



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

---

---

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



**FACULTAD DE PSICOLOGÍA**

CARACTERIZACIÓN DE LA CONDUCTA Y LA ACTIVIDAD  
NEURONAL EN TAREAS DE NAVEGACIÓN POR RUTAS Y  
AQUELLAS GUIADAS POR MAPAS ESPACIALES

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
LICENCIADA EN PSICOLOGÍA

PRESENTA

**VERÓNICA ALEJANDRA CÁCERES CHÁVEZ**

DIRECTOR DE TESIS

DR. VÍCTOR RAMÍREZ AMAYA

INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

UNAM- JURIQUILLA

MÉXICO, 2010

JURADO:

DR. GUSTAVO BACHA MÉNDEZ

DRA. GINA LORENA QUIRARTE

DR. VÍCTOR RAMÍREZ AMAYA

DRA. MARTHA L. ESCOBAR RODRÍGUEZ

DRA. ALEJANDRA E. RUIZ CONTRERAS



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

Agradecimientos A:

.

Mi mamá, por todo el apoyo que me ha brindado para seguir el camino profesional que he elegido y que ha resultado en mi constante superación.

Mi Tutor, Dr. Víctor Ramírez, por la formación y apoyo brindado que ha resultado en constante superación, dedicación y un gran gusto y vocación por mi trabajo.

Mi comité sinodal, por sus aportaciones, su atenta labor y además, por la valiosa motivación que me transmitieron.

Mis compañeros del laboratorio A-13, a los cuales recuerdo con un gran cariño y les agradezco toda la ayuda que me han brindado.

El Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología.

Becario No: 11566

La UNAM, donde nací y he crecido.

Aquellos que han estado constantes y cercanos en mi vida, y que con su presencia o ausencia me han llevado a ser lo que soy, gracias por las enseñanzas, el cariño, la fortaleza, la compañía, el apoyo, el constante recuerdo...

“Grundfest escuchó pacientemente mientras yo le dije de mis ideas más grandiosas. Otro biólogo bien podría haberme despedido, sin saber qué hacer con este ingenuo y equivocado estudiante de medicina. Pero no Grundfest. Me explicó que mi esperanza de entender las bases biológicas de la teoría estructural de la mente de Freud fue mucho más allá del alcance de la ciencia contemporánea del cerebro. Más bien, él me dijo que para entender la mente teníamos que mirar al cerebro una célula a la vez. ¡Una célula a la vez! Yo inicialmente encontré esas palabras desmoralizantes ...”

Erick R. Kandel “In the search of memory. The emergence of a new science of mind” pp 34

## Índice

Resumen.....	4
Introducción .....	5
1. Nociones teóricas del aprendizaje y la memoria .....	6
2. Mecanismos básicos de las redes neuronales .....	10
3. Navegación; aprendizaje de ruta y de lugar.....	15
4. El hipocampo.....	20
5. El estriado.....	25
6. Interacción de los sistemas hipocampales y estriatales .....	31
7. Estudios moleculares de la interacción hipocampo-estriado. ....	37
8. Poblaciones neuronales mediante la detección de la expresión de Arc ( <i>Activity Regulated Cytoskeleton</i> ).....	41
Preguntas de investigación .....	45
Objetivo general.....	45
Objetivos particulares .....	45
Hipótesis.....	46
Materiales, sujetos y procedimientos.....	46
Resultados .....	58
Del entrenamiento conductual. ....	58
Prueba nueva ruta.....	61
Prueba conductual varias salidas .....	69
Día del sacrificio .....	75
Resultados histológicos.....	78
Discusión. ....	82
Conclusiones .....	92
Referencias.....	94
Anexos .....	107
Anexo1: Hipótesis estadísticas.....	107
Anexo 2: Distancias en prueba nueva ruta. ....	109
Anexo 3: Distancias en prueba conductual varias salidas.....	109
Índice de tablas y figuras.....	110

# **Caracterización de la conducta y la actividad neuronal en tareas de navegación por rutas y aquellas guiadas por mapas espaciales.**

## ***Resumen***

Las conductas de navegación en mamíferos son de suma importancia para su adaptación al hábitat, ya que les permiten escapar de situaciones peligrosas, encontrar las fuentes de alimentación y otras localidades importantes para su sobrevivencia. Dichas conductas pueden utilizar al menos dos diferentes tipos de estrategias cognitivas, una basada en el aprendizaje de un patrón de conductas locomotoras, conocido como aprendizaje de respuesta o navegación por rutas que involucra claves egocéntricas; y el otro, basado en el establecimiento de una representación del contexto espacial, la cual puede ser utilizada para ubicar las metas, a esta estrategia se le conoce como aprendizaje espacial que involucra claves allocéntricas. En el presente trabajo, nuestro interés fue caracterizar las estrategias conductuales que utilizan las ratas para resolver tareas de navegación en el mismo ambiente, variando la cantidad de claves allocéntricas y egocéntricas y el procedimiento de entrenamiento, para promover el establecimiento de alguno de los dos diferentes tipos de estrategias cognitivas antes mencionadas. Además, nuestro interés fue caracterizar los patrones anatómicos de actividad neuronal en el hipocampo y en el estriado, relacionados con los diferentes tipos de tareas de navegación, mediante el uso del análisis de la actividad celular con base en la identificación de la expresión de la proteína del gen Arc; esta proteína se relaciona con la actividad eléctrica neuronal relacionada a actividad conductual. Nuestros resultados demuestran que: a) los entrenamientos con una mayor cantidad de pistas allocéntricas y procedimientos espaciales inducen el uso de una estrategia espacial y, por el contrario, que los entrenamientos con una mayor cantidad de pistas egocéntricas y procedimientos de ruta inducen el uso de una estrategia de ruta; b) que un entrenamiento con condiciones combinadas entre los dos anteriores resulta en una estrategia difusa o alternante entre la espacial y la de ruta; y c) los animales que han sido entrenados con una cantidad suficiente de claves de lugar son capaces de tomar atajos al reconocer claves de lugar familiares, sin necesidad de utilizar una estrategia espacial. Además, obtuvimos evidencia neuroanatómica que indica la participación funcionalmente diferencial de las neuronas hipocampales y estriatales en las diferentes condiciones experimentales, mostrándose: a) una mayor actividad en el área dorsal y el área medial del estriado dorsal de animales con estrategias de ruta, sugiriendo que la actividad de estas áreas es responsable de las conductas de navegación egocéntrica; b) actividad en las diferentes subregiones hipocampales de los tres grupos, sustentando una actividad paralela de ambos sistemas, y c) una expresión de Arc intermedia tanto en hipocampo como estriado en el grupo con entrenamiento combinado, lo que señala algún tipo de interacción entre los sistemas para este grupo, la cual, sugerimos, es una interacción cooperativa.

## ***Introducción***

Entender los mecanismos que determinan el aprendizaje y la memoria resulta de primordial importancia, no sólo porque la capacidad que los seres humanos tienen para adaptarse al medio ha dependido de estos procesos, sino porque estos subyacen, en su sentido más amplio, a casi todas las manifestaciones de la conducta. Estos mecanismos son el resultado de un sustrato anatómico, el cual es susceptible de análisis, y dicho análisis nos permite modelar el funcionamiento del mismo. De acuerdo con Donald Hebb (2002), la memoria está sostenida por patrones de actividad coordinados entre grupos de neuronas específicas a los que se denomina ensambles.

En la actualidad el concepto de ensamble celular se refiere a los grupos de células nerviosas que se activan de manera correlacionada a consecuencia de un evento de estimulación sensorial o conductual. Por lo tanto, estudiar la actividad e identificar las células nerviosas que responden después del comportamiento nos permite estudiar a los circuitos neuronales involucrados en el procesamiento de la información espacial y responsables de la formación de este tipo de memoria (Ramírez-Amaya et al., 2007).

Por otro lado, a partir de los estudios etológicos se puede inferir que existen, esquemáticamente, dos tipos de circuitos neuronales, los que se encargan de los esquemas perceptivos y los que almacenan los patrones de actividad motora (Lorenz, 1976); esos últimos constituyen un sistema motor “especializado” con el cual los organismos son capaces de navegar en su entorno. Esta navegación permite al individuo un alto grado de adaptación al poder llevar a cabo conductas de supervivencia y conservación como el huir de algún depredador, encontrar el alimento, mantenerse dentro de su territorio o llegar a su madriguera, entre otras, mediante un conocimiento y manejo adecuado del espacio.

Particularmente, nuestro interés es estudiar las estrategias conductuales que utilizan las ratas para resolver problemas de navegación en diferentes condiciones de ambientes espaciales. Para ello, se caracterizarán, mediante su

observación y cuantificación, una serie de tareas conductuales dentro de un laberinto que permitan distinguir entre estrategias de navegación que se basan en la construcción de mapas espaciales y estrategias de navegación que utilizan el aprendizaje de rutas, así como la relación de estas conductas con la actividad neuronal del hipocampo y el estriado.

### ***1. Nociones teóricas del aprendizaje y la memoria***

El aprendizaje y la memoria son procesos que permiten la adquisición de información del entorno, información que le permite al organismo adaptarse de acuerdo a las experiencias que ha tenido en su desarrollo ontogenético (Lorenz, 1976). El sistema nervioso es el encargado de representar a los estímulos o situaciones que los individuos han experimentado. En general, el proceso de memoria supone que la información almacenada es comparada con la información entrante (Marr, 1971) y así, el organismo puede actuar con ayuda de la experiencia anterior para resolver la multitud de problemas con los que se enfrenta en su entorno, como la forma de reconocer lo familiar, la predicción de eventos, el retorno a lugares particulares, y la evaluación de las consecuencias de la conducta (Sherry y Schacter, 1987). Se han propuesto algunas nociones teóricas para explicar la forma en que el sistema nervioso central procesa la información mnemónica. La discusión al respecto se ha centrado en el papel que las neuronas juegan en tal procesamiento.

Desde hace algunos años se piensa que las unidades neuronales no pueden por sí solas ser la unidad de procesamiento de la información. Si así fuera, el número de neuronas que existe en un cerebro limitaría la cantidad de información que éste puede almacenar. Además, la actividad altamente variable y la extensa cantidad de contactos sinápticos que cada neurona tiene, sugiere que es muy poco probable que una neurona por sí misma pueda representar un evento de estimulación, el cual regularmente implica una configuración compleja de estímulos. La codificación de la información en unidades celulares tampoco

explicaría la redundancia funcional en el sistema nervioso central (SNC), ni la compensación de las funciones cognitivas como las que observó Lashley (1931) después de lesiones que destruyen grandes grupos de células nerviosas. Por tanto, se ha propuesto que el procesamiento de la información se lleva a cabo por redes neuronales que trabajan en serie y/o en paralelo, formando circuitos en los cuales se generan patrones de actividad por estímulos específicos (Sakurai, 1999).

Como resultado de lo que se ha propuesto a partir de las ideas de Hebb (2002), consideramos actualmente que son grupos de neuronas los elementos básicos del procesamiento de información que da lugar a los procesos cognitivos. Por tanto, entendemos que la complejidad de estimulación que reciben los organismos a cada momento sólo puede ser representada por la complejidad de las conexiones entre las células nerviosas (Sakurai, 1999).

Entre los primeros teóricos que desarrollaron esta postura se encuentra Donald Hebb, psicólogo canadiense que se basó en las descripciones anatómicas de Lorente de Nó que muestran la existencia de conexiones recurrentes y una compleja red de conexiones sinápticas (Figura 1).

La propuesta de Hebb (2002) sostiene que la memoria se produce por patrones de actividad coordinados, que se repiten en grupos específicos de neuronas a los cuales llamó ensambles. Las conexiones recurrentes, observadas por Lorente de Nó (1947, citado por Hebb 2002), posibilitarían la reverberación del patrón de encendido en un ensamble específico, manteniendo a distintos periodos el recuerdo o la representación de un evento de estimulación. La reverberación del ensamble induciría cambios en la eficiencia de la comunicación sináptica y modificaciones estructurales (como crecimiento o engrosamiento de los botones sinápticos) que serían responsables del almacenamiento de la memoria a largo plazo (Hebb 2002; Sakurai, 1999).



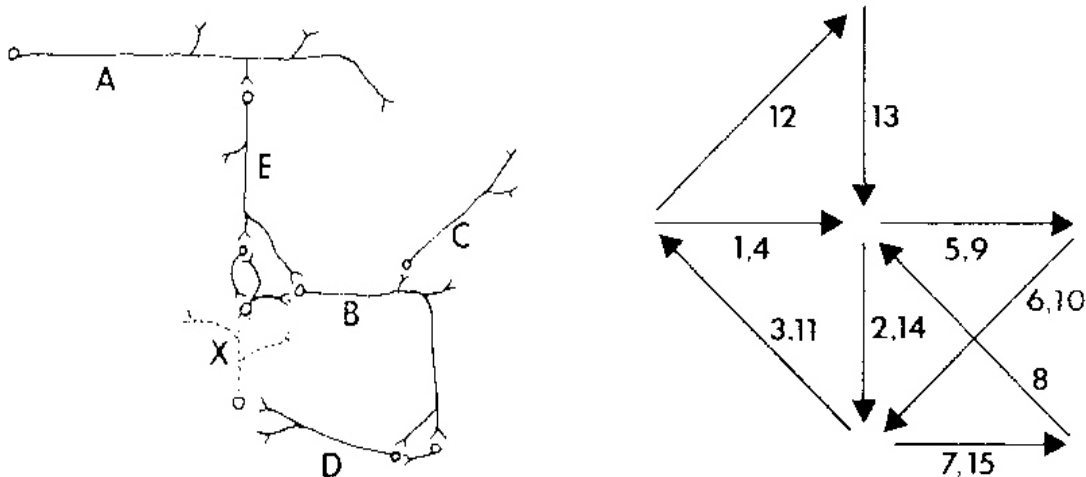


Figura 1. Conexiones Sinápticas y sus conexiones recurrentes. En la zona de la izquierda se muestra un conjunto de neuronas (señaladas por las letras), en la cual B, D y X constituyen conexiones recurrentes que conducen la estimulación hacia las mismas células de dónde provino, lo que permite que el circuito reverbere por algún periodo. A la derecha un esquema de un ensamble. Las flechas representan la dirección y los números la secuencia de los potenciales de acción entre las neuronas del circuito (representadas por los espacios a donde llegan las flechas). Ilustran la posibilidad de una alternancia de reverberación por rutas en paralelo funcional, que permiten al ensamble mantenerse activo por más tiempo (modificado del libro de Hebb, 2002).

Los ensambles pueden interactuar unos con otros para formar sistemas más complejos denominados secuencias de fase (Hebb, 2002). Las distintas secuencias de fase que se pueden dar entre un conjunto de ensambles, así como las secuencias de encendido dentro de las conexiones de un ensamble, permitirían la existencia de un código neuronal con una alta capacidad de almacenamiento de información.

La reproducción del patrón de encendido del ensamble, es posible en principio gracias a la reverberación y, posteriormente, por los cambios plásticos que ocurren entre sus conexiones. El procesamiento de la información estaría, por tanto, determinado por distintas propiedades de los ensambles neuronales, entre las cuales destacan las siguientes (Hebb, 2002; Sakurai, 1999):

- a) **El traslape**, que es la posibilidad de que una misma neurona pueda ser parte de múltiples ensambles.
- b) **La codificación escasa** sugiere que un ensamble, conforme se consolida, debe disminuir la cantidad posible de neuronas para

evitar la saturación y aumentar la capacidad mnemónica del sistema.

- c) **La construcción y reconstrucción dinámica**, que implica que las conexiones sinápticas entre los miembros del ensamble son flexibles, incluso después de que se ha consolidado.
- d) **La persistencia dinámica** se refiere a que una vez formado un ensamble, tenderá a persistir en el tiempo por medio de la reactivación de su patrón de actividad específico.
- e) **El completamiento dinámico** considera que la activación de un subconjunto suficientemente grande de las células nerviosas que componen un ensamble es capaz de activar al ensamble completo. Esto puede ocurrir también con las secuencias de fase que se componen de distintos ensambles.

Basados en estos principios conceptuales, las neurociencias consideran que el proceso cognoscitivo se lleva a cabo traduciendo la información a un lenguaje o código neuronal. El código es el resultado de patrones de actividad en poblaciones neuronales que representan eventos de estimulación (Marr, 1971; Sakurai, 1999). Puesto que las neuronas individuales forman parte de varios ensambles, sólo codifican información coordinando su actividad dentro de redes neuronales. La repetición de los patrones de actividad en ensambles específicos resulta el mecanismo básico por el cual la red almacena y recupera la información (Hebb, 2002). La modificación de los pesos sinápticos (es decir, el valor del umbral al que la neurona responde) entre las conexiones del ensamble, permiten la transmisión de la información por rutas específicas y la posibilidad plástica de reestructuración de la red.

## **2. Mecanismos básicos de las redes neuronales**

Estudiar los mecanismos fisiológicos que median la comunicación entre los elementos de la red neuronal, permite comprender cómo los ensambles se modifican por influjo de la experiencia. Ramón y Cajal (1894 citado por Bailey y Kandel, 1993) fue el primero en sugerir que la memoria era el resultado de cambios en la conectividad de las terminales nerviosas, producidos por la actividad neuronal. Sherrington (1906, citado por Bailey y Kandel, 1993) utilizó el concepto de plasticidad sináptica para definir este tipo de cambios en la configuración y función del sistema nervioso.

En la década de los 70 se describió la potenciación a largo plazo (o LTP por sus siglas en inglés), que es un aumento estable y duradero en la magnitud de la respuesta post-sináptica, después de que se han estimulado las vías aferentes mediante la administración de trenes de estimulación eléctrica, de frecuencia relativamente alta (Bliss y Lomo, 1973). Este fenómeno plástico fue descrito en la vía perforante, que conecta a las células de la corteza entorrinal con las neuronas del giro dentado, estructuras de la formación hipocampal.

El descubrimiento de la LTP demostró que durante el aprendizaje se producen cambios en las sinapsis que modifican su eficiencia como consecuencia de la estimulación. Las conexiones sinápticas pueden inducir un incremento o decremento en su eficiencia sináptica. Cuando se efectúa un incremento, como ya se dijo, se le denomina LTP (Figura 2); por el contrario, al decremento se le conoce como depresión a largo plazo (LTD por sus siglas en inglés), pues supone una disminución duradera en la magnitud de la respuesta post-sináptica excitadora (Bliss y Lomo, 1973). Tanto la LTP como la LTD dependen de la frecuencia de estimulación en la vía presináptica; una estimulación de alta frecuencia produce LTP, en cambio una de baja frecuencia produce LTD (Bortolotto y Collingridge, 1993; Malenka y Nicolli, 1999).

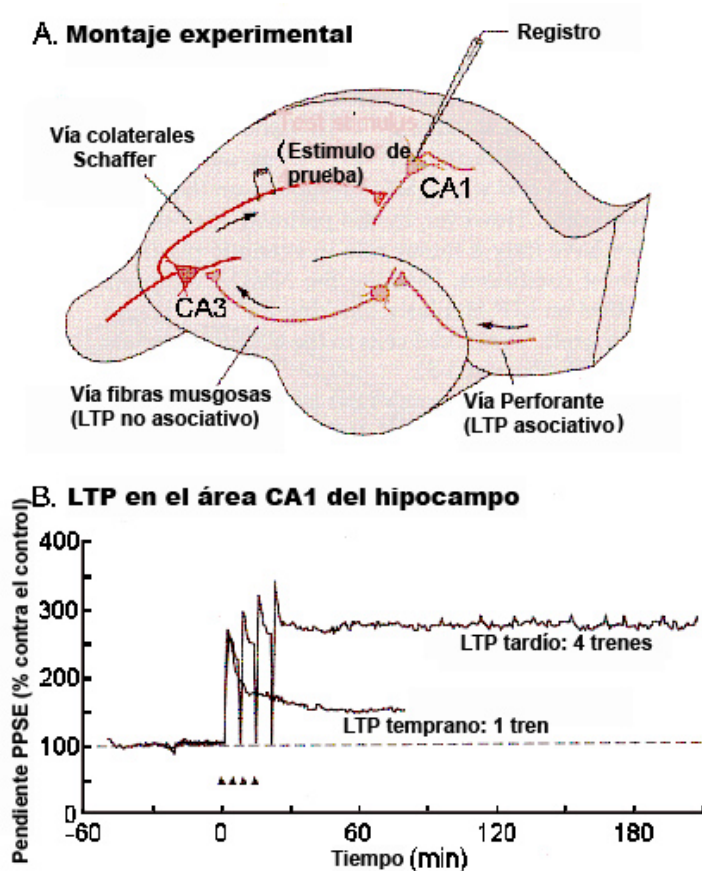


Figura 2. Potenciación a largo plazo (LTP) en la vía colateral de Schaffer a la región CA1 del hipocampo. Se muestra en A la configuración experimental para estudiar LTP en la región CA1 del hipocampo. La vía colateral del Schaffer es estimulada eléctricamente y la respuesta de la población de las neuronas piramidales es registrada. En B se muestra una comparación de la fase temprana y tardía de LTP en una célula de la región CA1 del hipocampo. La gráfica muestra la pendiente (tasa de aumento) de los potenciales postsinápticos excitatorios (PPSE) de la célula en función del tiempo. La pendiente es una medida de eficacia sináptica. Los potenciales postsinápticos excitatorios fueron registrados desde el exterior de la célula. Un estímulo prueba fue dado cada 60 seg en las colaterales del Schaffer. Para inducir LTP temprano, un tren de estimulación de 100 Hz fue dado por 1 s. Para inducir la fase tardía de LTP se dieron cuatro trenes de estimulación con una separación de 10 min. El resultante LTP temprano duró de 2-3 horas, mientras que el LTP tardío duró 24 horas o más. (Tomado de Kandel, Schwartz y Jessell, 2001)

La LTP y la LTD se producen por la activación de los receptores a glutamato de tipo  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropiónico (AMPA) que permiten la entrada de  $\text{Na}^+$  a la célula; y N-metil-D-aspartato (NMDA), que permiten la entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Na}^+$  al interior de la célula. Una entrada de una fuerte cantidad de  $\text{Ca}^{2+}$  es suficiente para inducir LTP, en cambio la entrada de poco  $\text{Ca}^{2+}$  induce LTD (Kandel, Schwartz y Jessell, 2001). Ambos fenómenos los entendemos como un ejemplo de cómo las sinapsis modifican su eficiencia y regulan la conducción de la información a través de la red neuronal.

Se considera que la modificación de la respuesta de un grupo de células nerviosas, producto de este tipo de mecanismos, permite representar diferentes eventos de estimulación variando el patrón de disparo. Un estímulo se representa por un patrón de actividad característico en un grupo particular de células, pues las sinapsis incrementan o disminuyen su respuesta en función de la estimulación; lo que ha llevado a pensar que una misma vía debe tener un continuo de generación de LTP y LTD (Bear, 1996).

En la LTP la modificación en la eficacia sináptica es dependiente de la actividad y se produce en un tiempo breve, que luego puede consolidarse y durar desde horas o días, hasta semanas o meses (Thompson y Best, 1990). De igual forma, es un fenómeno bien localizado ya que sólo las sinapsis activadas por la estimulación muestran la potenciación a largo plazo. Por estas propiedades, la LTP ha sido propuesta como un modelo celular para explicar los mecanismos que subyacen al aprendizaje y a la memoria, ya que muestra un mecanismo de cómo los ensambles pueden reproducir o modificar patrones de actividad a largo plazo. Además, es un fenómeno asociativo en el que la estimulación subumbral convergente de otras vías que proyectan a la misma célula, que se está estimulando con alta frecuencia, es necesaria para facilitar la potenciación de la respuesta postsináptica (Carlson, 2000). Esto aporta evidencia empírica del postulado hebbiano:

*“Cuando un axón de una célula A está lo suficientemente cercano a una célula B como para excitarla y participa repetida o persistentemente en su disparo, ocurre algún proceso de crecimiento o cambio metabólico en una o en ambas células de modo tal que aumenten tanto la eficiencia de A como la de una de las distintas células que disparan a B” (Hebb, 2002. p. 62).*

Los eventos moleculares que ocurren como consecuencia de la activación de receptores NMDA dan lugar a cambios plásticos tempranos y tardíos (Figura 3). Al activarse los receptores NMDA se permite la entrada de  $Ca^{2+}$ , que provoca la activación de diferentes proteínas cinasas como la Calcio calmodulina dependiente de proteína cinasa tipo II (CaMKII), la proteína cinasa C (PKC) o la Tirosina cinasa. Al activarse fosforilan diferentes proteínas de membrana, entre las que se

incluyen los mismos receptores AMPA y NMDA, que cambian sus características funcionales y la eficiencia de la respuesta post-sináptica (Kandel et al., 2001). Estos eventos dan lugar a las modificaciones plásticas tempranas, ya que ocurren casi de inmediato y tienden a ser transitorios.

