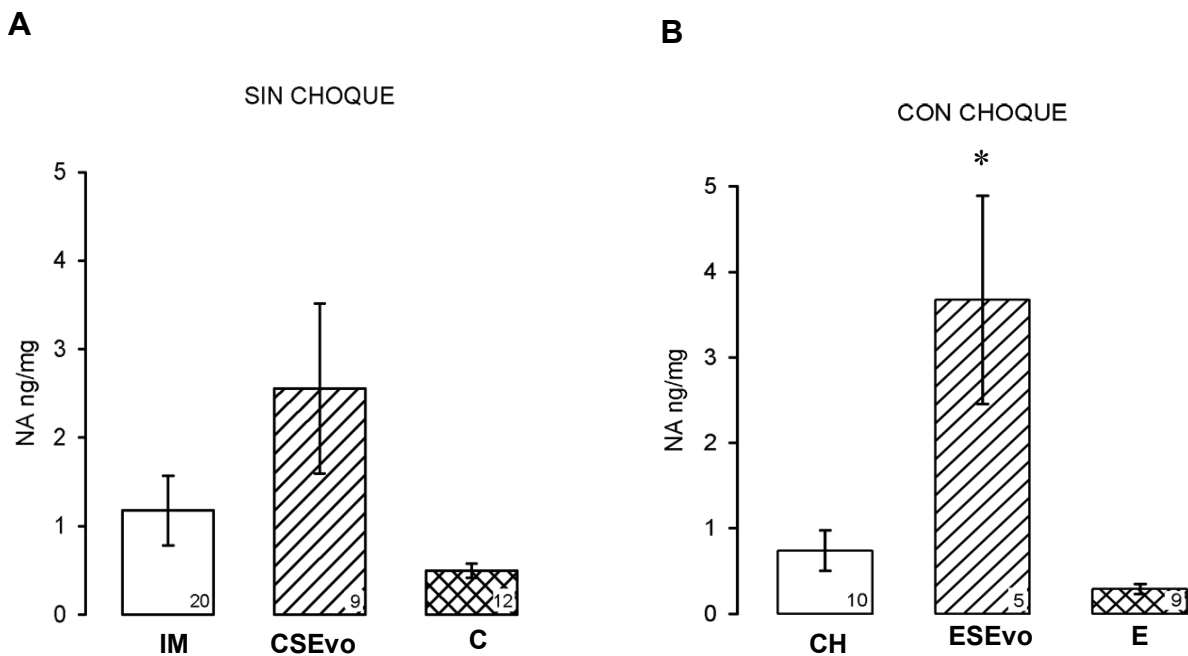
**Figura 17.** Niveles de noradrenalina en el estriado.

**A.** Grupos sin choque: control (IM), cámara sin evocación (CSEvo) y cámara con evocación (C). Al comparar los grupos no se observaron diferencias significativas.

**B.** Grupos con choque: control (CH), entrenado sin evocación (ESEvo) y entrenado con evocación (E). Se observó una diferencia significativa en la concentración de NA entre el grupo ESEvo y el grupo E. (\*,  $p < 0.05$ ).

### Hipocampo.

Como se muestra en la Figura 18A, al comparar los grupos IM, C, y CSEvo, no se encontraron diferencias significativas en los niveles de NA del hipocampo; pero se observó una tendencia de aumento de los niveles de NA en el grupo CSEvo comparados con los del grupo C. En la serie que recibió choque eléctrico: CH, E y ESEvo, se encontraron diferencias significativas en los niveles de NA entre el grupo ESEvo comparado con el grupo CH ( $p < 0.05$ ) (Figura 18B).