Los eventos plásticos tardíos también son regulados por las señales de  $Ca^{2+}$  e implican la transcripción de genes (Fields et al., 2005) y la activación de segundos mensajeros como el adenocín monofosfato cíclico (cAMP), éste funciona como un importante segundo mensajero, cuya actividad regula a otras cinasas que regulan la transcripción de genes mediante la activación de factores de transcripción como el elemento de unión que responde al cAMP (CREB, Kandel et al., 2001). Acorde con esto, se ha observado que la depleción en la expresión del gen que codifica para la producción de CaMKII interfiere con el establecimiento de LTP en la región hipocampal de CA1 (Silva et al., 1992), lo que demuestra la importancia de la transcripción y traducción de genes para los fenómenos plásticos.

Puesto que la LTP tiende a perdurar por distintos periodos, según haya sido la estimulación que la provocó y los mecanismos moleculares que ésta desencadenó, se ha relacionado con la duración de los recuerdos (Martínez y Derrick, 1996). Así, los tratamientos que afectan el establecimiento de la LTP, también afectan la consolidación de la memoria (Riedel et al., 1995), a la vez que el mantenimiento de la LTP es necesario para el mantenimiento de los recuerdos; es decir que al modificar un evento plástico previamente establecido, también se afecta un recuerdo previamente consolidado (Pastalkova et al., 2006). La relación de la LTP y la ejecución conductual también ha sido reportada, por ejemplo, se sabe que el condicionamiento del reflejo palpebral en los conejos produce un incremento de la eficacia en la transmisión de las sinapsis entre la vía perforante y las células granulares (Weisz, Clark y Thompson, 1984). Asimismo, se ha demostrado que la administración de un antagonista de los receptores NMDA capaz de bloquear la LTP in vivo, imposibilita el aprendizaje espacial en el laberinto acuático de Morris (Morris et al., 1986). Esta evidencia apunta a la participación de los fenómenos plásticos, tipo LTP y LTD, para la formación de



### **3. Navegación: aprendizaje de ruta y de lugar**

Las conductas espaciales requieren de un proceso de aprendizaje relacionado con múltiples habilidades. Una de estas es la navegación, la cual define Gallistel (1990 citado por Etienne y Jeffery, 2004) como la capacidad de planificar y ejecutar un camino dirigido a un objetivo, el cual por lo general se relaciona con el reconocimiento de lugares que están marcados con claves. La forma más simple de la navegación, sin embargo, es la capacidad de diversos animales para volver al punto de partida de un viaje (Etienne y Jeffrey, 2004). Esta navegación permite al individuo un alto grado de adaptación, al poder llevar a cabo conductas de supervivencia y autoconservación mediante un conocimiento y manejo adecuado del espacio.

Modelos computacionales acerca de la cognición del espacio sugieren que para la representación y manejo de la información espacial son necesarios diversos sistemas. Barrera y Weitzenfeld (2008) han propuesto como elementos necesarios para lograr las conductas de navegación los siguientes componentes: (I) la interacción de diferentes estructuras cerebrales para demostrar competencias asociadas a un nivel global y a la posición relativa en el espacio; (II) la integración de la ruta (*path integration*); (III) el uso de señales visuales y cinestésicas durante la orientación; (IV) la generación de la representación espacial métrica-topológica del medio ambiente; (V) la adaptación por medio de aprendizaje Hebbiano (Hebb, 1949); (VI) la representación de los estados de motivación interna de los animales sobre la base de unidades de hambre y sed; y (VII) gestión de recompensas implementadas por el refuerzo del aprendizaje, utilizando un actor crítico de arquitectura (Barto, 1995 citado por Barrera y Weitzenfeld, 2008).

En lo que respecta a las teorías del aprendizaje, alrededor de 1940 las teorías asociacionistas representadas principalmente por Thorndike y Hull consideraron que todo tipo de aprendizaje, incluyendo el espacial, consistía en una asociación de estímulos y respuestas. Sugerían que las conductas más complejas consistían en un largo número de microasociaciones entre pequeños



estímulos y pequeñas partes de patrones complejos de respuesta. Este sistema de tipo E-R (estímulo-respuesta) siempre incluye una respuesta reforzada, la cual debe de ser asociada con el estímulo (White, 2004).

Una segunda concepción, que difiere de la de E-R, supone el establecimiento de algún tipo de mapa del ambiente en el cerebro del animal. Al respecto, Tolman (1948) sugiere la existencia de dos tipos de mapas: un mapa angosto (*strip-map*) en el que la posición del animal está conectada con una vía única y relativamente sencilla a la posición de la meta, y un mapa completo (*comprehensive-map*) en el que una porción más amplia del ambiente es representada, lo que le permite al animal comportarse de manera correcta y elegir rutas nuevas más apropiadas. De acuerdo con este tipo de teoría (E-E o teoría cognoscitiva), los estímulos se adquieren automáticamente cuando un animal es expuesto a una situación novedosa, sin ser necesaria la asociación entre estímulos y respuestas reforzadas.

McNamara, Long y Wike (1956) realizaron un estudio en el que demostraron que al entrenar a ratas en un laberinto obscuro por el que los animales fueron desplazados dentro de una canasta (exposición involuntaria) hacia la meta las respuestas correctas seguidas de reforzamiento eran necesarias para que las ratas aprendieran a encontrar la comida (aprendizaje de tipo E-R). Por el contrario, en una condición en que las ratas tenían plena visibilidad de pistas fuera del laberinto, la exposición involuntaria a través del mismo, sin realizar ninguna respuesta específica, fue suficiente para que aprendieran a encontrar la comida, en congruencia con la teoría cognoscitiva o E-E.

Actualmente, parte de la investigación al respecto se ha enfocado en determinar si los animales navegan mediante el uso de “mapas cognoscitivos”, término que fue de inicio sugerido por Tolman (1948). El mapa cognoscitivo se refiere a una representación holística del ambiente basada en relaciones entre los elementos que conforman el contexto y esto es lo que el animal utiliza para tomar decisiones cuando se mueve, así como la habilidad para tomar nuevos atajos entre dos puntos (Bennet, 1996). Este último fue estudiado por Tolman a raíz de un descubrimiento incidental de Lashley en 1929 (citado por Tolman, 1948), en el

que las ratas escapaban del laberinto para llegar de una manera más directa a la meta. Tolman (1948) diseñó experimentos que demuestran que los animales son capaces de llegar a un lugar meta siguiendo una misma ruta de manera consistente, a la vez que son capaces de llegar utilizando rutas diferentes o nuevas. Tales teorías han sido puestas en duda por Bennett (1996) al sugerir el uso de estrategias de tipo E-R por parte de los animales para encontrar atajos (Figura 4).

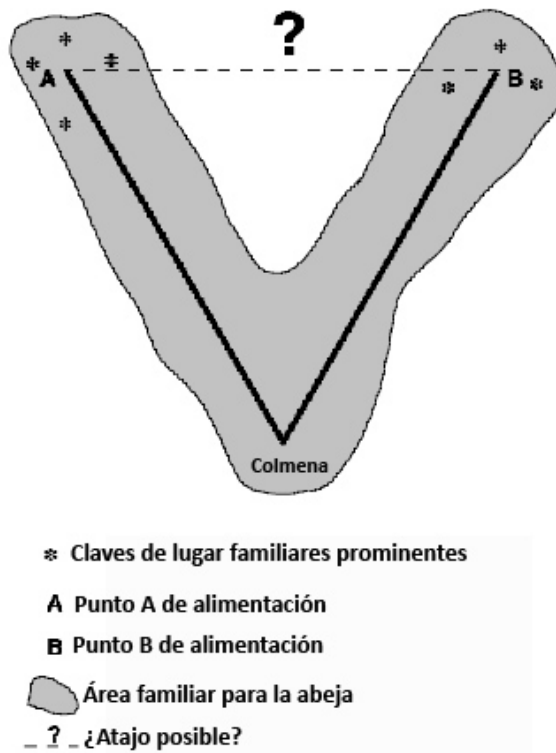


Figura 4. Un experimento hipotético de nuevas rutas o atajos. Abejas entrenadas para forrajear en los sitios A y B al reconocer pistas de lugar familiares (marcadas con un asterisco) les es posible tomar la nueva ruta entre A y B, sin la necesidad de poseer un mapa cognitivo como el que conceptualizan Tolman (1948) y O'Keefe y Nadel (1978). (Tomada de Bennet, 1996).

En *The hippocampus as a cognitive map*, O'Keefe y Nadel (1978) mencionan que Hebb (1938) también retoma la observación de Lashley, considerando que la información distal del ambiente, más que el aparato en sí mismo, es crucial para definir lugares y

permitir una orientación general. Esto supone dos diferentes estrategias cognoscitivas: una basada en el mantenimiento del patrón de actividad motora, llamada **aprendizaje de respuesta o aprendizaje de rutas**; y otro basado en la posición en que se encuentra la meta en relación con los demás elementos del espacio, también llamado **aprendizaje de lugar o aprendizaje espacial** (Packard y McGaugh, 1996; Gill et al, 2007).

Por lo general, un animal que lleva a cabo una conducta de navegación necesita adquirir y procesar diversos tipos de información sensorial que le permiten reconocer el lugar en el que se encuentra; esta información puede ser

auditiva, visual o somatosensorial. Se piensa que el animal utiliza una gran cantidad de información egocéntrica, como la cinestésica, que se refiere a la información del movimiento del animal, su posición, dirección y velocidad. Esta información de señales interna, mediante un sistema de “integrador de ruta” (*path integrator*), provee al animal de información continua acerca de donde se encuentra situado en su representación interna del espacio (Etienne y Jeffrey, 2004). Sin embargo, la integración de ruta basada en la percepción del movimiento del animal es susceptible de acumular errores, si no recibe información sensorial de pistas o señales que indiquen al animal en qué lugar de la ruta se encuentra y cuáles son los movimientos que debe de seguir para alcanzar la meta o refuerzo (McNaughton et al., 1996). Por lo tanto, entendemos que la información del movimiento está a su vez relacionada a la información alocéntrica, como lo es la información visual o auditiva, y que esta última funciona como claves de lugar (*landmarks*).

En las conductas orientadas hacia una meta se asume que las ratas son capaces de aprender tareas espaciales mediante la asociación de un refuerzo con lugares específicos del ambiente (aprendizaje espacial), así como con procedimientos (aprendizaje de procedimiento). Las ratas siguen una ruta o estrategias de aprendizaje de procedimiento cuando se encuentran dentro de ambientes que tienen pistas egocéntricas (locales) relevantes y, en contraste, pobres o inexistentes pistas alocéntricas (globales). Cuando las pistas egocéntricas son pobres o inexistentes, las ratas manifiestan una estrategia de aprendizaje espacial integrando información egocéntrica con la información alocéntrica más relevante y estable del ambiente (Collett y Graham, 2004).

No obstante, la codificación del contexto espacial para una conducta de navegación eficiente es muy compleja, puesto que un lugar en el espacio puede ubicarse y variar según las distintas posiciones desde donde se le percibe y de la variedad de modalidades de información que el animal tenga a su disposición para representar el espacio. En consecuencia, cuando un animal pretende llegar a una cierta posición en el espacio, la localización de esta posición puede estar representada por distintos modos según los distintos recorridos o rutas que el

animal puede adoptar para alcanzarla. Es decir que la representación de un contexto no varía sólo por los cambios reales acaecidos en el ambiente de exploración, sino a la vez por las distintas percepciones de las pistas según los posibles recorridos en un ambiente dado.

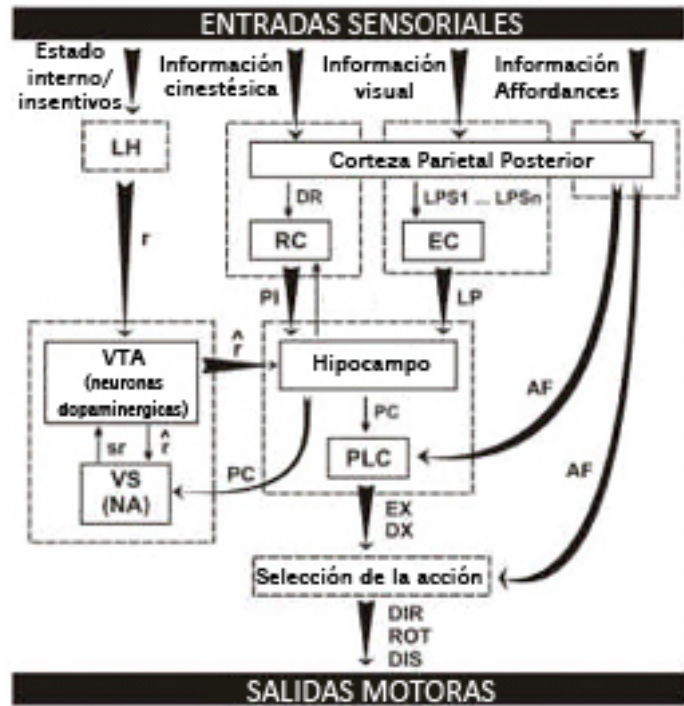
Poucet (1993) considera que el mapa cognoscitivo es generado por la adquisición de información topológica y métrica del espacio. La información topológica está relacionada con el conocimiento de las relaciones espaciales entre objetos o lugares, mientras que la información métrica se refiere a la información cuantitativa acerca de las direcciones específicas angulares y las distancias entre los lugares u objetos. Por lo tanto, sugiere que la navegación depende de la codificación de la información proveniente de los órganos que guían y llevan a cabo el movimiento, de las pistas internas al ambiente de exploración, así como de las pistas externas.

Entre todos estos elementos puede haber cooperación o interferencia, una pista interna puede resultar significativa en un momento dado, pero si las condiciones se modifican puede verse obscurecida u opacada por una pista externa. El recuerdo de los animales para establecer una navegación que los lleve a un lugar-meta aprendido previamente es, así, el producto de una codificación compleja entre los sistemas neuronales responsables de las estrategias de navegación egocéntricas y allocéntricas (Poucet, 1993).

Para que esto suceda se requiere de la interacción de diversas regiones cerebrales, entre las cuales se encuentran la corteza parietal, la corteza frontal, los ganglios basales, el hipocampo, entre otras (Barrera y Weitzenfeld, 2008). Respecto a la función que cada estructura tiene en la cascada de procesos que subyacen a la navegación espacial, McNaughton et al. (2006) sugieren que los mapas cognoscitivos son mapas básicos topológicos que son refinados cuando el animal explora el ambiente y adquiere información métrica provista por las células de la corteza entorrinal. Como la relación entre las estructuras es compleja, se han propuesto modelos de la posible interacción entre ellas (Figura 5), aunque la manera precisa de cómo se da la integración entre la información de ruta y la de lugar permanece desconocida. No obstante, los datos neurofisiológicos y

neuroanatómicos apuntan a que el estriado dorsolateral se relaciona principalmente con el aprendizaje de procedimiento (Packard y Knowlton, 2002; Poldrack y Packard, 2003), mientras que en el aprendizaje espacial se emplean predominantemente sistemas hipocampales (Hartley y Burgess, 2005).

Figura 5. Modelo de la cognición espacial, basada en estudios neurobiológicos en ratas, que muestra las interacciones entre las diferentes estructuras neuronales que participan en el proceso, desde la entrada sensorial, hasta el output conductual. Estructuras: LH-Hipocampo lateral; RC-Corteza Retrospectral; EC-Corteza entorrinal; VTA-Área ventral tegmental; VS-Estriado ventral; NA-Núcleo accumbens; PLC-Corteza pre-límbica. Entradas/Salidas: r= reforzamiento primario; sr= reforzamiento secundario;  $\hat{r}$ = reforzamiento efectivo; DR= remapeo dinámico del esquema perceptual; LPS= esquema perceptual de pistas de lugar (landmarks); AF= esquema perceptual de "affordances"; PI= patrón de información cinestésica; LP; patrón de información de pistas de lugar (landmarks); PC= Información de patrón de lugar; EX= expectativas de la recompensa máxima y de sus correspondientes direcciones (DX); DIR= siguiente dirección de la rata; ROT= rotación de la rata; DIS; siguiente movimiento de desplazamiento de la rata. (Barrera y Weitzenfeld, 2008).



#### 4. El hipocampo

El hipocampo ha sido considerado como el principal substrato neuronal para la memoria espacial (Bonini et al., 2007). Se ha observado que la lesión de esta región resulta en un decremento de la habilidad del animal para utilizar claves espaciales y asociarlas con la localización de una recompensa (Mc Donald y White, 1994; Poldrack y Packard, 2003).

En la rata, la formación hipocampal es una estructura elongada rostro-caudal en forma de "C", que se ubica desde el núcleo septal, sobre y por debajo del diencéfalo, con un eje que corre en dirección septotemporal (Paxinos y Watson, 1997). La conectividad de las estructuras que la componen forma un intracircuito (Figura 6). Se inicia con la entrada de fibras por la vía perforante

desde la corteza entorrinal hacia el giro dentado, continua con el relevo en las células piramidales de CA3 y de ahí, por las fibras recurrentes de Schaffer, hacia las células piramidales de CA1, cuya salida es de nuevo vía la corteza entorrinal (Amaral y Witter, 1995).

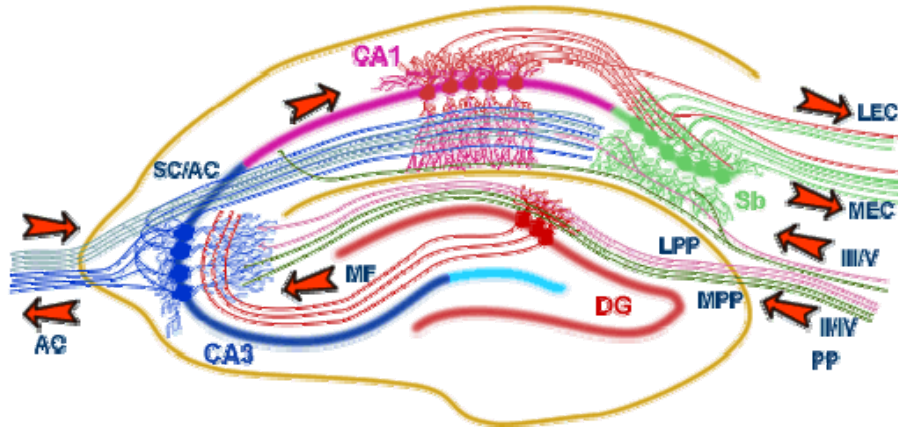


Figura 6. La red de trabajo del hipocampo: El hipocampo forma una red de trabajo principalmente unidireccional con conexiones recíprocas a la corteza entorrinal (EC) que se conecta con el giro dentado (DG) y las células piramidales de CA3 mediante la vía perforante (PP-dividida en lateral y medial). Las neuronas de CA3 también reciben aferencias del giro dentado vía las fibras musgosas (MF). Los axones de CA3 proyectan a las células piramidales de CA1 mediante la vía de las colaterales de Schaffer (SC), así como a las células de CA1 en el hipocampo contralateral mediante la vía comisural de asociación (AC). Las neuronas de CA1 también reciben aferencias directamente de la vía Perforante y envían axones al Subículo (Sb). Estas neuronas mandan de regreso la principal eferencia del hipocampo a la corteza entorrinal, formando un circuito. Modificada de Hippocampal Pathways (2003)

En detalle, el intracircuito empieza con las fibras de la vía perforante que provienen de las células estrelladas y piramidales en las capas II y IV, respectivamente, de la corteza entorrinal medial y lateral. Pasan a través del complejo subicular y de la fisura hipocámpal, entran a las capas moleculares del giro dentado (GD) y del CA3, terminando en los dos tercios externos. En las células granulares forman sinapsis excitadoras sobre las espinas dendríticas, constituyendo así el primer relevo sináptico (glutamatérgico) de la entrada de información al circuito hipocámpal. Las células granulares del GD envían sus axones, llamadas fibras musgosas (FM), hacia la región del hilus en las células en cesta y células musgosas, que envían señales inhibitorias al propio giro dentado. Después alcanzan la región CA3, para hacer la mayoría de sus contactos

sinápticos con interneuronas inhibitoras y el resto en las excrecencias torneadas de las dendritas apicales de las neuronas piramidales (Jaffe y Gutiérrez, 2007).

Las neuronas de CA3, cuyos árboles dendríticos son mayores que los de CA1 (Ishizuka, Weber y Amaral, 1990), envían sus axones por dos vías: una hacia afuera del hipocampo a través de la fimbria (fibras comisurales) y la otra que forma la colateral mielinizada (colaterales de Schaffer) hacia la región CA1. Para cerrar el circuito, las neuronas de CA1 envían proyecciones a las neuronas piramidales del complejo subicular y a la parte profunda de la corteza entorrinal. Existe una proyección principal desde el Subículo a las capas profundas (V y VI) de la corteza entorrinal, que proyectan hacia las capas superficiales (II y III) que a su vez dan lugar a las fibras de la vía perforante (Amaral y Witter, 1989).

En el hipocampo las neuronas de proyección (Golgi tipo I) son las piramidales y las células granulares localizadas en CA1, CA3 y giro dentado. También existen neuronas de proyección local (Golgi tipo II), presentes en cada área y en particular en la región del hilus donde presentan diversidad de formas, siendo especialmente abundantes las neuronas gabaérgicas (Amaral y Witter, 1989). La organización celular se da en capas laminares (*strata*) de fibras aferentes, que establecen conexiones diversas que van de la parte externa a la interna del hipocampo. Se denominan de la siguiente manera: el *stratum alveole* (ALV), *stratum oriens* (OR) o capa polimorfa, *stratum pyramidale* (P), *stratum radiatum* (RAD) o capa radial y el *stratum lacunosum moleculare* (LAC-MOL) (Amaral y Witter, 1989).

El hipocampo recibe información multimodal de la corteza cerebral a través de la corteza entorrinal. La evidencia experimental apunta a que puede asociar, retener, amplificar y consolidar dicha información (Holscher, 2003). Tiene conexiones con la amígdala, el hipotálamo, el septum y los tubérculos mamilares (Thompson y Kim, 1996).

En esta estructura se caracterizaron las denominadas células de lugar (*place cells*) (O'Keefe y Dostrovsky, 1971), las cuales son células nerviosas que presentan un incremento en su frecuencia de disparo cuando el animal se sitúa en un lugar específico del ambiente (Figura 7). La respuesta de las células de lugar

se presenta independientemente de la posición que tenga el animal al entrar o al salir del lugar en donde la célula incrementa su tasa de disparo, el cual se denomina campo receptivo espacial o campo de lugar (*place field*) (O'Keefe y Dostrovsky, 1971); La frecuencia de disparo va disminuyendo cuando el animal se aleja del centro de este lugar.

A la capacidad que tienen estas células para mantener estable la tasa de disparo relacionada con un mismo lugar en el espacio de un ambiente previamente explorado se le denomina estabilidad del campo receptivo espacial. Por el contrario, se denomina remapeo del campo de lugar a la modificación del campo receptivo espacial como respuesta a la exploración de un ambiente diferente, novedoso o que ha sido modificado significativamente (Kentros et al., 1998).

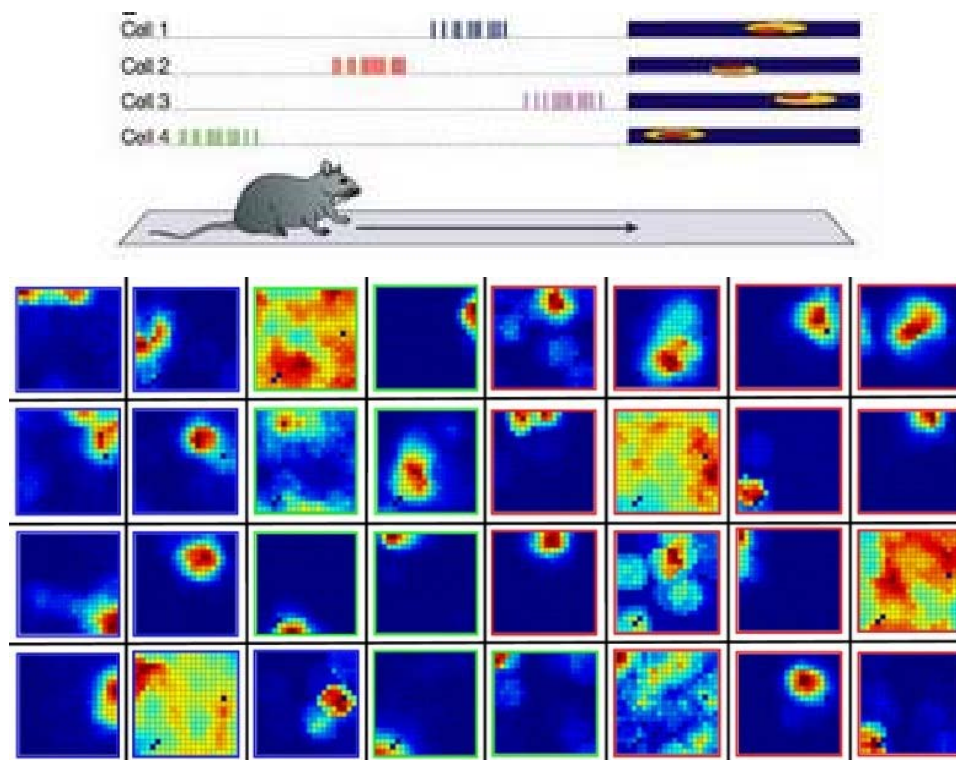


Figura 7. Campos receptivos espaciales de distintas neuronas en un ambiente de exploración. Cada cuadrícula representa el ambiente de exploración, el color que predomina en cada uno representa el registro de la activación de una célula de lugar, del color rojo, como la mayor intensidad de disparo, hasta el azul oscuro, como la menor intensidad. Se puede observar que algunas neuronas responden a todo el ambiente de exploración, mientras que otras solo a una parte de este: a una esquina, al centro, a la zona inferior, etc. (Modificado de Knierim et al., 2006).



El descubrimiento de las células de lugar dio soporte empírico a la propuesta teórica de Tolman (1948). O'Keefe y Nadel (1978) sugirieron que estas células hipocampales generan una representación espacial de nuestro entorno. Estas células se localizan principalmente en el hipocampo, pero también se han observado respuestas semejantes en diversas regiones como la corteza entorrinal (Leutgeb et al., 2005), el estriado (Eschenko et al., 2007) y el Subículo entre otras (Taube, 1999, citado por Burgess et al., 2000).

En la región de CA1 en el hipocampo, aproximadamente 40 por ciento de las células que se caracterizan como células complejas o células excitatorias responden o presentan un campo receptivo espacial. Esto significa que 40 por ciento de las células piramidales de CA1 responden a un lugar específico en el espacio durante la tarea exploratoria. Si se somete a un animal dos veces a un mismo ambiente espacial, ese 40 por ciento de células en CA1 que se activa en lugares específicos en el espacio, responderá de manera semejante en ambas ocasiones; A esto se le llama estabilidad de la red o estabilidad del mapa cognoscitivo (Jeffery y Hayman, 2004; Muller, 1996).

Si por el contrario se somete a los animales a dos ambientes distintos, se observarán grupos independientes de células que responde a cada ambiente, las células que respondieron al primer ambiente responderán de manera diferente, mostrando otro campo receptivo espacial o simplemente no respondiendo ante el segundo ambiente. Además, aparecerán muchas células que responden sólo al segundo ambiente; Lo cual se conoce como re-mapeo de la red ("re-mapping") o re-estructuración del mapa cognoscitivo (Jeffery y Hayman, 2004; Muller, 1996).

Células encontradas cerca del hipocampo, en el pre-subículo dorsal y también en el núcleo anterior del tálamo y los cuerpos mamilares (Taube, 1999, citado por Burgess et al., 2000), llamadas células de "dirección de la cabeza", que presentan un disparo específico a la posición y los giros de la cabeza del animal, así como neuronas de regiones neocorticales relacionadas y las células de lugar del hipocampo, forman parte de un sistema de navegación que integra la información espacial (*path integrator*). Por estas razones, se considera que la formación hipocampal participa en la formación de una representación interna

abstracta del contexto en el que se encuentra el individuo. Tal codificación espacial funciona como la referencia general interna que permite al animal organizar su conducta de navegación (McNaughton et al., 1996).

## **5. El estriado**

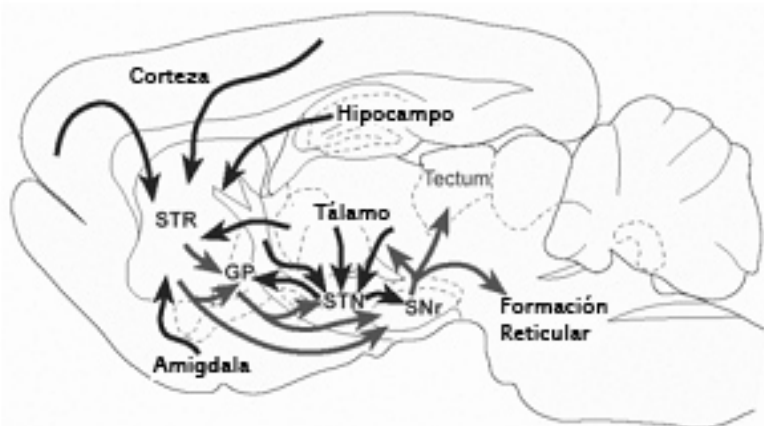
Otras estructuras relacionadas con la navegación son los ganglios basales, los cuales han sido vinculados, en general, con la motricidad. El estriado es parte de los ganglios basales y se considera el núcleo de mayor entrada de información hacia estos (Figura 8). El complejo estriatal está conformado por el núcleo caudado y el putamen, los cuales están poco diferenciados anatómicamente en la rata, a diferencia de lo que sucede en primates donde se encuentran separados por la capsula interna.

Se ha diferenciado el estriado dorsal (caudado-putamen) del estriado ventral (núcleo accumbens y porciones del tubo olfatorio) (Packard y Knowlton, 2002). El análisis de los efectos en el comportamiento de las lesiones circunscritas al cuerpo estriado sugieren la especialización regional en aprendizaje y la toma de decisiones (Wickens et al., 2007). El estriado dorsal ha sido fuertemente relacionado con las conductas de navegación (Poldrack y Packard, 2003; Mizumori et al., 2004). Así, se ha puesto de manifiesto efectos nocivos por lesiones en el caudado-putamen sobre las conductas de respuesta demorada ( la cual consiste en relacionar un estímulo reforzante con su ubicación espacial, presentándose un intervalo de tiempo entre que el presentar el estímulo y que el solicitar al sujeto que lo ubique), así como en las conductas de evitación condicionada (Packard y Knowlton 2002).

El estriado es la estructura dentro de los ganglios basales que recibe la mayor parte de las conexiones de regiones corticales, llamadas rutas cortico-estriatales, que están organizadas topográficamente (McGeorge y Faull, 1989). A su vez, regiones corticales específicas reciben proyecciones del estriado, vía tálamo. El estriado también recibe una prominente proyección del tálamo, siendo el núcleo talámico intralaminar el origen primario de la vía talámico-estriatal

(Mengual et al., 1999, citado por Packard y Knowlton, 2002). Neuroquímicamente se sabe que en general los ganglios basales se caracterizan por una entrada prominente de vías dopaminérgicas originadas en la sustancia negra y el área ventral tegmental, las cuales inervan primariamente el estriado dorsal y ventral, respectivamente. Proyecciones aferentes, cortico-estriatales y tálamo-estriatales provenientes de estructuras límbicas como la amígdala o el hipocampo utilizan neurotransmisión excitadora prominentemente glutamatérgica (Fonnum et al., 1981, citado por Packard y Knowlton, 2002). El principal tipo de neuronas del neostriado son neuronas gabaérgicas que inervan neuronas mediales de la médula espinal (representando más del 90%), los 5-10 por ciento restantes son también neuronas gabaérgicas o interneuronas colinérgicas (Redgrave, 2007).

Figura 8. Componentes principales de los ganglios basales: el estriado (STR) y al núcleo subtalámico (STN) conforman los principales elementos de entrada con conexiones directas del tálamo, la corteza cerebral y de estructuras límbicas (como el hipocampo y la amígdala). Otras estructuras mostradas: sustancia negra reticulada (SNr) y globo pálido externo (GP). Las flechas negras representan conexiones excitadoras mientras que las grises inhibitorias. (Redgravé, 2007)



Dada la conectividad estriatal y su participación dentro de los ganglios basales, resulta evidente su participación en los sistemas de navegación. Esto se ve sustentado por el hecho de que la frecuencia de disparo de muchas neuronas estriatales está significativamente modulada por movimientos egocéntricos, cuando se registran ratas que se mueven libremente durante una tarea de memoria espacial en un laberinto (Mizumori et al., 2000; Yeshenko et al., 2004). Muchas de estas neuronas estriatales son sensitivas al movimiento y parecen estar relacionadas con los componente de velocidad y aceleración (Yeshenko et al., 2004); además de que se ha observado un incremento de disparo relativo en

las neuronas estriatales asociadas a la dirección de la cabeza cuando el animal explora un ambiente (Mizumori, et al. 2000).

Con base en los hallazgos sobre las funciones de aprendizaje y memoria, se considera que los ganglios basales guían a la corteza para producir respuestas motoras aprendidas en presencia de algún patrón particular de información sensorial, por medio de las conexiones fronto-cortico-estriatales (Wise et al., 1996)

En particular el estriado ha sido relacionado con el aprendizaje asociativo, tanto en condicionamiento de tipo instrumental, donde se utiliza el refuerzo, como en otros tipos de condicionamiento asociativo (Andrzejewski et al., 2004; Schultz, 2006). Se piensa que procesa información relacionada con el refuerzo a partir de estímulos ambientales, información que luego es usada para la generación de conductas orientadas a un objetivo o meta (Schultz et al., 1998; 2000), ya que participa para establecer relaciones de predictibilidad entre estímulos condicionados y su reforzamiento (Schultz, 2006).

La información del refuerzo es procesada en los ganglios basales por neuronas dopaminérgicas que responden a los refuerzos primarios y secundarios, específicamente, la información prominente que se encuentra disponible cuando sucede un evento biológicamente no predicho, llega al estriado por diferentes vías aferentes (Figura 9), dependiendo del tipo de información, ya sea sensorial, contextual o motora; estas respuestas pueden reflejar errores en la predicción de los refuerzos y, por ello, constituyen señales que retroalimentan el aprendizaje de reforzamiento (Redgravé, 2007). Acorde con esto, se ha observado que neuronas en el estriado ventral (núcleo accumbens) son activadas cuando los animales predicen los refuerzos y adaptan la expectativa de acuerdo con las nuevas situaciones de reforzamiento (Schultz et al., 1998). Houk et al. (1995) han sugerido que el estriado implementa una arquitectura de actor-crítico<sup>1</sup>, la cual predice expectativas de los valores de refuerzo y produce señales de error para las

---

<sup>1</sup> El actor crítico es un término perteneciente a las neurociencias computacionales. Se define como un sistema que ajusta el comportamiento para maximizar la frecuencia y/o magnitud de refuerzo de los acontecimientos. Trabaja mediante un crítico de adaptación, el cual es un dispositivo que aprende a anticiparse a los acontecimientos en el refuerzo de una manera que hace que sea útil en conjunción con otro componente. (Barto, 1995)

expectativas de refuerzo asociadas con diferentes acciones, representadas en la arquitectura de aprendizaje por múltiples unidades de actor. Con base a la evidencia, parece ser que el estriado utiliza la información que provee el hipotálamo sobre los reforzadores primarios para desarrollar relaciones de predictibilidad (Barto, 1995 citado Barrera y Weitzenfeld, 2008).

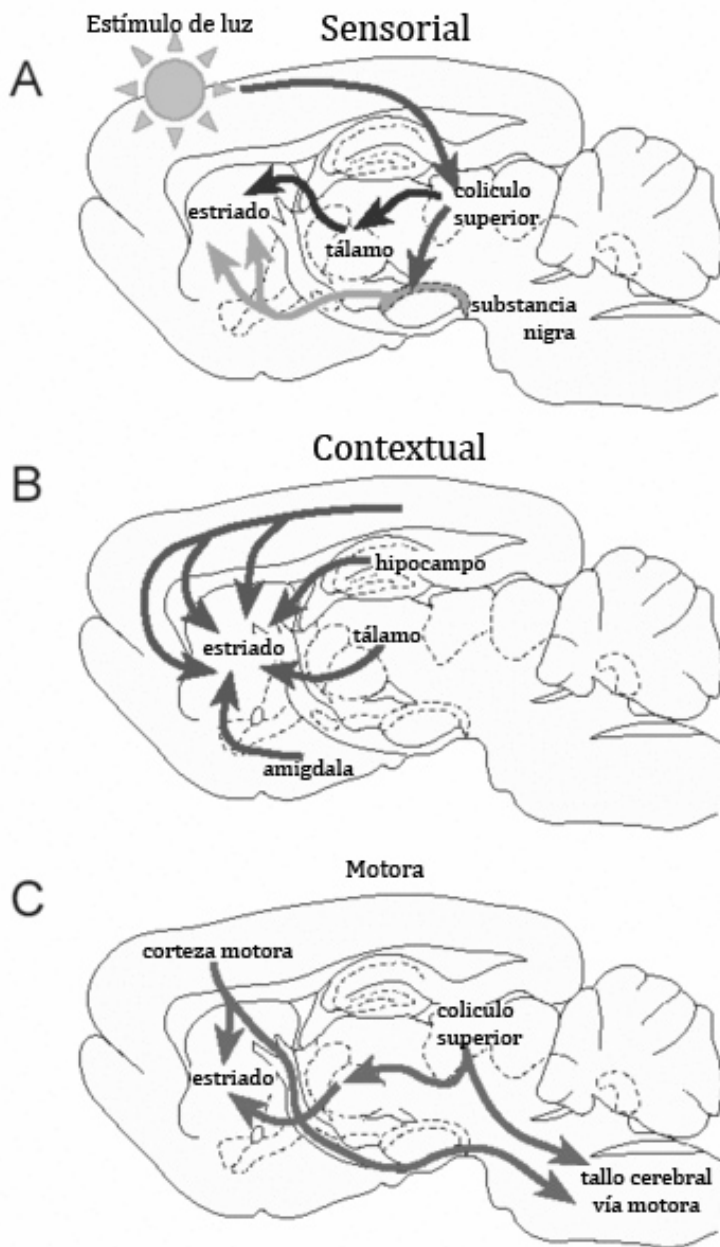


Figura 9. Aferencias potencialmente convergentes al estriado dorsal en el momento de un evento visual prominente no predicho. A. Sensorial: Dos representaciones de corta latencia del evento pueden converger en el estriado: 1) retino-tecto-tálamo-estriatal glutamatérgico (flechas negras); y 2) retino-tecto-nigro-estriatal dopaminérgico (flechas grises). B. Contextual: Aferencias contextuales multidimensionales se originan en corteza, estructuras límbicas y el tálamo. C. Motora. Vías ramificadas de corteza motora y sensorial llegan al estriado de manera directa o indirecta vía tálamo. (Reagravé, P. 2007)

Por lo tanto, parece que la función específica del estriado en el sistema de navegación consiste en contribuir a definir acciones futuras que sean apropiadas al contexto presente, sin importar si la tarea a ser aprendida sea de naturaleza estímulo-respuesta o involucre el procesamiento más flexible

de contexto. Esto lo realiza por medio de un sistema llamado de referencia de respuesta (*“response reference system”*) el cual compara el contexto, definido por

los sucesos esperados de una conducta aprendida, con los sucesos actuales que experimenta el animal (Houk et al., 1995). El aprendizaje de tipo estímulo-respuesta es entonces una función del estriado, ya que requiere del establecimiento de asociaciones altamente definidas entre un estímulo externo o un acto motor y su consecuencia inmediata (Mizumori et al., 2004). Éste tipo de aprendizaje en teoría no requiere flexibilidad de respuestas, la cual de hecho es perjudicial para un buen desempeño ya que el aprendizaje de tipo E-R es resultado de asociaciones que se establecen gracias a la constancia y persistencia de la coincidencia espacio-temporal entre estímulos y respuestas. Se presupone que la manera más directa de lograr el aprendizaje de tipo E-R es mediante el uso de las conexiones entre el estriado dorsolateral con la corteza motora y la somatosensorial, conexiones que son directas y están organizadas somatotópicamente (Crutcher y Alexander, 1990 citado en Mizumori et al., 2004). Como resultado, las respuestas aprendidas parecen relativamente inflexibles, habituales (por que las respuestas aparecen con latencias cortas) y de adquisición lenta.

Existe evidencia de que manipulaciones farmacológicas del complejo estriatal, afectan la ejecución de los animales en tareas de navegación, que presentan componentes asociativos (Sargolini et al., 2003; Yin y Knowlton, 2004). Antagonistas de receptores a NMDA administrados en el estriado dorsal impiden la consolidación de tareas de navegación con procedimientos de ruta, sin afectar las tareas de navegación espacial que se considera son procesadas por el hipocampo (DeLeonibus et al., 2005). Complementariamente, se ha demostrado que las lesiones en el hipocampo no afectan la ejecución de tareas de navegación por rutas, como la plataforma visible en el laberinto de agua de Morris (Ramos, 2000), pero sí cuando las lesiones se realizan en el estriado (Devan, et al. 1999; Packard y McGaugh, 1992). Podemos observar que en estas tareas se adquiere información del contexto que se asocia con la presencia del reforzador y el estado motivacional del organismo, a partir de lo cual se establecen relaciones de predictibilidad.

Estudios que se valen de lesiones para reducir la dopamina estriatal han sugerido la función de la vía nigro-estriatal en las funciones mnemónicas de los ganglios basales (Mayor y White, 1978 citado en Packard y Knowlton, 2003). Infusiones intracaudado de varios antagonistas de dopamina administrados posteriores al entrenamiento también afectan la tarea de tipo asociativa (“*win-stay*”) del laberinto radial, en la cual la recompensa se mantiene sin cambiar de posición en brazos que se mantienen iluminados, y no tienen efecto en su contraparte de tipo espacial (“*win-shift*”), en la cual los animales obtienen la recompensa al visitar cada uno de los brazos en sólo una ocasión (Packard y White, 1991).

En el trabajo de Yeshenko y colaboradores (2004) se describió que las dinámicas y complejas respuestas electrofisiológicas que muestran las células de lugar del hipocampo se observan, con algunas pequeñas excepciones, también en las células del estriado, a las que se refieren como células de lugar del estriado. La información acerca de movimientos específicos o secuencias de movimientos guían la expresión de campos de lugar estriatales, reconociendo de una manera más sensible que las células hipocámpales cuando un lugar de recompensa es cambiado en un ambiente familiar (Mizumori et al., 2004). Por ello, se ha considerado que el estriado lleva a cabo una codificación de elementos egocéntricos que el hipocampo no realiza.

Por lo anterior, parece claro que los procesos de memoria se procesan por múltiples sistemas, dentro de los cuales el cuerpo estriado participa mediando una forma de aprendizaje y memoria en la cual las asociaciones estímulo-respuesta son adquiridos de manera incrementada como resultado de una mayor disponibilidad de los elementos asociados. El hipocampo, por otro lado, se considera el mayor componente de otro sistema cognoscitivo mayoritariamente relacionado con el procesamiento de información espacial, mediado por el sistema de memoria del lóbulo medial temporal (Packard, 2001). En todo caso, esta evidencia hace patente que el procesamiento de la información para una conducta de navegación adaptativa requiere de una compleja interacción entre los sistemas

hipocampales y estriatales, interacción en la que muchos de sus aspectos permanecen desconocidos.

## **6. Interacción de los sistemas hipocampales y estriatales**

Desde el punto de vista de la psicobiología, se ha supuesto que el sistema hipocampal está encargado de las formas declarativas o cognoscitivas de memoria, mientras que la memoria procedimental, habitual o de respuesta depende del sistema estriatal (Packard y Knowlton, 2002). Estos sistemas operan en interacción de manera paralela (Martel et al., 2007), pero la naturaleza de la misma aún no se ha podido diferenciar. Algunos autores han encontrado evidencia de una naturaleza cooperativa (White y McDonald, 2002), otros de competencia o de interferencia (Da Cunha et al., 2003; Compton, 2004), de independencia funcional (Middei et al., 2004; Theater et al., 2005; Gill et al., 2007) o de interacción funcional (Gengler et al., 2005).

Da Cunha et al. (2003) realizaron estudios con animales intactos y con lesiones en la sustancia negra realizadas con MPTP (1-metil-4fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina), la cual causa una disminución parcial de la dopamina estriatal. Demostraron que en presencia de inactivación del hipocampo dorsal con lidocaína, las latencias durante la prueba espacial del laberinto de agua se incrementan independientemente de la integridad de la sustancia negra. En cambio, las lesiones en la sustancia negra resultan en latencias mayores al someterlas a la prueba con pista en el laberinto de agua (la cual consiste poner una pista visible a la plataforma y cambiarla de lugar entre ensayos). Demostraron también que el bloqueo de la función hipocampal disminuye la latencia en las ratas sin lesión sometidas a la prueba con pista (Figura 10).



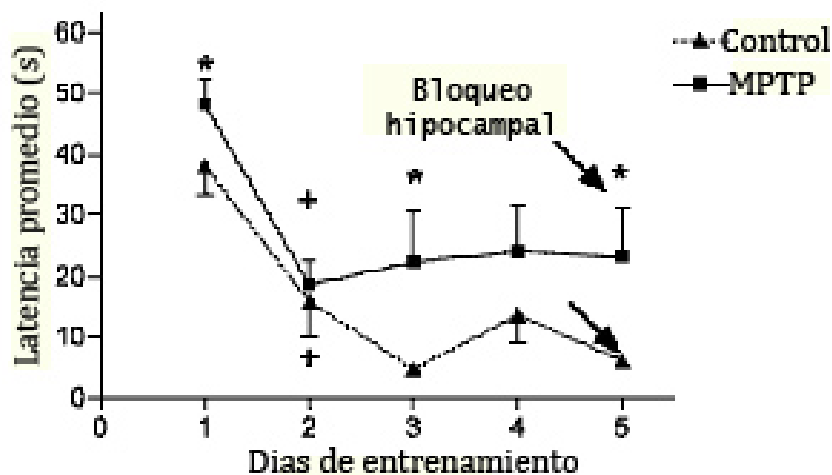


Figura 10. Resultados del estudio de Da Cunha et al., 2003. Latencia promedio de escape de ratas lesionadas con MPTP y ratas controles operadas sin lesión (SHAM), a una plataforma con pista en un laberinto de agua, durante 5 días con 4 ensayos por día. (Modificado de Da Cunha et al., 2003)

De este modo, en Da Cunha et al. (2003) se considera que la vía dopaminérgica nigro-estriatal es un componente esencial para los procesos de aprendizaje en tareas con pista, los cuales requieren de un aprendizaje asociativo. Además, apoyan la hipótesis de que el sistema de memoria hipocampal no es necesario para algunos tipos de aprendizaje estímulo-respuesta, ya que estos procesos de memoria son independientes y no se ven afectados por la integridad de la vía nigro-estriatal.

Estas investigaciones, junto con otras realizadas por el mismo grupo de investigadores, demuestran que lesiones del estriado mejoran la ejecución en las tareas de navegación espacial dependientes del hipocampo mientras que las lesiones del hipocampo, mejoran la ejecución de tareas de navegación por rutas dependientes del estriado. Esto sugiere una interacción entre el hipocampo y el estriado en condiciones naturales, en el que ambas estructuras contribuyen al procesamiento de la información asociado a las tareas de navegación, pero esta contribución puede tener un carácter de competencia entre ambas estructuras (Da Cunha et al., 2003; 2007).

Evidencia similar fue obtenida por Compton (2004), quien realizó lesiones electrolíticas bilaterales del estriado dorsal o del hipocampo dorsal, con una modalidad de aprendizaje de respuesta o de lugar para una versión "Greek Cross"

del laberinto de agua de Morris, la cual consiste en un laberinto de agua con una plataforma en forma de cruz en la cual los extremos del pasillo vertical eran posiciones de salida y los extremos del pasillo horizontal eran posiciones de escape. El entrenamiento involucró un protocolo de aprendizaje de respuesta seguido de uno de aprendizaje de lugar para la mitad de los sujetos, y un entrenamiento en orden inverso para la otra mitad. El aprendizaje de respuesta consistía en que para escapar el animal debía realizar un giro siempre en la misma dirección desde su posición de salida variable; en el aprendizaje de lugar la posición de escape se mantenía mientras que la posición de salida era variable. Se encontró que las lesiones en el hipocampo inducen una aceleración en el aprendizaje de respuesta, y observó este mismo efecto, pero atenuado, en el paradigma de aprendizaje de lugar en las ratas con lesiones estriatales (Figura 11). A partir de estos resultados Compton sugirió que ambas estructuras están involucradas en la adquisición y mantenimiento de diferentes tipos de información, que estos procesos pueden ocurrir simultáneamente y en paralelo, además de que existe una relación de interferencia entre ambos substratos.