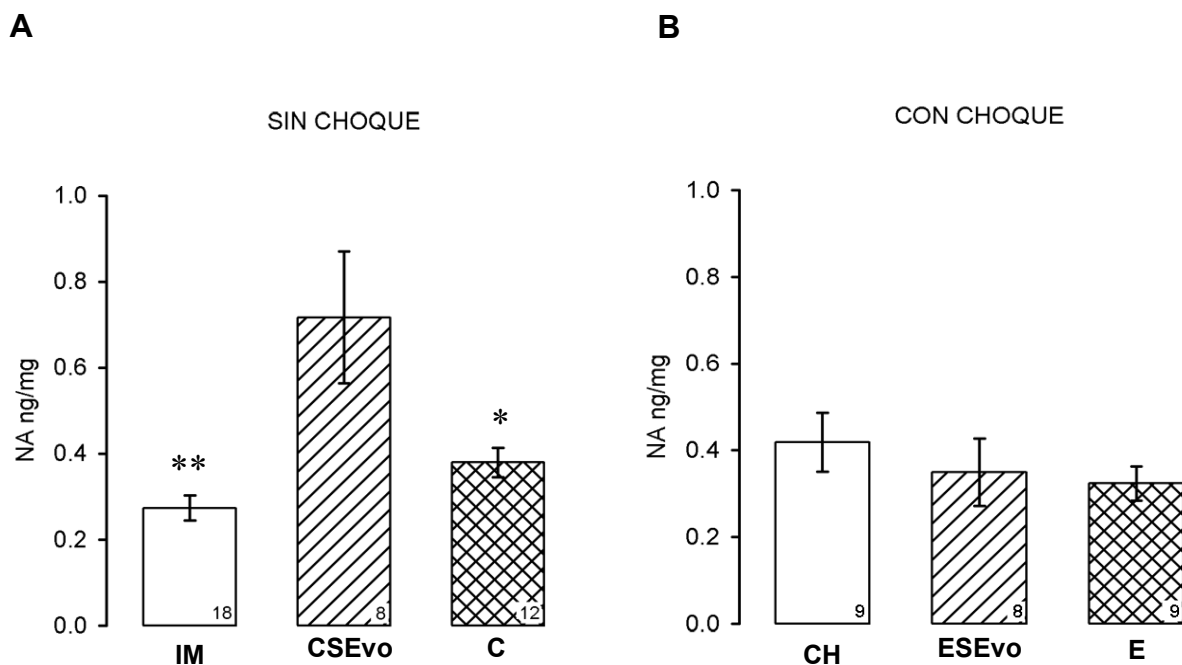
**Figura 18.** Niveles de noradrenalina en el hipocampo.

**A.** Grupos sin choque: control (IM), cámara sin evocación (CSEvo) y cámara con evocación (C). No se encontraron diferencias significativas en los niveles de NA.

**B.** Grupos con choque: control (CH), entrenado sin evocación (ESEvo) y entrenado con evocación (E). Se encontraron diferencias significativas entre el grupo ESEvo y el grupo CH (\*,  $p < 0.05$ ).

### Corteza Insular.

Como se muestra en la Figura 19A, al comparar los grupos IM, C y CSEvo, se encontraron diferencias en los niveles de NA en la corteza insular, observando valores significativamente mayores en el grupo CSEvo comparado con los grupos IM ( $p < 0.001$ ) y con el C ( $p < 0.01$ ). Asimismo, hubo un aumento significativo en los niveles de NA del grupo C comparado con el IM ( $p < 0.05$ ) como se muestra en la Figura 19A. Por otra parte, la Figura 19B muestra que no se encontraron diferencias significativas en los niveles de NA en la serie que no recibió choque: CH, E y ESEvo.