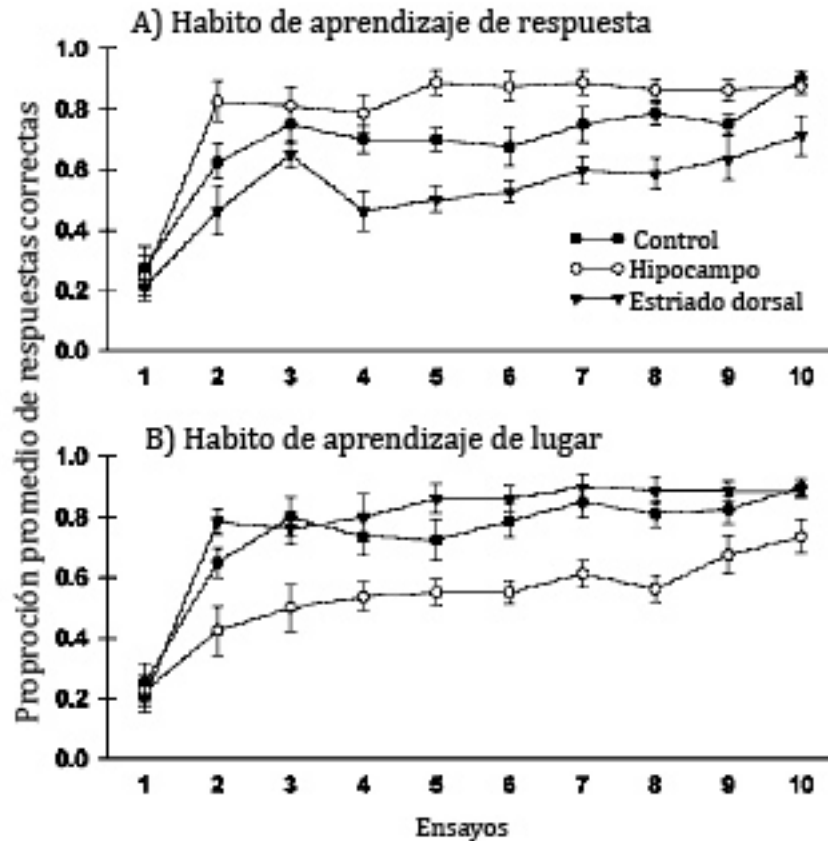


Figura 11. Resultados de Compton, 2004. Representa el promedio de respuestas correctas durante los primeros diez ensayos del aprendizaje de respuesta (A) y el aprendizaje de lugar (B) de ratas con lesiones electrolíticas en el hipocampo dorsal o en el estriado dorsal. Se observan diferencias significativas entre los grupos experimentales tanto en A como en B. (Modificado de Compton, 2004).

Por el contrario, White y McDonald (2002) han encontrado evidencia que sugiere que el hipocampo y el estriado tienen funciones distintas pero complementarias. Estos autores sugieren que tres diferentes tipos de aprendizaje pueden ocurrir de manera simultánea en el sistema nervioso de los mamíferos; cada uno en un sistema neural diferente que procesa la información de manera independiente y produce su propia emisión conductual. Un primer sistema neural incluye al hipocampo y a la fimbria-fórnix que procesa el aprendizaje estímulo-estímulo; un segundo sistema que incluye la parte lateral y dorsal del estriado procesa el aprendizaje estímulo-respuesta; y un tercer sistema que incluye a la amígdala que procesa el aprendizaje estímulo-emoción.

La información que resulta del procesamiento de estos sistemas entonces debe ser integrada para que resulte en las conductas del organismo, dicha integración supone una interacción entre estos sistemas. Se ha sugerido que la integración de esta información podría tomar lugar en la amígdala basolateral y en la corteza prefrontal (Pratt y Mizumori, 1998 citado Muzimori et al., 2004).

El entendimiento de la interacción entre los sistemas hipocampales y estriatales se torna un poco más complicado al considerar que durante la adquisición de una tarea espacial, el uso de una estrategia cognoscitiva específica (dependiente del hipocampo o del estriado) puede cambiar de un aprendizaje de lugar a uno de respuesta como resultado de repetir la experiencia por varios días (Packard et al., 1999); lo que supone un cambio de memoria declarativa a una de hábito. Esta evidencia sugiere una interacción dinámica entre ambos sistemas y una reorganización de su actividad dependiente de la práctica (Martel et al., 2007).

Al respecto de la interacción entre los sistemas en McIntyre et al. (2003) se utilizó una aproximación neuroquímica en la que cuantificaron la concentración de acetilcolina en el hipocampo y en el estriado de ratas que llevaron a cabo una tarea en un laberinto en cruz con un brazo bloqueado, después de un entrenamiento en el que la rata va del brazo de inicio a uno de los brazos. El laberinto se encontraba en un cuarto con numerosas pistas fuera del laberinto y, después de que las ratas cumplieron un criterio, se les sometió a una prueba en una situación en la que el brazo original se bloqueó y las ratas entraron al laberinto desde el lado opuesto. Las ratas que en la prueba entraron en el brazo del mismo lado relativo a las pistas del cuarto fueron asignadas al grupo de "lugar" y las que dieron la vuelta hacia el mismo lado fueron asignados al grupo de "respuesta". Se observó que la mayoría de las ratas cambiaron de estrategia de lugar a la de respuesta con el entrenamiento, este cambio se vio acompañado por un cambio en el rango de liberación de acetilcolina (ACh) del hipocampo al estriado. Muchas de las ratas que hicieron un cambio a estrategias de respuesta, ya avanzado el entrenamiento, mostraron una elevación en la liberación de ACh en el estriado que coincidió en tiempo con el cambio, mostrándose una interacción dinámica entre ambos sistemas.

En estudios con electrofisiología (Eschenko et al., 2007) se ha descubierto que el hipocampo juega un papel especial pero no único en el procesamiento espacial, al igual que el estriado en el procesamiento de las contingencias de reforzamiento, y que ambos sistemas representan los cambios en el contexto. El estudio se realizó en un laberinto de cruz con tres brazos disponibles y se entrenó a las ratas para un aprendizaje de lugar o uno de respuesta: en el aprendizaje de lugar la rata debía dirigirse a un mismo brazo, iniciando en los distintos brazos, en el de respuesta las ratas debían de realizar la misma vuelta en el centro del laberinto para llegar al brazo meta, después colocaron electrodos en el hipocampo dorsal y el estriado dorsal medial del animal y posteriormente realizaron un cambio en el cual los animales que respondían con la condición de lugar cambiaban a la condición de respuesta; inversamente, los que respondían con la condición de respuesta cambiaban a la condición de lugar; un tercer cambio se realizó en algunas de las ratas que respondían en la condición de lugar, cambiando la recompensa al brazo opuesto del laberinto.

Los hallazgos demostraron que una amplia cantidad de neuronas de ambas estructuras responden de manera similar a los cambios de estrategia. Células en el estriado al igual que el hipocampo, muestran especificidad al campo de lugar, es decir, responden como células de lugar y algunas otras muestran respuestas correlacionadas con el aumento o disminución de la velocidad y aceleración. Se observó un remapeo basado en proporción y localización, sugiriendo que hipocampo y estriado codifican diferentes condiciones de tarea como diferentes contextos. Estos resultados sugieren que el hipocampo y el estriado dorsal son sensibles por igual a un cambio de estrategia, pero que responden de manera diferencial a cada una de estas.

Por último cabe mencionar un estudio de Mizumori et al. (2004) en el que realizaron registros eléctricos del hipocampo dorsal y el estriado dorsal de ratas, y los correlacionaron con las conductas durante la resolución de tareas espaciales o de respuesta en laberinto en cruz y laberinto radial. Descubrieron que las representaciones que se forman durante las tareas espaciales son similares en ambas estructuras, pero que existen diferencias. Describieron que el estriado

contiene neuronas que codifican para determinadas conductas (por ejemplo, giros) mientras que los códigos del hipocampo con respecto al desplazamiento del animal son más amplios (es decir, detectan cambios en los estados de circulación general, como si se producen movimientos de traslación o no), además sugieren que las células del hipocampo son en general más sensibles a los cambios del contexto visual y de estrategia en comparación con el estriado.

Mizumori et al. (2004) proponen que los diferentes sistemas neurales continuamente se involucran en tipos específicos de cómputos relacionados al aprendizaje según las demandas de la tarea, y que su influencia relativa en la expresión puede depender de varios factores intrínsecos como la experiencia, el estatus hormonal o la motivación. Sugieren por ejemplo que si durante aprendizaje la información del contexto espacial no es crítica, la fuerza de las señales de salida del hipocampo pueden ser atenuadas de tal manera que los aumentos en las señales del estriado tengan mayor influencia sobre los sistemas de producción de la conducta.

## ***7. Estudios moleculares de la interacción hipocampo-estriado.***

Otro tipo de estudios, que se valen de técnicas de biología molecular, han permitido mapear la actividad celular en distintas estructuras neuronales bajo diferentes tareas conductuales (Burke et al., 2005; De Leonibus et al., 2005; Guzowski et al., 1999; Ramírez-Amaya et al., 2005). Estudios con estos métodos, que buscan alterar o mostrar la cascada de eventos moleculares relacionados con los procesos de la memoria muestran evidencia de cómo, por ejemplo, la aplicación de antagonistas de receptores a NMDA en el estriado dorsal impiden la consolidación de la información en procedimientos egocéntricos, sin afectar los aloecéntricos (De Leonibus et al., 2005).

En un estudio realizado por Martel et al. (2007) se cuantificó la respuesta cinética de la fosforilación de cAMP (CREB) en el hipocampo y el estriado. Con este fin, ratones fueron entrenados para buscar una plataforma sumergida, que se

mantenía en la misma posición y estaba señalada por una pista visible. Posteriormente, los ratones eran puestos a prueba de retención entre 1 y 24 hrs, y sacrificados en diferentes periodos para determinar el nivel de CREB en ambos sistemas de memoria. En la sesión de prueba los ratones debían elegir entre la plataforma sumergida en el mismo sitio en el que se encontró en el entrenamiento, y una plataforma marcada que se situaba en el otro cuadrante del tanque. Encontraron que la fosforilación de CREB se incrementa en ambos sistemas, pero que es mayor en el hipocampo cuando ocurren cambios dependientes del entrenamiento. Sugieren que al principio del aprendizaje ambos sistemas participan de manera paralela, pero en una fase posterior, por ejemplo cuando el entrenamiento se extiende, interacciones dinámicas promueven el uso del sistema más eficaz dependiendo de la práctica.

Gill y colaboradores (2007) observaron la activación de los genes de expresión inmediata temprana (GEI o IEG por sus siglas en inglés) *c-fos* y *zif268* en el hipocampo y en el estriado dorsal después de dos condiciones, una en que ocurría un entrenamiento en una tarea en un laberinto en cruz (grupo denominado aprendizaje de lugar), y otra en que el entrenamiento ocurría en un laberinto en forma de T (grupo denominado aprendizaje de respuesta) (Figura 12). Durante la prueba de “lugar” la rata es colocada al azar en cada uno de los brazos del laberinto y la localización de la meta es siempre la misma. Para la prueba de “respuesta” se removieron las pistas externas al laberinto y se les entrenó en dos fases. La fase uno consistió en cuatro bloques de pruebas. Dentro de cada bloque se entrenaron en un mismo lugar de comienzo, y en dos sesiones se presentó una elección forzada a la rata en donde sólo el inicio y la meta estaban disponibles. Cada bloque se realizó utilizando un brazo diferente para el comienzo y el brazo meta siempre estaba localizado a 90° del primero. Durante la fase dos, las ratas eran colocadas al azar en algún brazo de inicio y para llegar al brazo meta debían de dar la misma vuelta que realizaban en la fase uno. Las ratas controles se mantuvieron en sus cajas hogar y se les realizó el procedimiento de inmunoreactividad a c-Fos y Zif268 en hipocampo y estriado dorsal, igual que a las

ratas de ambos grupos, con la diferencia de que a las segundas se les realizó 30 o 90 min luego de que cumplieran el criterio en la tarea.

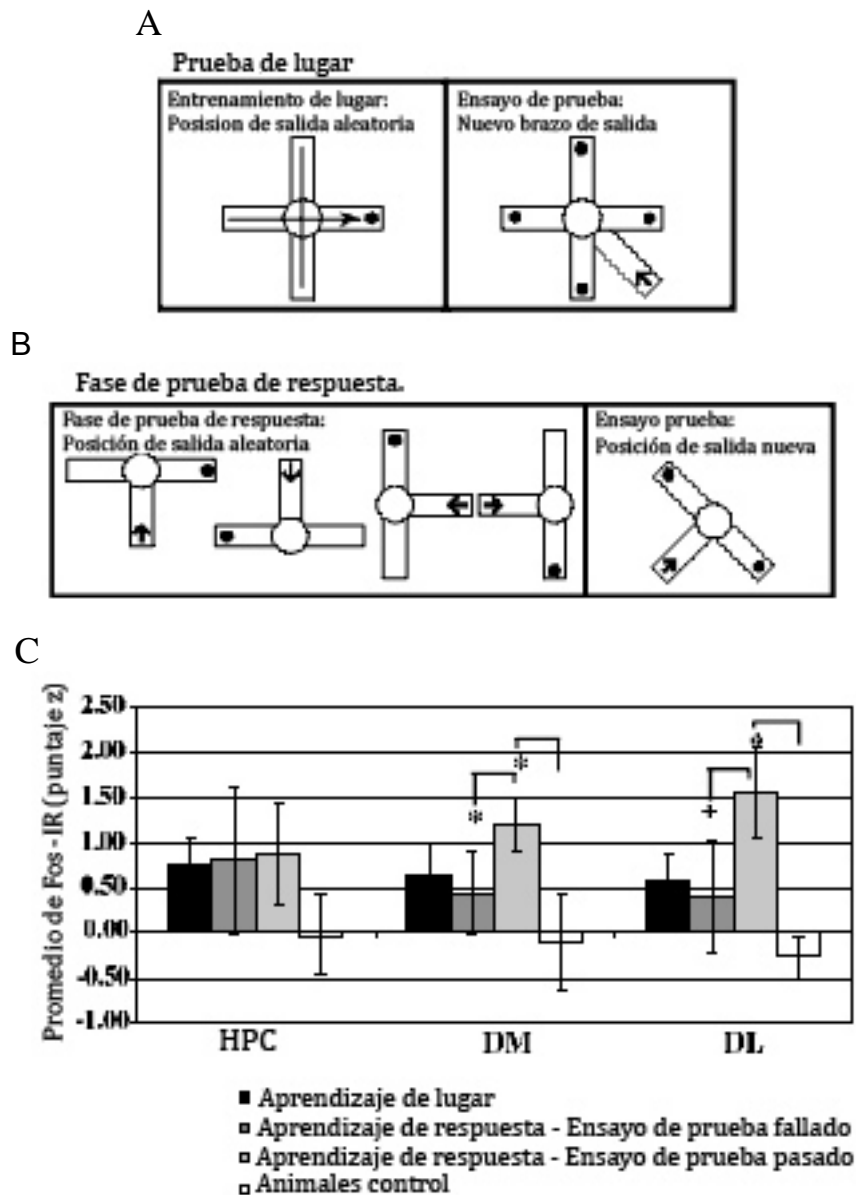


Figura 12. Paradigma y resultados de Gill et al. (2007). En A Se presentan los procedimientos de prueba en la fase de prueba de lugar; y en B, los procedimientos de prueba en la fase de prueba de respuesta, siendo dos los criterios para ambas fases: 1) con varios lugares de salida, y 2) con nuevo lugar de salida. En C se muestran los promedios de las cuentas estandarizadas para genes de expresión temprana (c-Fos) entre Hipocampo (HPC), estriado dorso medial (DM) y estriado dorso lateral (DL) 30 min post-criterio (no se muestran resultados entre 60 y 120 min, porque no fueron significativos). Animales del grupo de respuesta, que respondieron correctamente durante la prueba muestran una mayor cantidad de c-Fos en DM y DL que los que no respondieron correctamente y que los controles. Los animales del grupo de lugar y los de respuesta que no pasaron la prueba no difieren de los controles (Gill et al., 2007)



Sólo se observaron cambios en c-Fos a los 30 min después de la prueba, observándose una activación relativamente mayor en el estriado dorsal para los animales que exhibieron aprendizaje de respuesta, pero no para el de lugar (Figura 12). El hecho de que encontrarán estos cambios en el patrón de actividad a los 30 minutos y no entre los 60 y 120 min después de la prueba, como era de esperarse dados los resultados de experimentos anteriores (Guzowski et al., 2005), lo interpretan como resultado de que el tiempo que duraba su prueba era de al menos 30 min y posiblemente el inicio de la síntesis de IEG se dio desde el momento en que inició la prueba.

A pesar de que el gen *zif268* al igual que *c-fos* ha sido implicado en procesos de consolidación de la memoria (Hall, Thomas, y Everitt, 2001; citado en Gill et al., 2007), en el caso del estudio de Gill et al. (2007) no se encontraron diferencias en la activación de las estructuras entre los grupos con diferentes aprendizajes, dato que no llegan a discutir en su escrito. Finalmente sugieren que: los cambios transitorios de activación de GEI pueden actuar como un interruptor en la codificación de la memoria; que la elevación de GEI, en estriado dorsal pero no en hipocampo, puede significar una referencia estriatal más fuerte para expresar los sistemas conductuales durante el aprendizaje de repuesta en comparación con la expresión en hipocampo, y al mismo tiempo la combinación específica de neuronas hipocampales activadas puede variar dependiendo de un cambio en la tarea o el contexto.

La detección de la expresión de genes inducidos luego de la actividad fisiológica en neuronas (genes de expresión inmediata temprana), aporta una resolución anatómica muy precisa y la posibilidad de vincular la actividad de diferentes regiones cerebrales para el procesamiento de la información (Lanahan y Worley, 1998). Particularmente, la detección del gen de expresión inmediata temprana *Arc (Activity Regulated Cytoskeleton)* ha sido usada para estudiar los patrones de actividad neuronal durante tareas conductuales en regiones tales como el hipocampo, el estriado y la corteza (Guzowski et al., 1999; Ramírez-Amaya et al., 2005; Vazdarjanova et al., 2006).

## **8. Poblaciones neuronales mediante la detección de la expresión de Arc.**

La identificación del gen de expresión inmediata Arc o Arg 3.1 (Lyford et al., 1995; Link et al., 1995) permitió el desarrollo de un método de imagenología denominado catFISH, o análisis compartamental de la actividad neuronal temporal basado en hibridación *in situ* e inmunohistoquímica fluorescente (Guzowski et al., 1999) que hace posible mapear la actividad de poblaciones neuronales. Arc es un gen con características muy peculiares. De ellas, lo importante para el mapeo de la actividad es que se expresa rápidamente a consecuencia de fuerte actividad neuronal con una alta tasa de disparo (Lyford et al., 1995; Link et al., 1995). De tal forma que 5 minutos después de la actividad podemos ver acumulación del transcrito en el núcleo como dos puntos que representan los dos alelos del gen, luego tarda entre 20 y 30 min para translocarse y se puede ver en el citoplasma rodeando al núcleo de la célula (Figura 13). A consecuencia de estimulación máxima, como choques electroconvulsivos, se ha observado la expresión de Arc en prácticamente todo el cerebro, lo que en principio sugiere se puede realizar un mapeo de la actividad neuronal de todo el encéfalo. Estas características permiten identificar grupos de células activadas por un evento inmediato, cuando Arc se localiza en el núcleo (Figura 13a) y células activadas por un evento que ocurrió 30 min antes, cuando se ve Arc en el citoplasma (Figura 13b). Las células que presentan Arc tanto en el núcleo como en el citoplasma (Figura 13c) habrán sido activadas por ambos eventos. Arc también se colocaliza en el citoplasma con otro gen de expresión inmediata llamado Homer1a cuando las células se activan tanto a un evento inmediato como a un evento que ocurrió 30 min antes (Figura 13d), lo que ha generado un método de identificación alternativo de catFISH que utiliza como reportero a ambos genes.

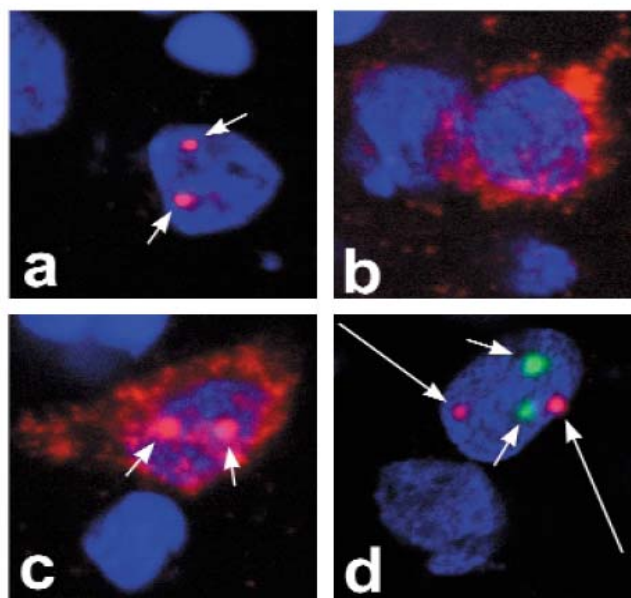


Figura 13. Hibridación in situ fluorescente para Arc (en Rojo) y Homer1a (en Verde), el núcleo de las células está teñido con DAPI (Azul). La presencia de Arc en el núcleo (a) se debe a expresión inducida aproximadamente 5 min antes de colectar el tejido, mientras que la presencia de Arc en el citoplasma (b) se debe a actividad que ocurrió 30 min antes. La co-localización de Arc en el núcleo y el citoplasma (c), u Homer 1a junto con Arc en el núcleo (d) se debe a que la célula se activó en ambas ocasiones; esto se debe a que el tiempo de transcripción de Homer 1a dura aproximadamente el mismo tiempo en que el transcrito de Arc tarda en llegar al citoplasma (modificado de Guzowski et al. 1999).

Tanto la detección del mensajero del ácido ribonucleico (mRNA, por sus siglas en inglés) de Arc como su proteína, puede ser usado para identificar neuronas que subyacen a la actividad neuronal inducida por la conducta (Ramírez-Amaya et al., 2005). La misma proporción de células que presentan actividad electrofisiológica de células de lugar en un ambiente determinado, expresa Arc en las mismas condiciones conductuales (Barnes et al., 1990; McNaughton et al., 1994). Esto es, 40% de las células en CA1, 20% en CA3 y 50% en la corteza parietal expresa Arc a consecuencia de la exploración (Vazdarjanova et al., 2002; Ramírez-Amaya et al., 2005).

Además, la proporción de células que expresan la proteína Arc, la cual se detecta 30min después de la estimulación conductual (Figura 14) resulta en la misma proporción de células activadas que se detecta al registrar la actividad electrofisiológica característica de las células de lugar durante la estimulación conductual (Ramírez-Amaya et al., 2005). Lo que vincula la expresión de Arc con la actividad neuronal responsable del procesamiento de la información espacial.

Esto permite comparar la actividad particular de distintas estructuras cerebrales activadas por un mismo evento de estimulación (Burke et al., 2005).