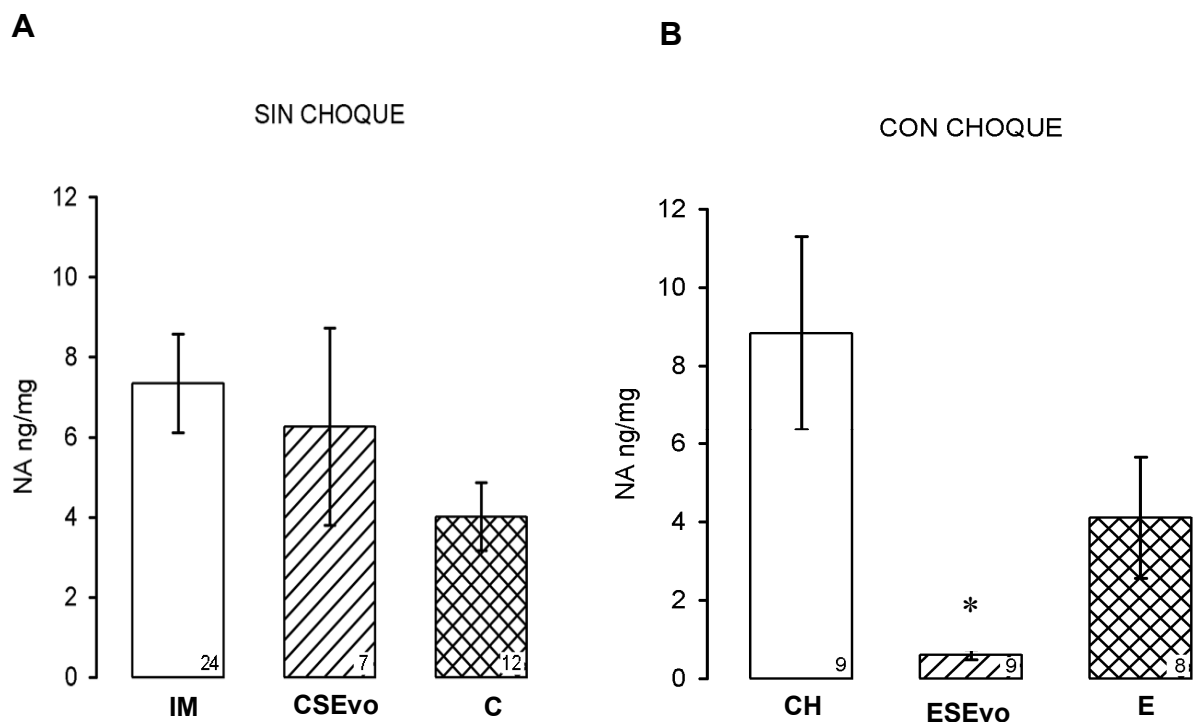
**Figura 19.** Niveles de noradrenalina en la corteza insular.

**A.** Grupos sin choque: control (IM), cámara sin evocación (CSEvo) y cámara con evocación (C). Se observaron valores significativamente mayores en el grupo CSEvo comparado con los grupos IM y C así como un aumento significativo del grupo C comparado con el IM. (\*,  $p < 0.01$ ; \*\*,  $p < 0.001$ ).

**B.** Grupos con choque: control (CH), entrenado sin evocación (ESEvo) y entrenado con evocación (E). No se encontraron diferencias significativas.

## Amígdala

Como se muestra en la Figura 20A, al comparar los grupos de IM, C y CSEvo, no se encontraron diferencias significativas en los niveles de NA en la amígdala. Al comparar los grupos CH, E y ESEvo (Figura 20B), se encontraron diferencias significativas entre los niveles de NA, observándose una marcada disminución de NA del grupo ESEvo en comparación con el grupo CH ( $p < 0.01$ ). Asimismo, se observó una tendencia de disminución de NA en el grupo E con respecto al CH.



**Figura 20.** Niveles de noradrenalina en la amígdala.

**A.** Grupos sin choque: control (IM), cámara sin evocación (CSEvo) y cámara con evocación (C). No se encontraron diferencias significativas.

**B.** Grupos con choque: control (CH), entrenado sin evocación (ESEvo) y entrenado con evocación (E). Se encontraron diferencias significativas observándose una disminución de NA del grupo ESEvo en comparación con el grupo CH. (\*,  $p < 0.01$ ).

## 8. DISCUSIÓN

El presente trabajo pretendió estudiar la función del sistema noradrenérgico durante la evocación de la memoria de EI, a través de la cuantificación de noradrenalina en el tejido de la corteza insular, el estriado, el hipocampo y la amígdala de ratas entrenadas en la tarea de EI. En primer lugar, los resultados obtenidos a través de la tarea de EI, replicaron los resultados de muchos laboratorios donde las ratas entrenadas aprenden a evitar el compartimiento de choque, debido a que sus latencias de retención son mayores de 400 seg a diferencia de aquellas sometidas a la cámara de EI sin choque eléctrico. Las ratas entrenadas (grupo E), aprenden la tarea de EI asociando la cámara con el estímulo aversivo del choque, no así las ratas del grupo sin choque que aprenden un contexto "incidental" no asociativo (Figura 16). Es por esto que las latencias de retención de este grupo (C de cámara), son significativamente menores el día de la prueba de retención de la tarea.

Con lo anterior se muestra que los parámetros utilizados durante la EI son los adecuados para lograr un robusto aprendizaje. Usando estos parámetros se procedió a evaluar los niveles de noradrenalina, mediante la técnica de HPLC, en tejidos homogenados de la corteza insular, el estriado, el hipocampo y la amígdala de cerebros de ratas obtenidos inmediatamente después de la evocación de una tarea de EI, o al día siguiente de la adquisición sin evocación de la tarea. Los resultados del análisis de los niveles de la NA en estas áreas, revelaron que la amígdala es la región que contiene mayor cantidad de NA (~4 ng/mg de tejido húmedo), luego el hipocampo (~1 ng/mg) y por último la corteza insular y el estriado (~0.5 ng/mg).

En el estriado (Figura 17), los niveles de NA no varían a causa del aprendizaje. La evidencia sugiere que durante el aprendizaje, los ganglios basales y los sistemas de memoria del lóbulo temporal se activan simultáneamente, lo cual causa interferencia competitiva entre ambos sistemas, según Packard y Knowlton (2002). Sin embargo, el análisis de los niveles de NA muestra que el aprendizaje asociado a un estímulo aversivo (Figura 17B) aumenta significativamente los niveles de NA, los cuales disminuyen ante la evocación de esta memoria., explicando también la tendencia de los niveles de NA a disminuir cuando se compara el grupo

sometido al aprendizaje asociativo con aquel grupo que únicamente recibió el estímulo aversivo, sin asociarlo a una tarea.

Por otra parte, en el hipocampo (Figura 18), al parecer, el proceso de adquisición y/o consolidación de la EI induce un incremento en los niveles del NA, como se observó en los cerebros de los animales que adquirieron pero no evocaron la memoria de contexto aversiva. De manera interesante, los datos demuestran que el proceso de evocación de la EI, induce la disminución en el hipocampo de la concentración de NA elevada durante la adquisición y/o consolidación de la tarea de la EI.

Los niveles de NA no presentaron cambios significativos durante la memoria de contexto incidental, no aversivo (ver serie "sin choque" en resultados y figuras) en todas las estructuras excepto en la corteza insular; donde los niveles de NA aumentaron durante la adquisición y/o consolidación de la memoria del contexto incidental (Figura 19A). Estos niveles de NA incrementados en la corteza insular debido a la formación de la memoria incidental ya no se observan después de que los sujetos evocan esta memoria, indicando que el proceso de evocación de la memoria incidental del contexto induce la disminución de la concentración de los niveles de NA en esta corteza que se encontraban aumentados debido a la adquisición/consolidación de la memoria al contexto.

Sólo en la corteza insular, los niveles de NA fueron similares en todos los grupos independientemente de si aprendieron o evocaron la experiencia aversiva del contexto (Figura 19B), en el resto de las estructuras (estriados, hipocampo y amígdala) los niveles de NA presentaron cambios significativos durante la formación de la memoria de contexto aversivo (ver serie "choque" en resultados y figuras).

Los niveles de NA en la amígdala (Figura 20) de los sujetos que aprendieron y/o evocaron la memoria aversiva, presentaron un comportamiento diferente, ya que los niveles de NA disminuyeron en los sujetos que asocian el estímulo aversivo con el contexto, sin embargo al evocar esta tarea los niveles tienden a aumentar. Estos resultados indican que durante la adquisición y/o consolidación, los reservorios de NA en la amígdala son utilizados, por lo tanto, se observa una disminución de estos niveles en el tejido después del aprendizaje; y que durante la evocación de la memoria aversiva se induce o al menos no se utiliza la NA reestablecida en los



reservorios sinápticos. Estos datos concuerdan con evidencias previas donde la actividad noradrenérgica y/o liberación de NA en la amígdala se correlaciona directamente con la capacidad de aprendizaje de la EI. , (McIntyre, 2002).