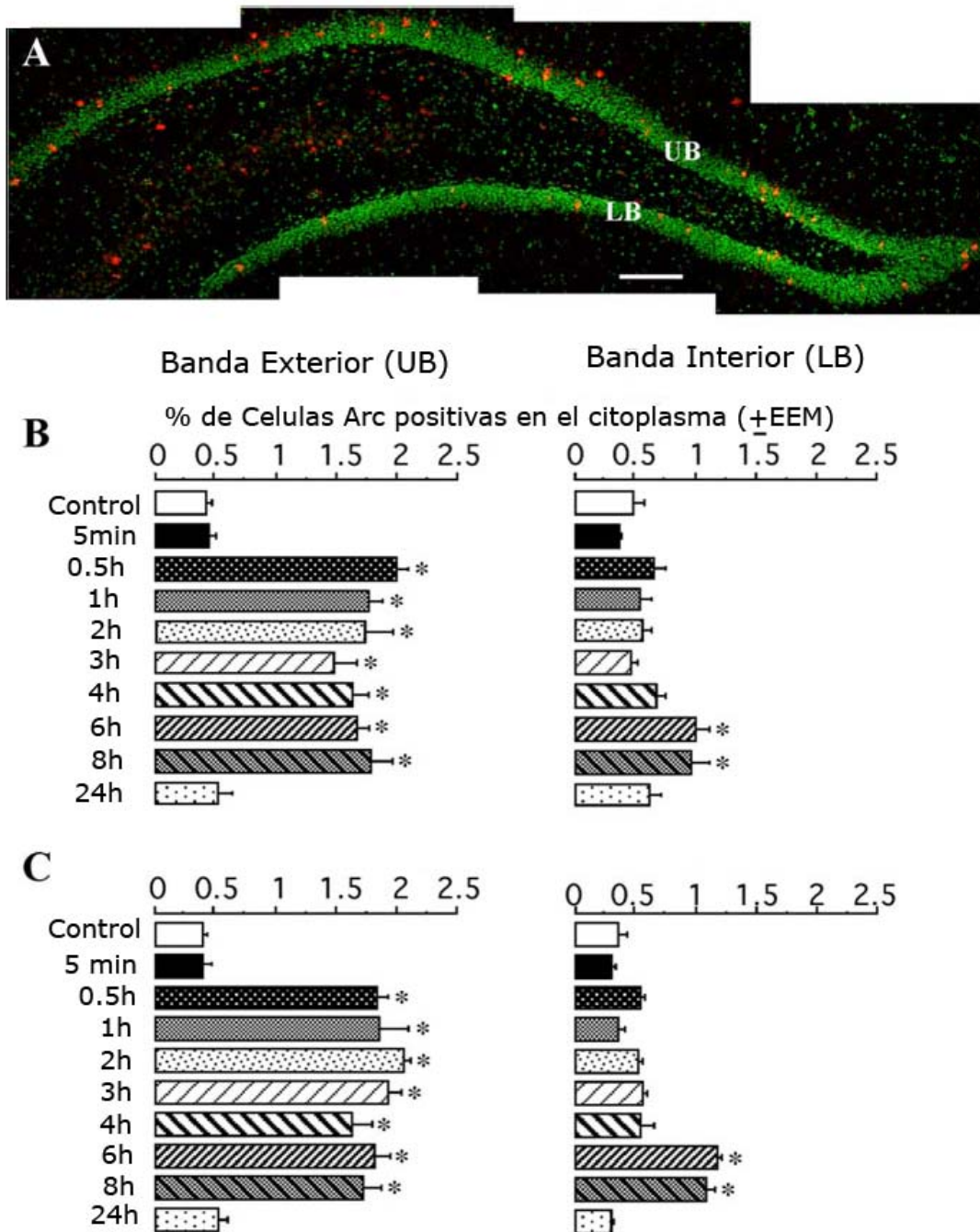


Figura 14. Proporción de expresión de Arc en el giro dentado. En A se muestra una reconstrucción completa del GD, con los núcleos marcados en verde con SYTOX, en rojo se muestran las células que expresan la proteína del gen de expresión inmediata temprana Arc. En B se muestra la proporción, del total de células granulares, que expresan la proteína de Arc en del GD después de la exploración espacial. En C se muestra la proporción, del total de células granulares, que expresan el RNAm de Arc en el citoplasma. Nótese que la expresión se mantiene por encima de los niveles basales (control) por un periodo de al menos 8 horas (Modificada de Ramírez-Amaya; 2005).

La detección de Arc nos permite identificar a los grupos de células plásticas, ya que Arc es un gen muy relevante para la plasticidad sináptica (Guzowski et al., 2000; Miyashita et al., 2008). El mRNA de Arc tiene la peculiar característica de que viaja a las regiones activas de las dendritas en donde puede ser traducido localmente (Steward y Schuman, 2003, citado Miyashita et al., 2008). La secuencia de Arc presenta una alta homología con  $\alpha$ -espectrina y co-precipita con F-actina (Lyford et al., 1995), estas son importantes proteínas del citó-esqueleto. La expresión de Arc se induce sólo en neuronas  $\alpha$ CaMKII positivas del estriado, hipocampo y la corteza (Vazdarjanova, et al., 2006, citado Miyashita et al., 2008). Esta evidencia sugiere fuertemente que la proteína Arc puede jugar un papel importante en la plasticidad estructural de las dendritas, sin embargo, esto aún no se ha demostrado. En estudios recientes, demostraron que Arc facilita la endocitosis de receptores AMPA (Chowdhury et al., 2006, citado Miyashita et al., 2008), lo cual regula homeostáticamente el número de receptores mGluR1 en la superficie de la célula y que sirve como un proceso de escalamiento sináptico (Shepherd, et al., 2006, citado Miyashita et al., 2008).

Todo esto es evidencia de la relevante función plástica de Arc para el mantenimiento de la eficiencia sináptica y la consolidación de la memoria a largo plazo, lo que se ha hecho evidente mediante el uso de oligos antisentido administrados directamente en el hipocampo, que al inhibir la traducción del mRNA de Arc a proteína impiden el mantenimiento del LTP y afectan la consolidación de memorias espaciales (Guzowski et al., 2000). Corroborado recientemente con el uso de un “*knock out*” de Arc (Plath, et al., 2005, citado Miyashita et al., 2008).

Tomando en consideración la evidencia anterior, en el presente trabajo se plantea el interés de diseñar una tarea de navegación de ruta y una de lugar en el mismo laberinto, para comparar las características conductuales ante ambas tareas, con el objeto de caracterizar el establecimiento de conductas de navegación por ruta y espacial. Además nos interesa estudiar la actividad neuronal en el hipocampo y estriado resultante de estas tareas de navegación valiéndonos de las ventajas de la detección de la proteína de Arc para mapear la actividad neuronal ante distintas tareas conductuales. De tal forma

pretendemos aportar evidencia de la posible participación e interacción del hipocampo y estriado en la codificación de la información del contexto y la navegación espacial.

### ***Preguntas de investigación***

¿Qué diferencias en las conductas de navegación despliegan las ratas que aprenden una tarea con diferentes procedimientos de punto de partida y con distinta configuración de las claves en el ambiente? y ¿cuáles son los patrones anatómicos de la actividad neuronal en el hipocampo y el estriado durante la ejecución de estas tareas de navegación?

#### *Objetivo general:*

Distinguir las condiciones ambientales y las características de la tarea que promueven el aprendizaje por rutas y el aprendizaje espacial en un laberinto con pasillos, así como caracterizar la actividad neuronal asociada con cada tipo de aprendizaje.

#### *Objetivos particulares:*

1.- Caracterizar una serie de tareas conductuales en laberintos con diferentes condiciones que permitan distinguir entre estrategias de navegación que se basan en la construcción de mapas espaciales y estrategias de navegación que utilizan el aprendizaje por rutas. Se compararán las conductas que despliegan las ratas cuando navegan en un laberinto con pasillos en una tarea de búsqueda de un lugar en donde se localiza el reforzador:

- a) Al variar la cantidad de información aloécéntrica y de claves de lugar.
- b) Al variar el procedimiento de entrenamiento.
- c) Al exponerlas al laberinto con una nueva ruta disponible de acceso a la meta.

2.- Detectar, mediante el uso de una técnica de inmunohistoquímica para la proteína de Arc, la actividad en grupos de células nerviosas que responden a la ejecución de las tareas de navegación por rutas y espaciales en el hipocampo y el estriado.

***Hipótesis:***

Dado que el hipocampo está relacionado con la generación de representaciones espaciales y el estriado con el establecimiento de relaciones asociativas entre estímulos, esperamos:

- a) Que las condiciones dentro de un laberinto con mayor cantidad de información aloctónica a la par de un entrenamiento en el cual el animal llegue a la meta desde distintos puntos, induzcan una representación espacial (mapa cognitivo) y, por lo tanto, resulten en un aprendizaje de lugar, la habilidad para tomar nuevas rutas y una mayor activación en las regiones hipocampales.
- b) Que las condiciones con mayor cantidad de claves de lugar o con procedimientos de salida fija induzcan la creación de relaciones asociativas (mapa por rutas) y, por lo tanto, resulten en un aprendizaje de respuesta, una conducta de llegada a la meta solamente mediante la ruta que se ha aprendido y una mayor activación de regiones estriatales.

Las hipótesis estadísticas se enumeran en el Anexo1.

***Materiales, sujetos y procedimientos:***

*Aparato:* Se utilizó un laberinto de acrílico transparente de 95 x 105 cm. de área con 6 pasillos interiores. El laberinto se situó sobre una mesa de 90 cm de altura, en un cuarto aislado de ruido y con una iluminación tenue constante. En la parte superior del laberinto, en el techo del cuarto se colocó una cámara de video, la cual estaba conectada a una computadora y una videograbadora, localizadas en un cuarto adyacente desde el cual se grababan las sesiones de entrenamiento y de prueba.

Al final de cuatro de los pasillos más largos del laberinto se encontraba un bebedero y sólo uno de ellos contenía 300 µl de agua azucarada durante el

entrenamiento. Se controló la cantidad de información espacial a través de una cortina blanca que rodeaba el laberinto en la cual se colocaron figuras geométricas de diferentes colores y texturas. Durante el entrenamiento de navegación espacial (EE) y en uno de los entrenamientos de navegación por ruta (RE), dichas figuras funcionaron como claves espaciales; durante el primer entrenamiento de navegación por rutas (RL), se colocaron únicamente banderas de diferentes colores y formas en las esquinas del pasillo central del laberinto, las cuales funcionaron como claves de lugar, manteniéndose las cortinas blancas sin claves (Figura 14).

*Animales.* Se utilizaron 11 ratas macho de la cepa Wistar de alrededor de 3 meses de edad ( $\bar{X}$  = 440g  $\pm$  44). Las ratas se separaron en cajas de policarbonato individuales y habitaron en un ciclo invertido de luz-oscuridad 12:12 durante al menos quince días anteriores al experimento. El consumo de agua se mantuvo *ad libitum* hasta 24 horas antes del inicio del experimento. El consumo de alimento se mantuvo *ad libitum* durante todo momento.

*Grupos.* Se utilizaron 2 ratas control y 3 ratas por grupo en las siguientes condiciones: *entrenamiento de ruta con claves internas (RI)*, *entrenamiento espacial con claves espaciales (EE)* y *entrenamiento de ruta con claves espaciales (RE)*.

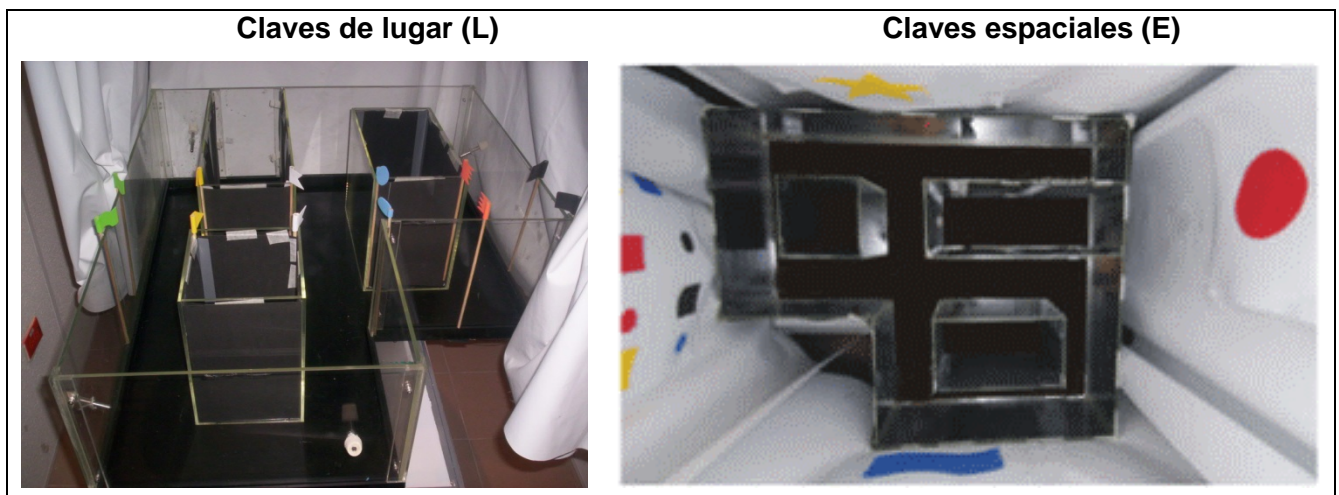


Figura 15. Laberinto cíclico. A la izquierda se observa el laberinto con claves de lugar (L) y a la derecha el mismo laberinto con claves espaciales (E).

*Entrenamiento.* Se pesó a las ratas y se les manipuló de 5 a 10 min al día durante los cinco días previos a las sesiones de entrenamiento. Veinticuatro horas



antes del inicio de los procedimientos conductuales se privó de agua a todas las ratas y se colocaron las claves de lugar en el caso del grupo RI o las claves espaciales en el caso de los grupos EE y RE, dichas claves permanecieron en el laberinto durante el pre-entrenamiento, el entrenamiento, y las pruebas.

En la primera sesión, o sesión de pre-entrenamiento, se colocó a la rata en el centro del laberinto y todos los bebederos contenían agua azucarada. Se le dejó explorar hasta haber bebido completamente el agua de todos los bebederos. A partir de la segunda sesión, se colocó el agua azucarada en sólo uno de los bebederos y se estableció un punto de salida fijo para los grupos RI y RE y ocho diferentes puntos de salida para el grupo EE (Figura 16). Cada ensayo de la sesión iniciaba cuando se soltaba a la rata dentro del laberinto en la posición adecuada según el grupo y finalizaba cuando bebía toda el agua del bebedero o cuando transcurrían 60 seg, al finalizar cada ensayo se retiraba a la rata del laberinto y se le mantenía envuelta en una toalla mientras se colocaba de nuevo agua en el bebedero. La sesión diaria terminó una vez que se completaba un criterio de nueve ensayos en los cuales la rata bebió del bebedero-meta. Al terminar la sesión, cada rata era regresada a su caja hogar, se le permitía beber agua libremente durante 5 min y posteriormente se le mantuvo privada de agua hasta la próxima sesión de entrenamiento. El laberinto fue limpiado con ácido acético al 4% para eliminar cualquier olor residual. Las ratas fueron entrenadas con una sesión diaria durante el número de sesiones necesarias para que adquirieran la capacidad de llegar a la meta mostrando los siguientes criterios: a) una latencia de llegada estable en la asíntota de la curva (RI  $M=8.3$  seg  $\pm 0.8$ ; EE  $M=12.4$  seg  $\pm 0.36$ ; RE  $M=9.2$  seg  $\pm 1.5$ ), y b) un 0% de errores.

El primer grupo en ser entrenado fue RI, posterior al sacrificio de este grupo se continuó con el EE hasta concluir con el sacrificio de ese grupo; y, finalmente, se llevó a cabo el procedimiento completo para el grupo RE. Las ratas controles se mantuvieron en sus cajas hogar, una durante el entrenamiento del grupo RI y una durante el entrenamiento del grupo EE, fueron sacrificadas en conjunto con las ratas de su grupo correspondiente.

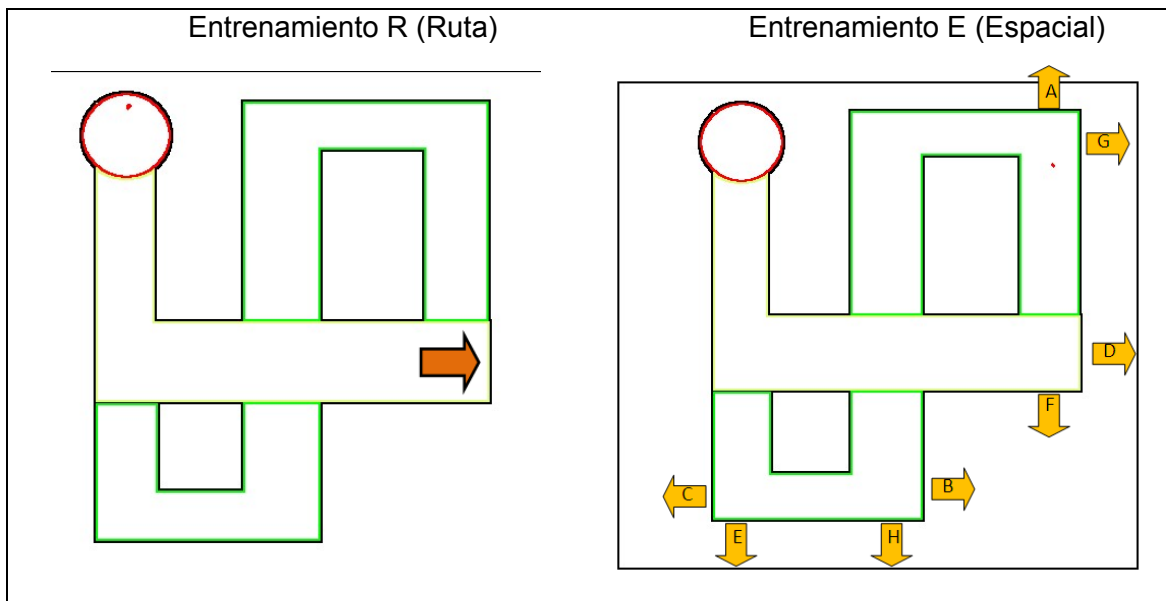


Figura 16. Procedimientos de entrenamiento de ruta o espacial. El laberinto se encuentra delineado en verde y el círculo rojo marca la meta. Las flechas indican la o las posiciones en que era liberada la rata durante el entrenamiento. Las letras en las flechas indican el orden de las posiciones desde las cuales se liberó al animal durante el entrenamiento espacial.

*Prueba nueva ruta.* Al finalizar el entrenamiento se llevó a cabo un procedimiento de prueba a todas las ratas para evaluar el uso de una estrategia espacial o de ruta, para ello el laberinto fue modificado de manera que contara con una ruta nueva directa a la meta. La sesión de prueba consistió en tres ensayos desde cada punto de salida, los cuales terminaban cuando la rata bebía del bebedero-meta.

Posteriormente se reentrenó a las ratas, con el mismo procedimiento con el que fueron entrenadas durante el entrenamiento inicial durante tres sesiones y después se les realizó la siguiente prueba conductual.

*Prueba varias salidas.* Se llevó a cabo en todas las ratas un procedimiento para evaluar el uso de una estrategia espacial o de ruta con el laberinto sin modificación. La sesión de prueba consistió en tres ensayos desde dos puntos de salida determinados de la siguiente manera: punto D definido como el punto más cercano a la meta durante la prueba de nueva ruta; y punto F definido por ser el punto externo al pasillo central y al pasillo meta y que era cardinalmente opuesto al punto D, ambos puntos fueron seleccionados de entre los que confirmaron el procedimiento espacial de entrenamiento (Figura 16).

Posteriormente, se entrenó otra vez a las ratas durante tres sesiones con el mismo procedimiento con el que fueron entrenadas durante el entrenamiento inicial y a continuación se les realizó la siguiente prueba conductual. A este punto se le determinó el “último día de entrenamiento” y posterior a este día se mantuvo a los animales en su caja hogar por un día. Al día siguiente se les sometió al procedimiento de sacrificio.

*Procedimiento conductual del día del sacrificio.* Aproximadamente 24 horas antes del sacrificio se les permitió beber agua a los animales libremente durante 5 minutos en su caja hogar. En el día del sacrificio los grupos de animales fueron expuestos a las dos tareas de navegación en distinto orden, realizando la primera 30 min antes del sacrificio y la segunda 5 min antes del sacrificio, ambas con una duración de 5 min. En el tiempo entre exposiciones los animales estuvieron en sus cajas hogar e inmediatamente finalizando la segunda exhibición los animales fueron sacrificados por decapitación.

Las tareas de navegación para el procedimiento de sacrificio fueron de tipo: A. navegación por ruta y B. navegación espacial (Figura 17). En el tipo A. el animal fue liberado de un punto de salida fijo y el bebedero meta se mantuvo en una posición estable, éste procedimiento se realizó de la misma manera que se realizaba durante los entrenamientos de ruta. En la tarea del tipo B. el animal fue liberado desde cinco diferentes puntos de salida y el punto meta se mantuvo estable, este procedimiento se realizó de manera similar al que se realizó durante el entrenamiento de lugar, con la diferencia de la posición y cantidad de puntos de salida. El cuadro que se presenta a continuación muestra el orden de las tareas a las que fueron expuestos los sujetos de cada grupo y a los dos sujetos del grupo control, los cuales no fueron entrenados ni expuestos a las tareas conductuales.

Tabla 1: Procedimientos del día del sacrificio.

Grupo	Sujeto	1a exposición	2da exposición
RI	332	A	B
	333	A	B
	334	A	A
EE	441	A	B
	442	B	B
	452	A	B
RE	502	A	B
	503	A	B
	504	A	A
Control	443	-----	-----
	512	-----	-----

Tabla 1. Tipo de tarea a la que fueron expuestas las ratas el día del sacrificio. El procedimiento de las exhibiciones A y B se muestran en la Figura 16. Los sujetos control permanecieron en sus cajas hogar antes del sacrificio. (RI: grupo de entrenado por ruta con pistas internas; EE grupo entrenado espacialmente con pistas externas; RE; grupo entrenado por ruta con pistas externas)

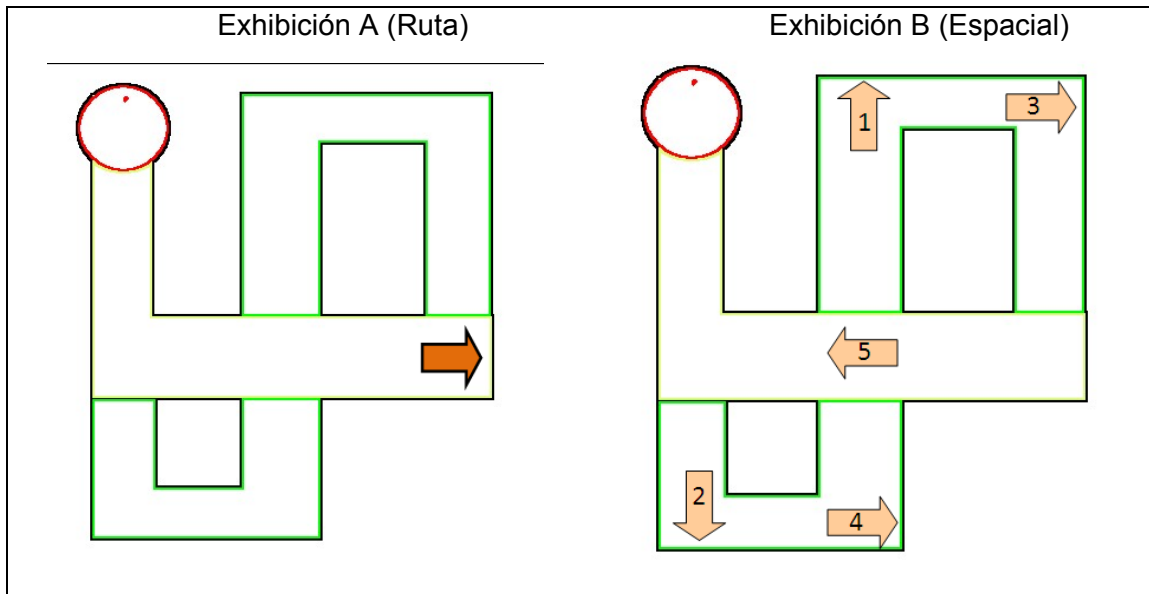


Figura 17. Procedimientos de exhibición de tipo ruta (A) o espacial (B) para el día del sacrificio. El laberinto se encuentra delineado en verde y el círculo rojo marca la meta. Las flechas indican la (A) o las (B) posiciones en que era liberada la rata durante el entrenamiento. En B, los números indican el orden en que era liberado el animal desde cada posición.

*Análisis conductual.* Durante todas las sesiones de entrenamiento y de prueba se utilizó el sistema de captura SMART® (San Diego Instruments, San Diego, CA, EUA), con el cual se registró la conducta de la rata mediante el análisis de la imagen en video y de este modo se monitorearon los eventos conductuales.