## 9. CONCLUSIONES.

- Los niveles de NA aumentan debido al entrenamiento de la tarea de EI en el estriado y en el hipocampo. Estos niveles disminuyen a causa de la evocación de la tarea de EI; es decir, los niveles de NA en el hipocampo y en el estriado, después de la evocación de un aprendizaje asociativo, son menores que los observados en los animales que no experimentan la evocación.
- Durante el proceso de formación de la memoria incidental, los niveles de noradrenalina tienden a incrementarse en el estriado y el hipocampo, disminuyendo nuevamente durante la evocación de esta memoria.
- Durante el aprendizaje del contexto los niveles de NA aumentan en la corteza insular independientemente de estar o no asociado aversivamente (EI), permaneciendo elevados o sin cambio después de la evocación de la memoria del contexto.
- La NA en la amígdala disminuye debido a la adquisición y/o consolidación de la EI. Los niveles de NA en la amígdala se incrementan o igualan durante la evocación de la tarea de EI.

## 10. REFERENCIAS.

1. Afifi AK y Bergman RA, 2006. Neuroanatomía funcional. México: Mc Graw Hill.
1. Bernard C, 1858. *Leçons sur la physiologie et la pathologie du système nerveux*. París: Collège de France.
2. Canadian Council on Animal Care. Guide to the Care and Use of Experimental Animals Vol. 1. 2d ed. Ontario, Canada: CCAC, 1993. WWW:<http://www.ccac.ca/>
3. Clayton EC y Williams CL. 2000. Adrenergic activation of the nucleus tractus solitarius potentiates amygdala norepinephrine release and enhances retention performance in emotionally arousing and spatial memory tasks. *Behav. Brain Res.* 112, 151-158.
4. Dudai Y, 1989. *The Neurobiology of Memory*. Reino Unido: Oxford University Press.
5. Ferreira G, Miranda MI, De la Cruz V, Rodríguez-Ortiz CJ y Bermúdez-Rattoni F. 2005. Basolateral amygdala glutamatergic activation enhances taste aversion through NMDA receptor activation in the insular cortex. *Eur J Neurosci.* 22, 2596-2604.
6. Ferry B, Roozendaal B y McGaugh JL. 1999. Basolateral amygdala noradrenergic influences on memory storage are mediated by an interaction between  $\beta$  and  $\alpha$ -1 adrenoceptors. *J. Neurosci.* 19, 5119-5123.
7. Ferry B, Roozendaal B y McGaugh JL. 1999. Role of norepinephrine in mediating stress hormone regulation of long-term memory storage: a critical involvement of the amygdale. *Biol. Psychiatry* 46, 1140-1152.
8. Fillenz M, 1990. *Noradrenergic neurons*. USA: Cambridge University Press.
9. Hebb DO, 1949. *The organization of behaviour: A neuropsychological theory*. New York: publisher John Wiley.
10. Hilgard ER y Bower GH, 1975. *Theories of learning century psychology*. Nueva Jersey: Prentice-Hall, Englewood Cliffs.
11. James W. *Principles of psychology*. New York: Holt, 1890.
12. Kolb B, 1995. *Brain Plasticity and Behavior*. USA: Lawrence Erlbaum Associates.
13. Kumaran D y Maguire EA. 2006. The dynamics of hippocampal activation during encoding of overlapping sequences. *Neuron* 49, 617-629.