En las sesiones de entrenamiento se monitorearon las siguientes conductas: recorrido, latencia de llegada a la meta y errores. En las pruebas conductuales se monitorearon los eventos conductuales: recorrido, latencia de llegada a la meta, errores, titubeos, elección de la ruta entrenada, cruces por el nuevo pasillo (sólo en la prueba de nueva ruta), y distancia.

El recorrido se registró por medio de una línea de diferente color en cada ensayo (por ejemplo: sesión 2 en Figura 21) que mostró la ruta que siguió la rata al desplazarse a través del laberinto desde el punto de partida hasta donde se localizó el reforzador.

La latencia de llegada a la meta es el tiempo en segundos que demoró la rata en desplazarse a través del laberinto desde el punto de partida hasta donde se localizó el reforzador.

Los errores se consideraron como cada evento en el cual la rata tomaba una ruta distinta a la ruta más directa al bebedero desde su punto de salida.

Los titubeos se consideraron como cada evento en el cual la rata desplazaba las cuatro patas dentro de algún pasillo del laberinto y, antes de tomar otro pasillo, realizaba un giro de 180° y se desplazaba de regreso al punto donde había entrado al pasillo.

La conducta de elección de la ruta entrenada se consideró como cada evento durante las pruebas conductuales en que la rata llegaba al bebedero recorriendo la ruta que utilizó al menos en dos de los tres ensayos anteriores a la primera prueba conductual.

Los cruces por el nuevo pasillo se consideraron cada evento en el cual la rata se desplazó a través del nuevo pasillo disponible durante la prueba nueva ruta seguido de beber en la meta

La distancia es la cantidad de centímetros que recorrió la rata al desplazarse a través del laberinto desde el punto de partida hasta donde se localizó el reforzador.

*Procedimiento de sacrificio y obtención de tejido cerebral.* Inmediatamente después de la segunda tarea a la que fueron expuestos las ratas el día del

sacrificio, fueron sacrificadas por decapitación. Los cerebros se extrajeron rápidamente y se colocaron en un molde de plástico de PVC, el cual se sumergió en una solución de 2-methyl-butano, enfriada a  $\sim -30^{\circ}\text{C}$  mediante un baño en alcohol etílico y hielo seco. Ya congelados, los cerebros se almacenaron en un congelador a  $-70^{\circ}\text{C}$ ; y posteriormente fueron seccionados con el uso de una matriz de sección para tejido de  $2.7 \times 2.5$  de área interior (Electrón Microscope Sciences®). Se seleccionó sólo el hemisferio izquierdo por cada animal (las comparaciones de la expresión íter-hemisféricas no mostraron resultados estadísticamente significativos), partiendo desde la mitad del fórnix hasta el final de la corteza entorrinal, se utilizó como referencia el límite entre la corteza y el cerebelo (el procedimiento con la matriz fue el siguiente: se colocó la primera navaja en el límite de la corteza y el cerebelo; la segunda, 2 mm anterior a la primera; y la tercera 8 mm, anterior en relación a la segunda) (Figura 18-A), de tal manera que todas las hemisecciones, de cada uno de los animales presentaron una altura semejante de corte ( $\pm 0.5$  mm). Además, para garantizar la mejor equidistancia en la altura antero-posterior posible, se colocaron los cerebros en el molde de plástico con la parte posterior en la base del molde, ya que esta región era la más equidistante. De esta manera, en un molde de plástico se colocó la mitad del cerebro de un animal de cada uno de los grupos, y se cubrió con "Tissue tek OCT®" (Figura 18-B) y se congeló rápidamente con hielo seco para generar un bloque sólido.

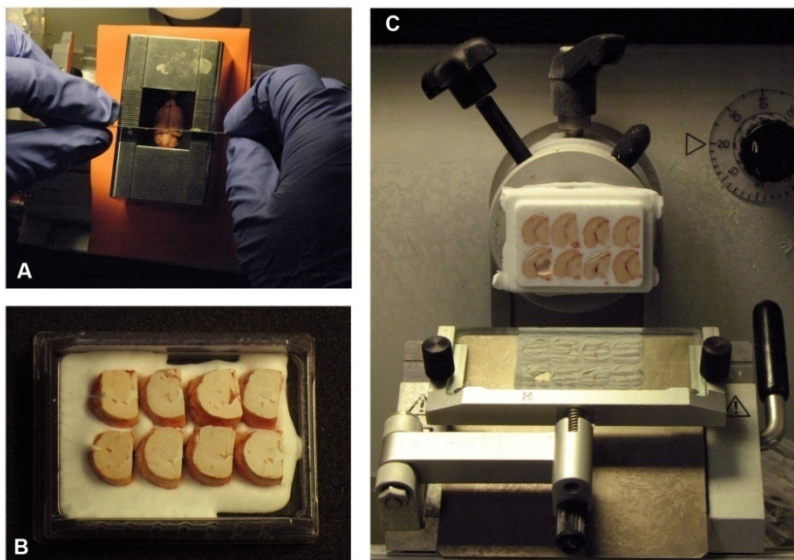


Figura 18. Procedimiento de construcción del bloque; cada bloque contiene un cerebro de cada grupo experimental (8 cerebros máximo). En A) se muestra como se corta un cerebro en la matriz de sección; en B) se observan los hemisferios montados en un molde con una base de "Tissue tek OCT®"; en C) se muestra un bloque de cerebros montado en el criostato, y también se aprecia un corte listo para montar en la laminilla.

Como resultado se formaron dos bloques, encontrándose en el primero siete muestras de hemiserebros de cada uno de los diferentes grupos y el segundo cuatro muestras de los grupos restantes como se muestra a continuación en la Figura 19.

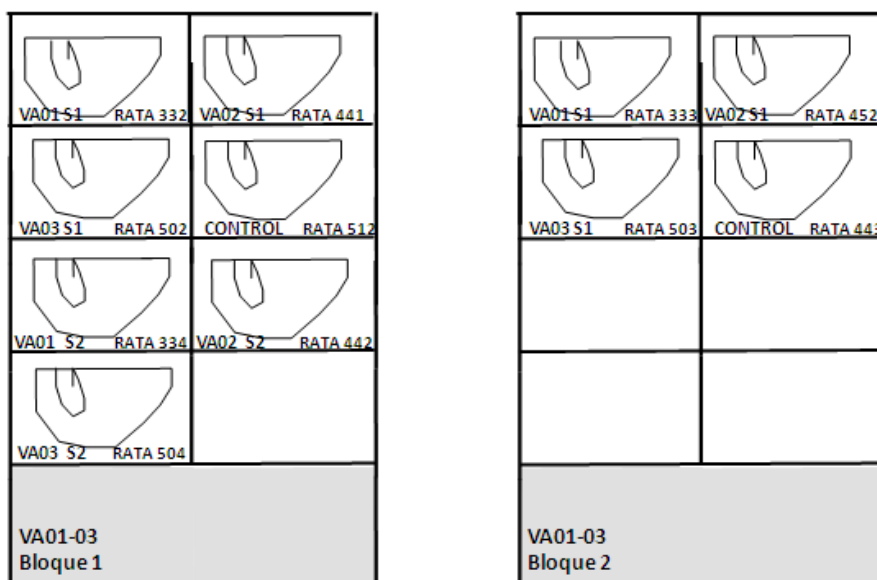


Figura 19. Muestra la distribución de las muestras de hemiserebros en el Bloque 1 (a la izquierda) y el Bloque 2 (a la derecha).

Con el uso de un criostato Leica 1850 a  $\sim -18^{\circ}\text{C}$  se seccionaron los bloques con los cerebros a  $20\ \mu\text{m}$  de grosor (Figura 18-C). Cada sección se montó en una laminilla (Superfrost VWR). De esta manera cada laminilla contenía siete o cuatro hemiseciones del cerebro de cada uno de las ratas de los diferentes grupos. Este arreglo permitió reducir la variabilidad de la tinción entre los animales de los diferentes grupos. La variabilidad que se observa en la tinción entre las diferentes laminillas, aun cuando son teñidas todas al mismo tiempo, puede afectar la interpretación de los resultados, por ello cada animal se compara con su propio control colocado en el mismo bloque. Los tejidos montados en las laminillas se dejaron secar y se almacenaron en cajas oscuras herméticas (para evitar la entrada de luz y humedad en el tejido) y se congelaron a  $-70\ ^{\circ}\text{C}$  hasta que se efectuó el procedimiento histológico.

*Histología.* Ocho laminillas de cada bloque se seleccionaron a partir de la parte medial del hipocampo dorsal y la parte medial del estriado. El tejido se fijó en el 2% de paraformaldehído, 7.4pH, durante 5 min y se lavaron en 2SSC, (30 mM cloruro de sodio, 30 mM citrato de sodio, pH 7.0), seguido de 50:50% acetona / metanol a 4 ° C, durante 5 minutos. El tejido se lavó en 2 SSC y 0,05% de Tween 20 y se enfrió en 2 SSC y 1% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de 15min. Tras el bloqueo con el tyramide kit de amplificación de señal (TSA) buffer de bloqueo (Perkin Elmer Life Sciences, Emeryville, CA, EUA.). Las laminillas fueron incubadas 48 hrs a 4° en anti-Arc anticuerpo policlonal de conejo (1:800) provisto por el laboratorio del Dr.Worley. Se colocaron posteriormente en incubación con el anticuerpo secundario anti-conejo biotinilado (VectorLaboratories, Burlingame, CA, EUA.) durante 2 horas a temperatura ambiente, seguida por el sistema de amplificación avidina-biotin (VectorLaboratories) por 45 min. La tinción fue visualizada usando el sistema de fluorescencia cyanine3 (CY3) TSA (Perkin Elmer Life Sciences), y los núcleos se tiñen con Sytoxgreen (MolecularProbes, Eugene, OR, EUA.). Ninguna tinción se detectó en la ausencia de los anticuerpos primarios o secundarios.

*Microscopía fluorescente.* Se obtuvieron imágenes de secciones inmunofluorescentes (3 o 4) usando un objetivo apocromático de 10X/0.45 con el software de imágenes para Mosaico X en el sistema Apotome (Zeiss ® Standort Gotinga - Vertrieb Deutschland) para obtener imágenes de la sección coronal completa que contenían el hipocampo dorsal o el estriado, como se muestra en la Figura 19. Los parámetros de imagen se ajustan con la señal de la tinción observada en el tejido del animal control en cada laminilla y mantenido por el resto del procedimiento de imágenes de cada laminilla.

*Análisis de las imágenes.* Las imágenes colectadas se utilizaron para medir el área ocupada por la señal de tinción de Arc (en rojo) la cual fue corregida por la región determinada por el verde de la contratinción con Sytox (Invitrogen ® Carlsbad, California), utilizando el software de imagen Metamorph (Dispositivos Moleculares ® Downingtown, PA). En resumen, se definió una región de interés (ROI), se seleccionó utilizando el área ocupada por la señal de la contratinción que marca los núcleos celulares de todas las células y nos permite identificar las



diferentes regiones anatómicas del hipocampo y estriado. Una vez que el ROI se señaló, se estableció un umbral (*threshold*) en la imagen del animal control correspondiente a una laminilla (Figura 20), y una vez establecidos estos parámetros se utilizaron para el resto de imágenes de los otros animales de la misma laminilla. Esta medida dio lugar a una cuantificación en cifras brutas de la cantidad de señal de Arc presente en cada región del hipocampo y estriado de los animales que ejecutaron la tarea en el laberinto y la correspondiente al control.

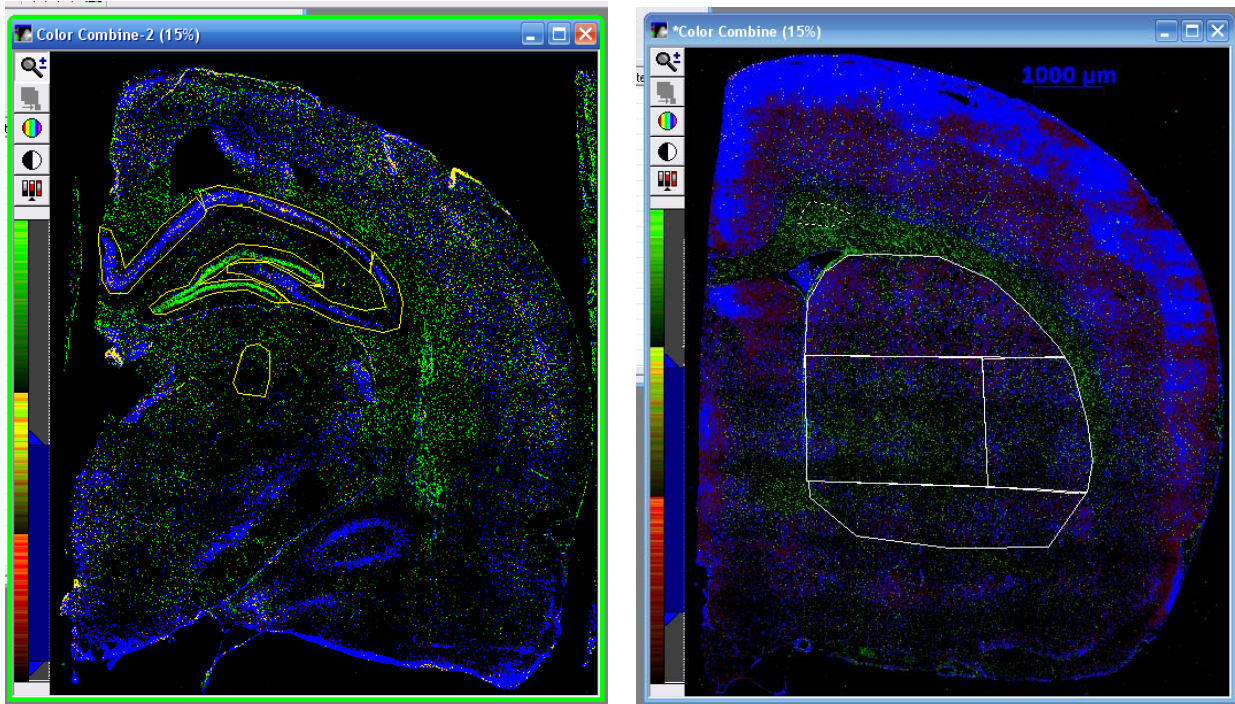


Figura 20. Muestra el proceso de análisis de la imagen, las líneas amarillas sobre la imagen del cerebro son las zonas seleccionadas por el ROI. En la figura de la izquierda se muestra al hipocampo: CA1, CA3, giro dentado y subículo. En la figura de la derecha se muestra al estriado: dorsal, lateral medial y ventral.

*Cuantificación y análisis estadístico.* Se obtuvieron datos promedio grupales para las conductas de latencia y distancia. Para el caso de las conductas de titubeo, elección de ruta entrenada, errores y cruce por la nueva ruta se contabilizó la cantidad de ensayos en que el animal presentó cada conducta, se obtuvo el porcentaje de estos ensayos por posición de salida y posteriormente se obtuvieron los promedios.

Se aplicó la prueba de normalidad Kolmogorov Smirnov para todas las variables conductuales e histológicas medidas. Se tomaron los datos promedio de cada animal, y se corrió la prueba para la muestra de cada grupo independientemente. Al ser aceptados los supuestos de que las muestras de los grupos no difieren significativamente de una muestra normal teórica generada por el programa estadístico, se procedió a realizar la prueba de Bartlett para probar la homogeneidad de varianzas para cada variable conductual e histológica. Para correr esta prueba se introdujeron los datos por grupo de: cantidad de cuentas (n), promedio y desviación estándar. Al ser aceptado el supuesto de que las varianzas de los grupos no difieren significativas se realizaron análisis de varianza (ANOVA); de no ser aceptados estos supuestos o los de normalidad se analizaron los resultados a través de la prueba Kurskal Wallis.

Después de haber sido aceptados los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas, para cinco sesiones de entrenamiento de diferentes puntos del entrenamiento (dos al inicio, dos intermedios y uno al final), se le aplicó ANOVA para medidas repetidas con pruebas *post hoc* a las latencias del entrenamiento de cada grupo por separado para probar la efectividad y el establecimiento del entrenamiento utilizando como factor el grupo y como medida repetida las latencias.

Las diferencias entre grupos para las conductas de latencia, registradas en la pruebas conductuales, se probaron mediante la prueba *post hoc* de Bonfferoni para un ANOVA de una vía utilizando como factor el grupo y como dependiente las latencias En los casos de las demás conductas (distancias, errores, titubeos, cruces por el pasillo de la nueva ruta y elección de ruta entrenada) dichos supuestos fueron rechazados, por lo tanto se utilizó la prueba Kurskal Wallis utilizando U de Mann Whitney como prueba *post hoc*.

Para los datos histológicos se obtuvo un índice de área con señal de Arc dividiendo el área total de cada estructura entre el área total resultante del umbral seleccionado para la señal de Arc. Se obtuvo un promedio grupal de este índice y se probó el efecto de las condiciones experimentales mediante un ANOVA de una vía, utilizando como factor el grupo. Posteriormente, las diferencias intergrupales

se probaron mediante la prueba *post hoc* de Bonferroni. El nivel alfa considerado fue del 5% para todas las pruebas.

## **Resultados**

### *Del entrenamiento conductual.*

En el establecimiento de una conducta espacial guiada a una meta, el programa de registro SMART nos arrojó los “paths” o rutas que exhibió cada animal durante el entrenamiento (Figuras 21, 22 y 23), en los cuales se observa cómo los animales, a medida que avanzó el entrenamiento, tomaban rutas cada vez más directas. Se observó que durante los ensayos iniciales de los tres grupos los individuos se desplazaban a través de todo el laberinto. Dicha conducta se mantuvo durante al menos las primeras cinco sesiones y se observó en todos los grupos, pero de una manera menos acentuada en el grupo EE.

En los ensayos finales, se observó una tendencia de los animales a tomar la misma ruta en todos los ensayos, siendo esta ruta la más directa en casi todos los casos, con excepción de un animal del grupo RI (sujeto 333), el cual estableció una ruta distinta a la más directa.

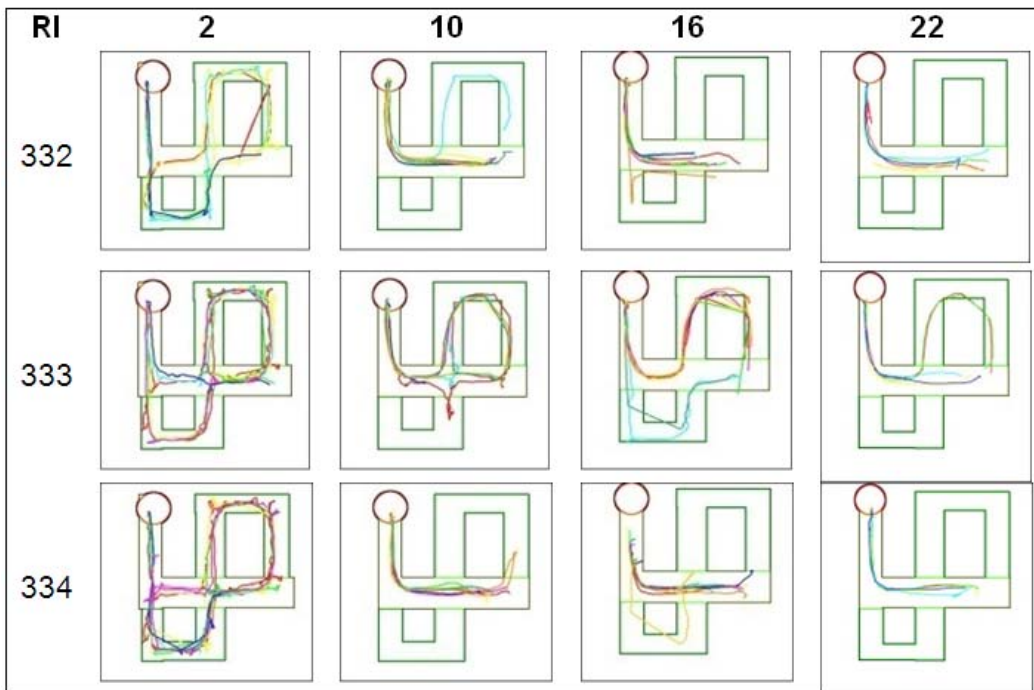


Figura 21. Recorrido que presentaron los sujetos del grupo RI durante el entrenamiento con puntos de salida fijo, apareciendo en cada laberinto nueve ensayos con el mismo punto de salida. El laberinto se encuentra delineado en verde, en el cual el círculo rojo delinea la zona meta. En la parte superior de cada laberinto aparece la sesión respectiva.

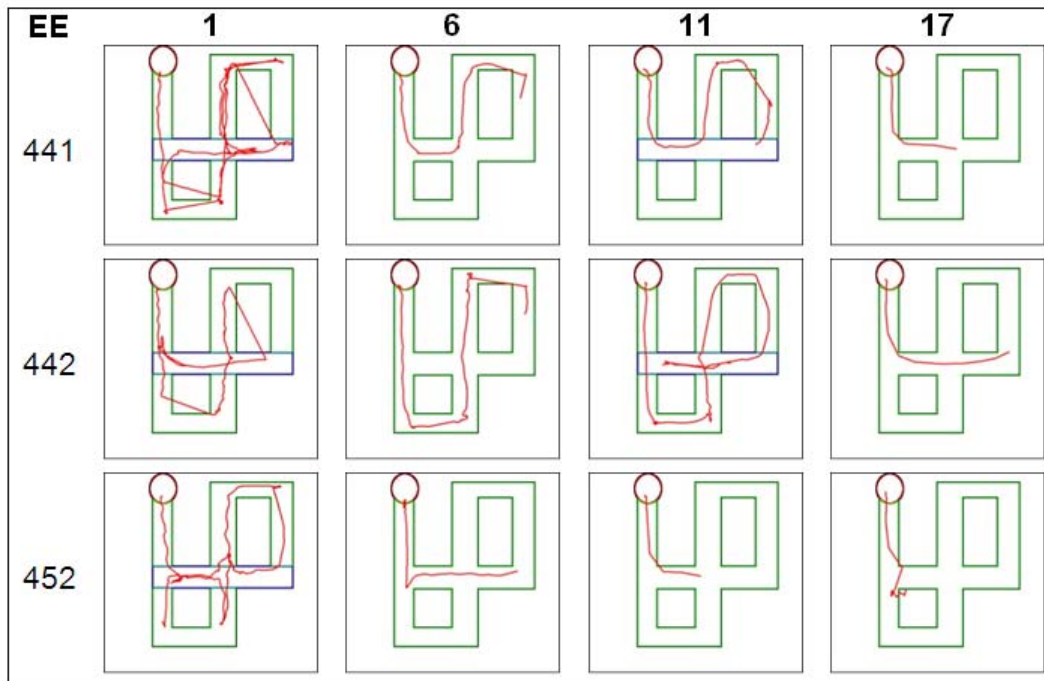


Figura 22. Recorrido que presentaron los sujetos del grupo EE durante el entrenamiento con puntos de salida variable, apareciendo en cada laberinto uno de los nueve ensayos. El laberinto se encuentra delineado en verde, en el cual el círculo rojo delinea la zona meta. En la parte superior de cada laberinto aparece la sesión.

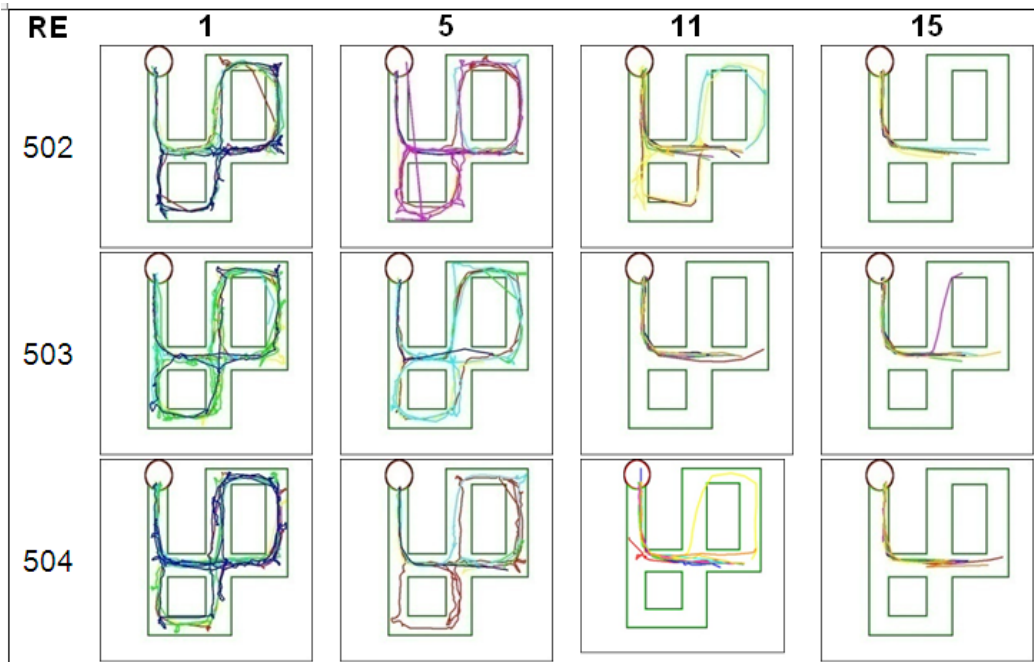


Figura 23. Recorrido que presentaron los sujetos del grupo RE durante el entrenamiento con puntos de salida fijo, apareciendo cuatro sesiones representativas, una en cada laberinto con nueve ensayos. El laberinto se encuentra delineado en verde, en el cual el círculo rojo delinea la zona meta. En la parte superior de cada laberinto aparece la sesión respectiva.

La latencia durante el entrenamiento mostró una curva de aprendizaje en los tres grupos (Figura 24), con una disminución significativa de la latencia hacia la asíntota. Se muestra la cantidad de sesiones de entrenamiento para cada grupo antes de la primera prueba conductual, siendo 25 para el grupo RI, 18 para el EE y 17 para el RE. Después de haber sido aceptados los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas para cinco sesiones de entrenamiento de diferentes puntos del entrenamiento (sesiones 2, 3, 8, 9 y 16), el ANOVA para medidas repetidas (RI  $F_{2,22}$ : 18.084,  $p < 0.0001$ ; EE  $F_{2,22}$ : 7.589,  $p < 0.0001$ ; RE  $F_{2,22}$ : 16.227,  $p < 0.0001$ ) muestra una disminución significativa de la latencia. El análisis *post hoc* mostró el establecimiento de las latencias a partir de la sexta sesión en el caso de RI y a partir de la octava en EE y RE al mostrar diferencias no significativas entre esa sesión y las posteriores.

Observamos que a lo largo del entrenamiento el grupo RI mantuvo las menores latencias.

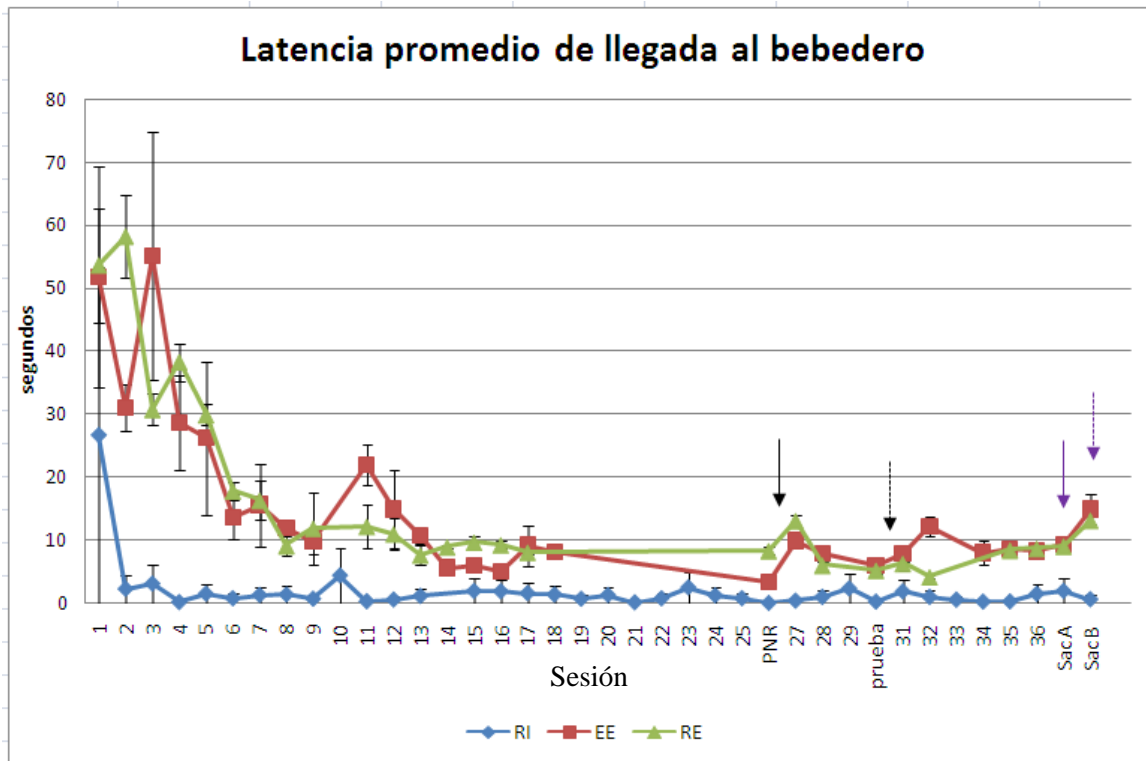


Figura 24. Promedio grupal de la latencia de llegada al bebedero por sesión, a lo largo del entrenamiento y el día de las pruebas. Las flechas indican las sesiones de prueba conductual (de izquierda a derecha: prueba nueva ruta en negro, prueba conductual varias salidas en negro punteada, prueba A del día del sacrificio en morado y prueba B del día del sacrificio en morado punteada).

### *Prueba nueva ruta*

En la prueba con nueva ruta disponible, los animales exhibieron rutas para llegar a la meta que se pueden diferenciar claramente a las que exhibieron en los primeros días del entrenamiento. En esta prueba los animales realizaron recorridos más directos hacia la meta, utilizando en algunos de los casos el pasillo de la nueva ruta para llegar al bebedero sobre todo desde las posiciones de salida C y D. Vale la pena señalar a un sujeto del grupo RI (334) en el cual se observó que durante uno de los ensayos saliendo de la posición C se dirigió a la meta a través del pasillo con la nueva ruta disponible, pero antes de llegar a la meta regresó a la posición de salida y utilizó la ruta que seguía durante el entrenamiento.

En las siguientes figuras (25, 26 y 27), se puede observar de manera cualitativa que los animales también mostraron conductas de titubeo, utilizaron

rutas que no son las más directas al bebedero (errores), además de rutas distintas a las que utilizaron durante los últimos días del entrenamiento.

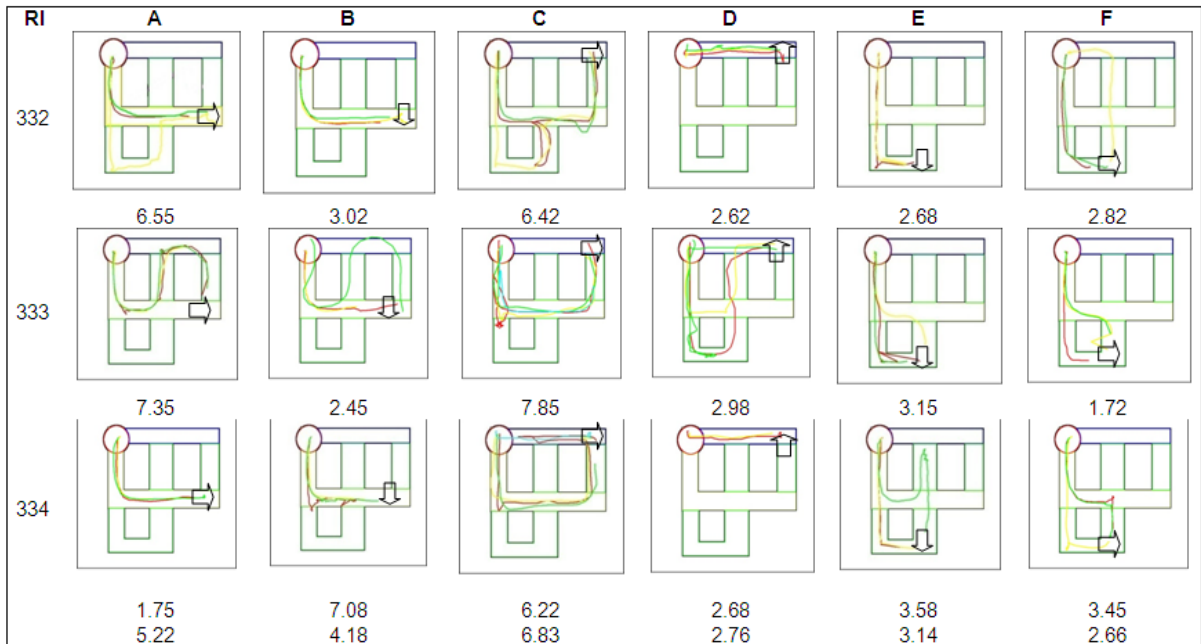


Figura 25. Recorrido que presentaron los sujetos del grupo Ruta con pistas internas durante la prueba con la nueva ruta, apareciendo en cada laberinto tres ensayos con el mismo punto de salida. El laberinto se encuentra delineado en verde, en el cual el círculo rojo delinea la zona meta y el punto de salida se encuentra marcado con una flecha que indica la posición en que fue colocada la rata. Los pasillos de la ruta entrenada aparece delineada en amarillo y el de la nueva ruta en azul. En la parte superior de cada laberinto aparece marcado con una letra (A-F) el tipo de salida y en la parte inferior aparece la latencia promedio.

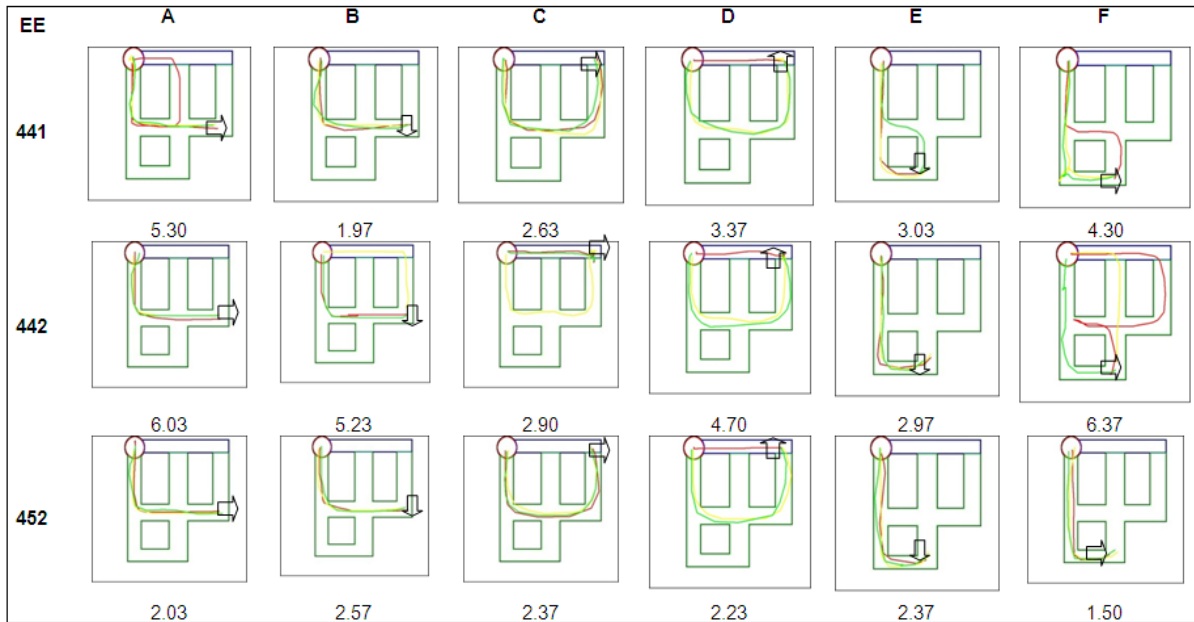


Figura 26. Recorrido que presentaron los sujetos del grupo Espacial con pistas externas durante la prueba con la nueva ruta, apareciendo en cada laberinto tres ensayos con el mismo punto de salida. El laberinto se encuentra delineado en verde, en el cual el círculo rojo delinea la zona meta y el punto de salida se encuentra marcado con una flecha que indica la posición en que fue colocada la rata. El pasillo de la nueva ruta se encuentra delineado en azul. En la parte superior de cada laberinto aparece marcado con una letra (A-F) el tipo de salida y en la parte inferior aparece la latencia promedio.

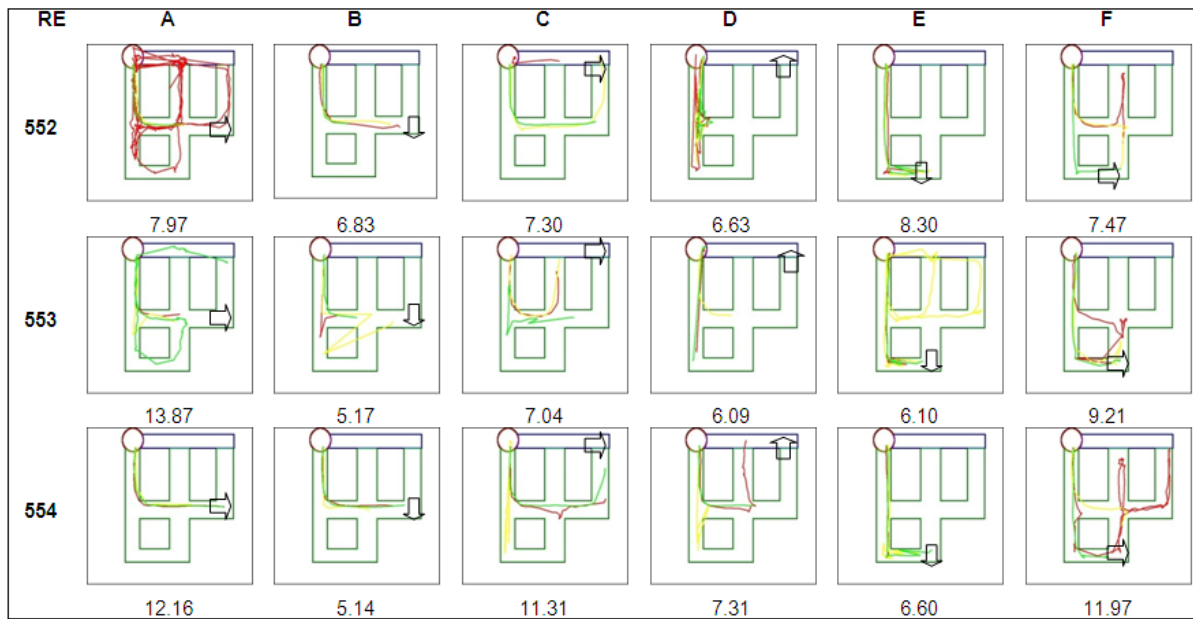


Figura 27. Recorrido que presentaron los sujetos del grupo Ruta con pistas externas durante la prueba con la nueva ruta, apareciendo en cada laberinto tres ensayos con el mismo punto de salida. El laberinto se encuentra delineado en verde, en el cual el círculo rojo delinea la zona meta y el punto de salida se encuentra marcado con una flecha que indica la posición en que fue colocada la rata. El pasillo de la nueva ruta se encuentra delineado en azul. En la parte superior de cada laberinto aparece marcado con una letra (A-F) el tipo de salida y en la parte inferior aparece la latencia promedio.



Las latencias que mostraron los animales durante la prueba nueva ruta (Figura 28) presentan diferencias entre grupos ( $F_{2,6} = 24.49$ ,  $p = 0.001$ ; RE  $M = 8.4 \text{ seg} \pm 1.38 > \text{RI } M = 4.1 \text{ seg} \pm 0.97 > \text{EE } M = 3.4 \text{ seg} \pm 0.46$ ), siendo el grupo RE el que exhibió una latencia significativamente más alta que los grupos RI y EE ( $P < 0.0001$  ambas).

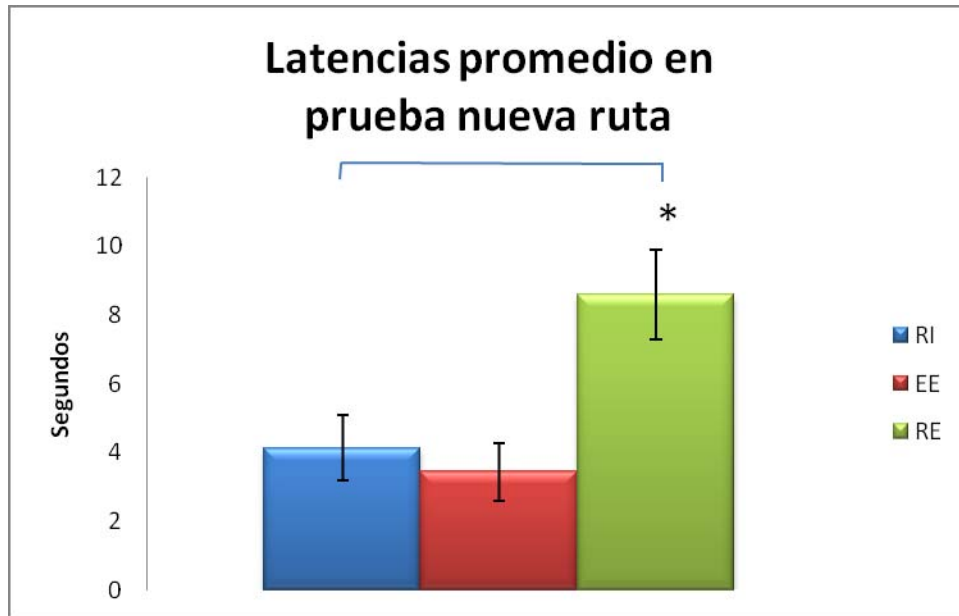


Figura 28. Media de la latencia por grupo para el día de la prueba nueva ruta. El asterisco señala las diferencias significativas entre el grupo RE y EE, mientras que el corchete las diferencias entre RE y RI.

Al analizar las latencias de llegada al bebedero en la prueba nueva ruta por posición de salida (Figura 29), observamos diferencias entre los grupos para D y para los demás puntos de salida ( $F_{2,6} = 19.34$ ,  $p = 0.002$  y  $F_{2,6} = 24.68$ ,  $p = 0.001$ ), presentándose una latencia del grupo RE significativamente mayor comparada con los otros dos grupos (RI,  $p = 0.001$ ; EE,  $p = 0.002$ ) para el punto de salida D y para los demás puntos de salida (RI,  $p = 0.001$ ; EE,  $p = 0.003$ ). Entre los grupos RI y EE se observan latencias similares, siendo mayor la latencia del grupo EE en la posición de salida D, y el grupo RI en el promedio de las demás salidas.

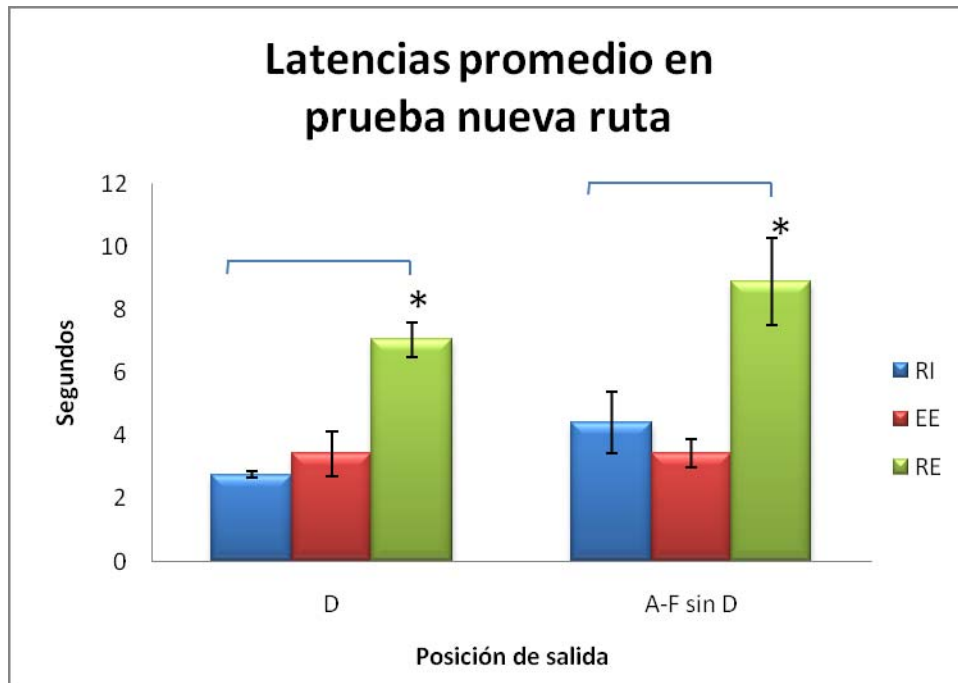


Figura 29. Media de la latencia por tipo de salida para el día de la prueba nueva ruta. El asterisco señala las diferencias significativas entre el grupo RE y EE, mientras que el corchete las diferencias entre RE y RI.

Las distancias recorridas entre los animales de los diferentes grupos durante la prueba nueva ruta no presentaron diferencias (EE  $M=212\text{cm} \pm 29 > \text{RI } M=207 \text{ cm} \pm 12.8 > \text{RE } M=173 \pm 3$ ) estadísticamente significativas (Anexo 2).

En la figura 30 se observa una cantidad de titubeos notoriamente mayor en el grupo RE con respecto al grupo RI y con respecto al grupo EE desde el punto de salida D, mostrando el grupo RE un porcentaje de titubeos mayor al 50% ( $M=56 \pm 19$ ). Al mismo tiempo, se muestra que el grupo EE mostró una cantidad de 0% de titubeos al salir del punto de salida D en todos los casos, siendo este el tope máximo de ejecución efectiva de esta conducta. Las diferencias significativas entre los grupos ( $H=6.23, p=0.044$ ) se observan específicamente entre el EE y RE ( $p=0.034$ ). Por otro lado, el promedio de las demás salidas no muestra diferencias entre los grupos, el grupo RE mantuvo un porcentaje de titubeos similar al que presentaron los otros dos grupos, a diferencia de la alta cantidad de titubeos que mostró en la salida D.

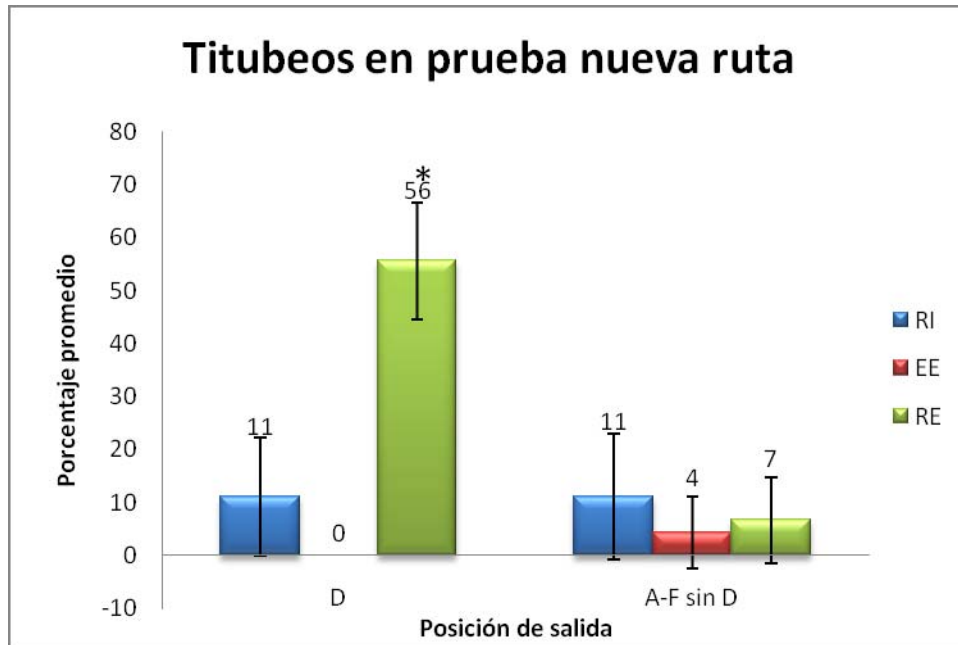


Figura 30. Porcentaje promedio grupal obtenido para las conducta de titubeo por posición de salida el día de la prueba nueva ruta. El asterisco señala las diferencias significativas entre el grupo RE y EE.