14. LaLumiere RT, Buen TV y McGaugh JL. 2003. Post-training intra-basolateral amygdala infusions of norepinephrine enhance consolidation of memory for contextual fear conditioning. *J. Neurosci.* 23, 6754-6758.
15. Lovejoy DA, 2005. *Neuroendocrinology, an integrated approach*. England: John Wiley and sons, Ltd.
16. McGaugh JL. 2004. The amygdala modulates the consolidation of memories of emotionally arousing experience. *Annu Rev Neurosci* 27, 1-28.
17. McGaugh JL, Bermúdez-Rattoni F y Prado-Alcalá RA, 1995. *Plasticity in the central nervous system. Learning and memory*. Mahwah/New Jersey: Lawrence Erlbaum Associates, Inc.
18. McIntyre CK, Hatfield T, McGaugh JL. 2002. Amygdala norepinephrine levels after training predict inhibitory avoidance retention performance in rats. *Eur J Neurosci* 16, 1223-1226.
19. Miranda MI y Bermúdez-Rattoni F. 2006. Cholinergic activity in the insular cortex is necessary for acquisition and consolidation of contextual memory. *Neurobiol Learn Mem* 87, 343-351.
20. Miranda MI y McGaugh JL. 2004. Enhancement of inhibitory avoidance and conditioned taste aversion memory with insular cortex infusions of 8-Br-cAMP: involvement of the basolateral amygdala. *Learn Mem* 11, 312-317.
21. Müller GE, Pilzecker A. Experimentelle beitrage zur lehre vom gedachtniss. *Psychol. Ergänzungsband* 1900; 1: 1-300.
22. Packard MG y Knowlton BJ. 2002. Learning and memory functions of the Basal Ganglia. *Annu Rev Neurosci* 25, 563-593.
23. Perry E, Ashton H y Young A, 2002. *Neurochemistry of Consciousness. Neurotransmitters in mind*. Amsterdam/Philadelphia: John Benjamins Publishing Company.
24. Prado-Alcalá RA. 1995. Serial and parallel processing during memory consolidation. En J.L. McGaugh, F. Bermúdez-Rattoni y R.A. Prado-Alcalá (Eds.), *Plasticity in the Central Nervous System. Learning and Memory*. (pp. 57-66), New Jersey: Lawrence Erlbaum Publishers.
25. Prado-Alcalá RA, Salado-Castillo R, Quiroz C, Garín-Aguilar ME, Díaz A, Rivas-Arancibia S, y Quirarte GL. 2007. Enhanced learning protects the brain against the

effects of amnesic treatments. En F. Bermudez-Rattoni (Ed.), *Neural Plasticity and Memory: From genes to brain imaging*. (pp. 175-191), London: Taylor and Francis Group.

26. Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, Katz LC, LaMantia AS, McNamara JO y Williams SM, 2001. *Neuroscience*. Sunderland: Sinauer Associates, Inc.
27. Rodrigues SM, Schafe GE y LeDoux JE. 2004. Molecular mechanisms underlying emotional learning and memory in the lateral amygdala. *Neuron* 44, 75-91.
28. Roozental B, Barsegyn A y Lee S. 2008. Adrenal stress hormones, amygdala activation, and memory for emotionally arousing experiences. *Prog Brain Res* 167, 79-97.
29. Scoville WB y Milner B. 1957. Loss of recent memory after bilaterally hippocampal lesions. *Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry* 20, 11-12.
30. Siegel GJ, Albers RW, Brady ST y Price DL, 1994. *Basic Neurochemistry Molecular, Cellular and Medical Aspects*. Chicago, USA: Elsevier.
31. Squire LR y Morgan SZ, 1983. *The Neurology of Memory: The case of correspondence between the findings for human and nonhuman primate*. Nueva York: Academic Press.
32. Sweatt JD. 2002. *Mechanisms of Memory*. London: Elsevier.
33. Tulving E, 1985. How many memory systems are there? *American Psychology* 40, 385-398.
34. Williams CL, Men D y Clayton EC. 2000. The effects of noradrenergic activation of the nucleus tractus solitarius on memory and in potentiating norepinephrine release in the amygdala. *Neurosci* 11, 1131-1144.

## LISTA DE ABREVIATURAS.

- A adrenalina
- ABL amígdala basolateral
- AMPc monofosfato de adenosina cíclica
- C cámara
- CAS condicionamiento de aversión al sabor
- CH choque
- CI corteza insular
- CSEvo cámara sin evocación
- DHBA dihidroxibenzilamina
- E entrenado
- EI evitación inhibitoria
- ESEvo entrenado sin evocación
- GTP guanosin trifosfato
- HPLC cromatografía líquida de alta resolución
- IM intacto-manipulado
- LA amígdala lateral
- MAO monoamino oxidasa
- NA noradrenalina
- NTS núcleo del tracto solitario