La probabilidad de elección de la ruta entrenada en la prueba nueva ruta (Figura 31), al igual que en el caso de los titubeos, mostró diferencias significativas únicamente en el caso de la posición de salida D. Las diferencias significativas se observan únicamente en D ( $H=6.2$ ;  $p=0.045$ ), entre todos los grupos (RI-EE  $p=0.033$ , RI-RE  $p=0.043$ , EE-RE  $p=0.023$ ), siendo menor la cantidad de elección de la ruta entrenada en el grupo RI en comparación con el grupo EE y el RE, éste último significativamente mayor a EE. Para esta conducta se observa específicamente la salida A, que es la salida desde donde fueron entrenados los animales de ruta, y la salida F, como una salida de referencia contraria a D. En ambas salidas no hay diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. En el caso de A, los tres grupos se mantienen cerca de un 100% de elección de la ruta entrenada, aunque en el grupo RE se observa una disminución ( $M=78\% \pm 19$ ). En el caso de F se observa que el grupo EE se mantiene en un nivel alto de elección de un 67% ( $\pm 33$ ), mientras que el grupo RI se muestra a un nivel menor de un 44% ( $\pm 38$ ) y el grupo RE muestra el nivel más bajo con un 33% ( $\pm 0$ ).

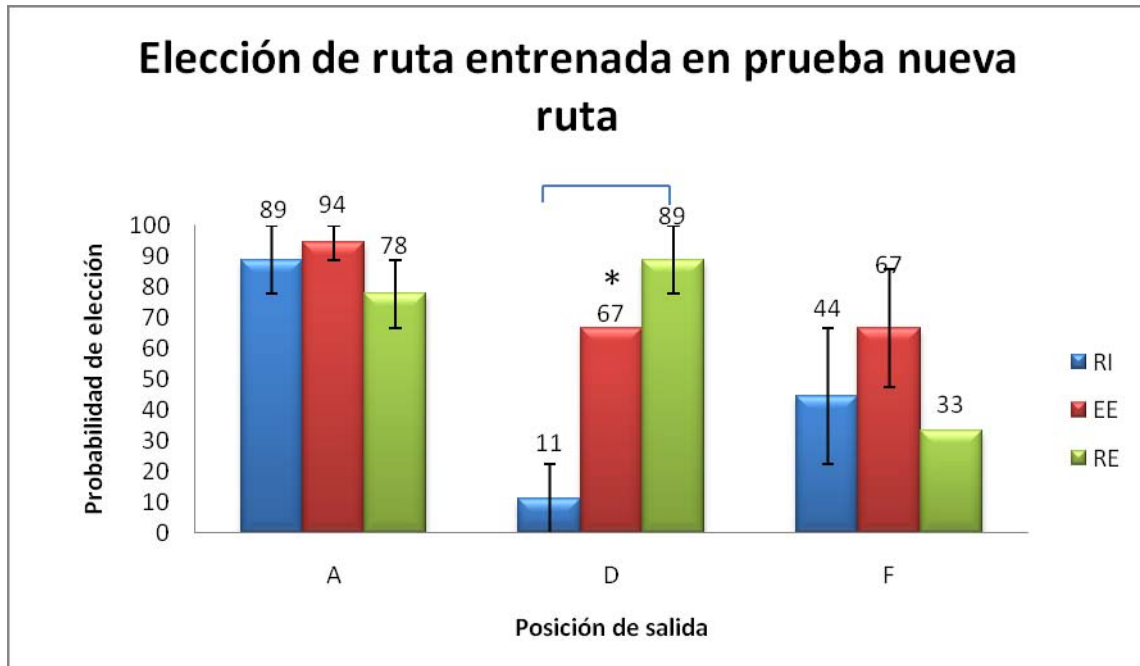


Figura 31. Probabilidad promedio de elección de la ruta entrenada el día de la prueba nueva ruta, obtenido por posición de salida y expresada en porcentajes. El corchete las diferencias entre RE y RI.

Los errores en la prueba nueva ruta, se consideraron como la proporción de ensayos en los que el animal no tomó la ruta más directa a la meta para los puntos de salida C y D; se consideró como ruta más directa a la nueva ruta o la ruta que se consideraba más directa durante el entrenamiento. A pesar de que las diferencias no fueron estadísticamente significativas para esta conducta, es importante señalar que se observan los mismos patrones que mostraron en la conducta de titubeos (Figura 30) de una mayor cantidad por el grupo RE, seguido del grupo EE y por último el grupo RI (Figura 32). Cabe mencionar que la magnitud de errores que presentan los tres grupos en mínima, mostrándose un máximo de un 18% en toda la prueba.



Figura 32. Promedio grupal del porcentaje de errores obtenido el día de la prueba nueva ruta.

La conducta de cruce por el pasillo de la nueva ruta (Figura 33) fue diferente entre los grupos únicamente en D ( $H= 7.08$ ;  $p=0.029$ ), (Figuras 24, 25 y 26). El grupo RI en promedio presentó una proporción más alta en la posición D, siendo el dato mayor de toda la prueba ( $78\% > 33\% > 11\% > 4\%$ ). El grupo RE exhibió la menor cantidad de cruces en toda la prueba. Los grupos RI y EE mostraron un porcentaje cercano a cero en los demás puntos de salida. Las diferencias intergrupales significativas se observan entre el grupo de ruta con pistas externas (RE) en comparación con los otros dos (RI-RE  $p= 0.033$  y EE-RE  $p=0.029$ ).

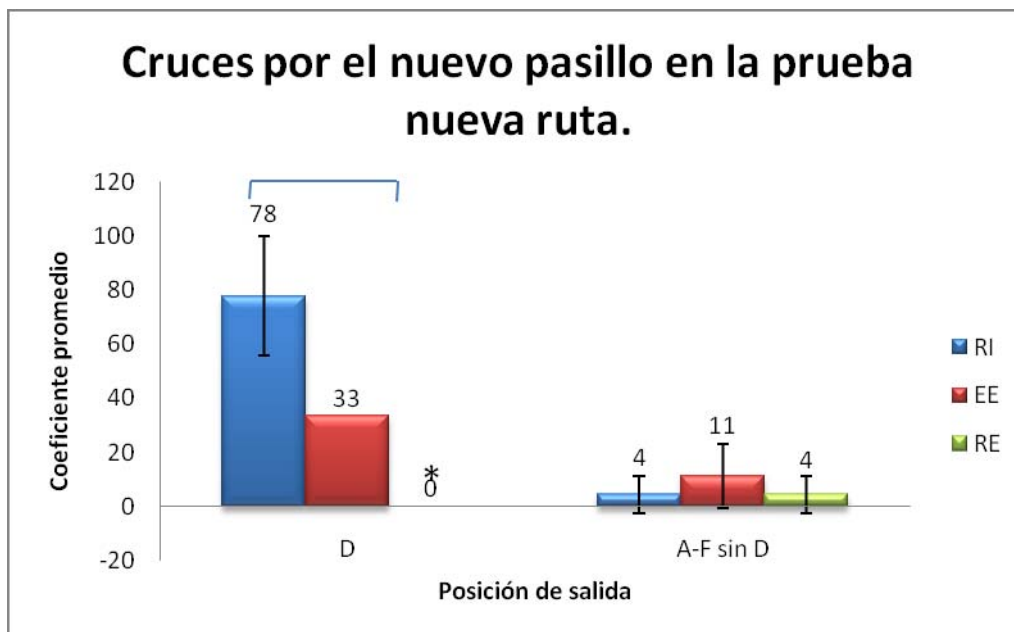


Figura 33. Promedio grupal del porcentaje de cruces por el pasillo de la nueva ruta obtenido por posición de salida el día de la prueba Nueva Ruta. El asterisco señala las diferencias significativas entre el grupo RE y EE, mientras que el corchete las diferencias entre RE y RI.

#### *Prueba conductual varias salidas*

En la prueba de varias salidas los animales exhibieron rutas similares a las que expresaron en la prueba nueva ruta, las cuales se pueden diferenciar de las que exhibían en los primeros días del entrenamiento por mostrar menor desplazamiento a través de todo el laberinto. En las siguientes figuras (34, 35 y 36) se puede observar de manera cualitativa que los animales mostraron conductas de titubeo y que utilizaron rutas que no son las más directas al bebedero (errores) y rutas distintas a las que utilizaron durante los últimos días del entrenamiento. Se observaron diferencias entre los grupos con respecto a la posición de salida D, la cual es la que se encontraba más cercana al pasillo con la nueva ruta durante la prueba nueva ruta, desde este punto de salida se observa una tendencia de los animales de los grupos RI y RE a girar  $90^\circ$  a la izquierda, dirigiéndose hacia la zona central, a diferencia de los animales del grupo EE, que realizan un giro de  $180^\circ$  dirigiéndose hacia el lado oeste del pasillo central. En el caso de F, los animales del grupo RI y RE realizaron giros de  $90^\circ$  a la izquierda dirigiéndose a la zona central del laberinto, mientras que los animales de grupo EE tendieron a realizar giros de  $180^\circ$  dirigiéndose a la esquina sureste del laberinto,

tendencia que se observa de manera similar en la posición de salida F de la prueba nueva ruta.

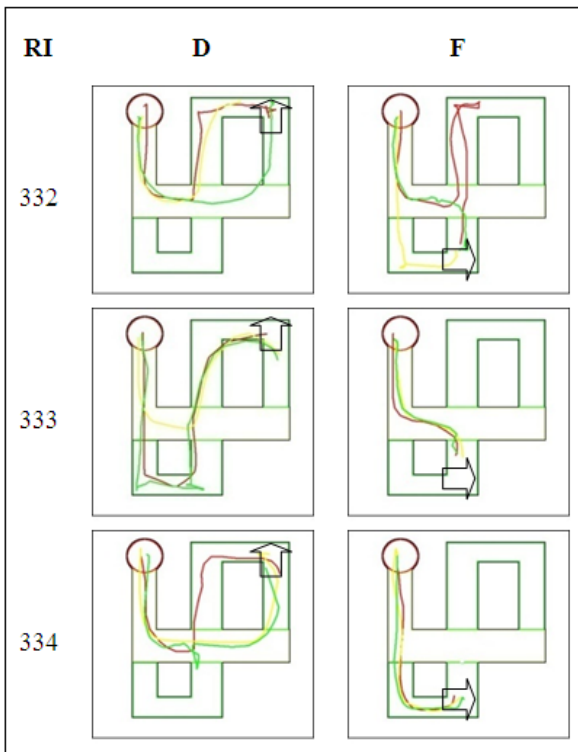
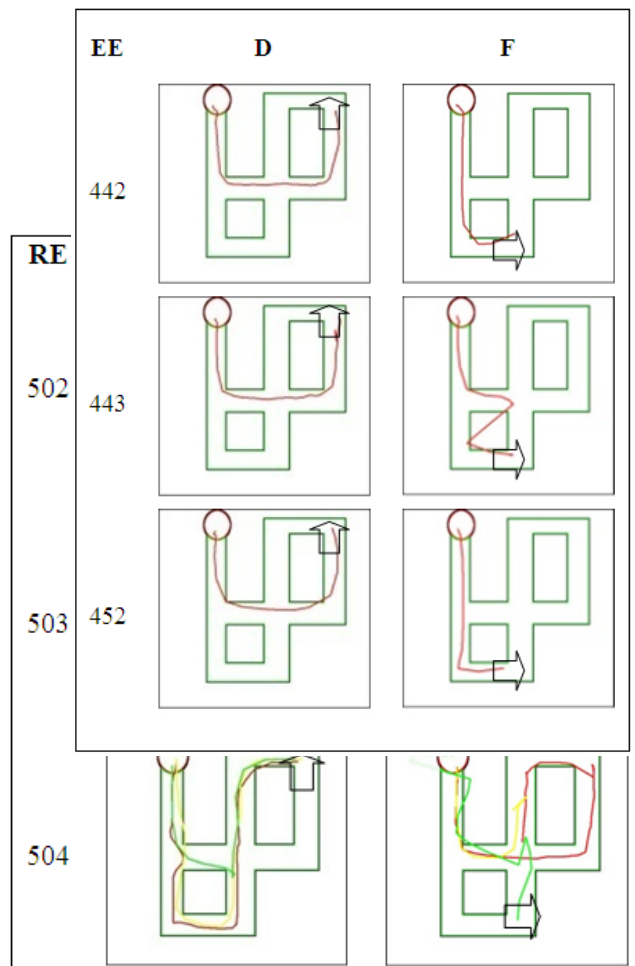


Figura 34. Recorrido que presentaron los sujetos del grupo ruta con pistas internas durante la prueba de varias salidas, apareciendo en cada laberinto tres ensayos con el mismo punto de salida. El laberinto se encuentra delineado en verde, en el cual el círculo rojo delinea la zona meta, y el punto de salida se encuentra marcado con una flecha que indica la posición en que fue colocada la rata. Los pasillos de la ruta entrenada aparece delineada en amarillo y el de la nueva ruta en azul. En la parte superior de cada laberinto aparece marcado con una letra (D, F) el tipo de salida.

Figura 35. Recorrido que presentaron los sujetos del grupo espacial con pistas externas durante la prueba de varias salidas, apareciendo en cada laberinto tres ensayos con el mismo punto de salida. El laberinto se encuentra delineado en verde, en el cual el círculo rojo delinea la zona meta, y el punto de salida se encuentra marcado con una flecha que indica la posición en que fue colocada la rata. En la parte superior de cada

Figura 36. Recorrido que presentaron los sujetos del grupo ruta con pistas externas durante la prueba de varias salidas, apareciendo en cada laberinto tres ensayos con el mismo punto de salida. El laberinto se encuentra delineado en verde, en el cual el círculo rojo delinea la zona meta, y el punto de salida se encuentra marcado con una flecha que indica la posición en que fue colocada la rata. En la parte superior de cada laberinto aparece marcado con una letra (D, F) el tipo de salida.



Las latencias que mostraron los animales durante la prueba varias salidas (Figura 37) presentan diferencias intergrupales, (EE  $M=9.0s \pm 1.18$  > RE  $M=5.3s \pm 0.24$  > RI  $M=3.9s \pm 0.84$ ;  $F_{2, 9} = 6.86$ ,  $p = 0.028$ ), siendo el grupo EE el que exhibió una latencia más alta que los grupos RI y RE, resultando una diferencia significativa entre RI y EE ( $p=0.011$ ). A diferencia de las tendencias que se mostraron en la prueba nueva ruta donde el grupo de ruta con pistas externas (RE) era el que mostraba la mayor latencia, en este caso el grupo que tardó más, significativamente, en llegar al bebedero fue el grupo EE.



Figura 37. Promedio de la latencia por grupo, el día de la prueba varias salidas



Al analizar las latencias de llegada al bebedero en la prueba varias salidas por posición de salida (Figura 38) observamos diferencias significativas entre RI y EE ( $p=0.004$ ) en la posición de salida D ( $F_{2,9}= 9.89$ ;  $p=0.012$ ). La mayor la latencia fue la expresada por el grupo EE. En el caso de la posición F, no se presentaron diferencias significativas.

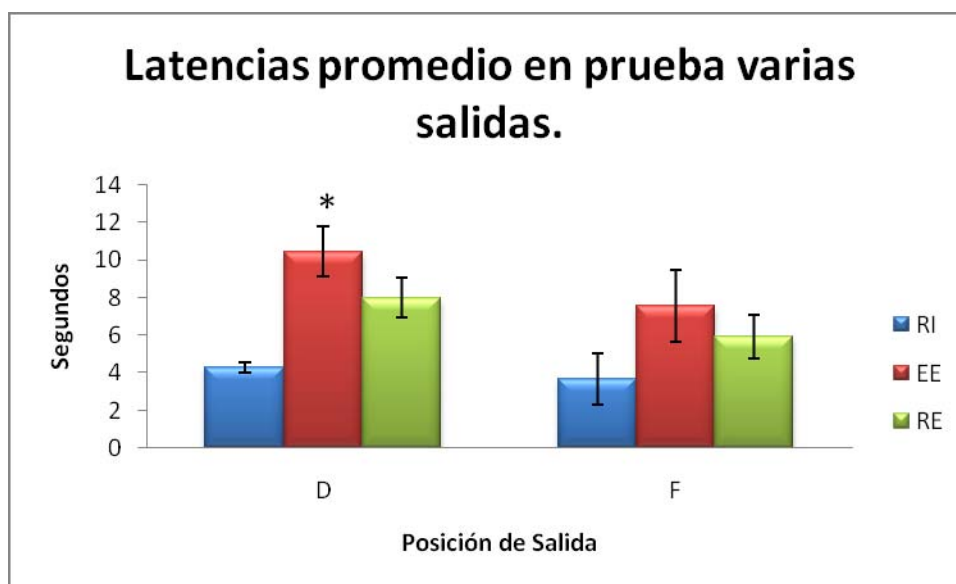


Figura 38. Promedio de la latencia por tipo de salida, el día de la prueba varias salidas. El asterisco señala las diferencias significativas entre el grupo RE y EE.

Las distancias que mostraron los animales durante la prueba varias salidas, al igual que en la prueba nueva ruta no resultaron significativas (RI  $M=219.32\pm 3.8$  > EE  $M=204.25\pm 7.6$  > RE  $M=201.21\pm 3.3$ ) (Anexo 3).

En la conducta de titubeo en la prueba varias salidas para las posiciones D y F (Figura 39) no se observaron diferencias significativas (Figura 39): resultó de 11% para los grupos RI y EE por igual, y mayor para el grupo de RE con un 44%.

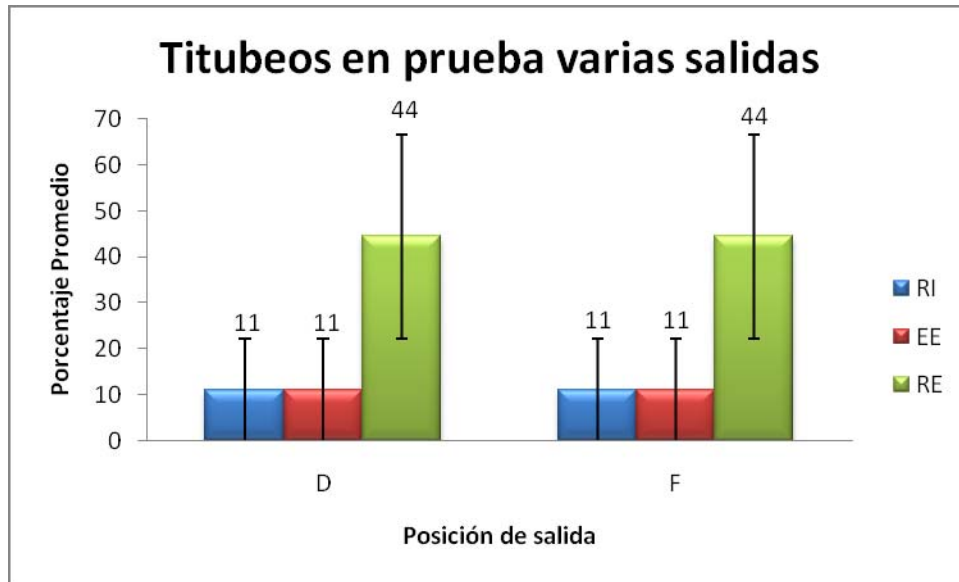


Figura 39. Frecuencia promedio grupal obtenido para las conducta de titubeo por posición de salida el día de la prueba varias salidas.

El porcentaje de elección de la ruta entrenada en la prueba varias salidas (Figura 40) mostró diferencias significativas entre los grupos, únicamente en la posición de salida D ( $H= 5.95$ ;  $p=0.04$ ); el grupo EE presentó un porcentaje del 100%, seguido del grupo RI con un porcentaje cercano al 50% y el grupo RE presentó un 0%. Se observó una clara diferencia entre los grupos RI y RE ( $p=0.033$ ) y entre EE y RE ( $p=0.003$ ). En la posición F se observa que la proporción de esta conducta para el grupo EE es la más alta, acercándose al 100% y que los otros dos grupos se mantuvieron en un intermedio  $M=56\%$  (RI  $\pm 36$ ; RE  $\pm 11$ ).

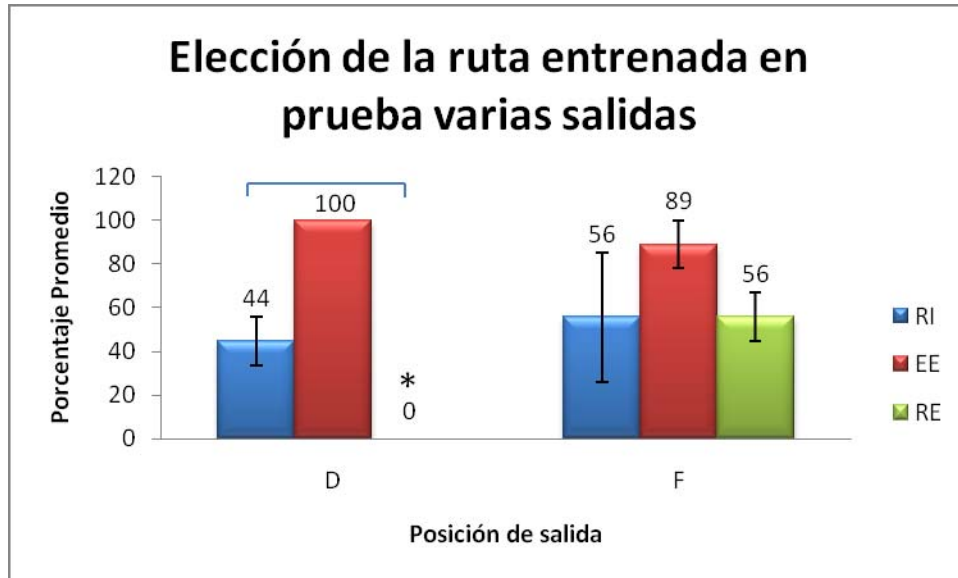


Figura 40. Promedio grupal del porcentaje de elección de la ruta entrenada obtenido por posición de salida el día de la prueba varias salidas. El asterisco señala las diferencias significativas entre el grupo RE y EE, mientras que el corchete las diferencias entre RE y RI

En la prueba varias salidas (Figura 41) los grupos mostraron las mismas tendencias que mostraron en la conducta de errores en la prueba nueva ruta: mayor cantidad por el grupo RE, seguido del grupo EE y, por último, el grupo RI. El grupo EE no mostró errores, a diferencia de 4% ( $\pm 6$ ) que mostró en la prueba nueva ruta. Los demás grupos se mantuvieron en un nivel de errores similar entre las pruebas.

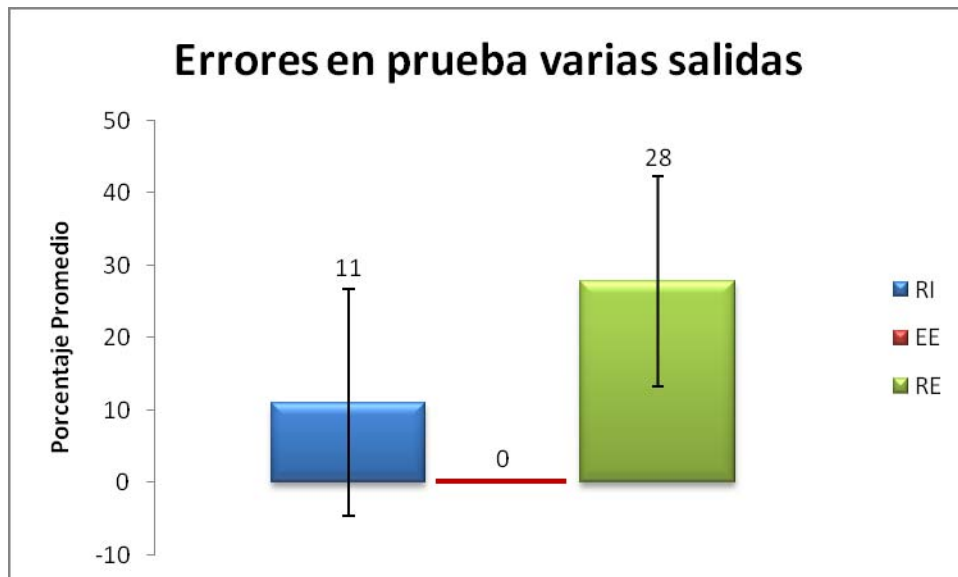


Figura 41. Promedio grupal del porcentaje de errores obtenido por posición de salida el día de la prueba varias salidas.

### *Día del sacrificio*

En la prueba conductual del día del sacrificio las ratas ejecutaron la prueba de tipo ruta de una manera similar a la manera en que ejecutaban en las sesiones inmediatamente anteriores (Figura 42, 43 y 44).

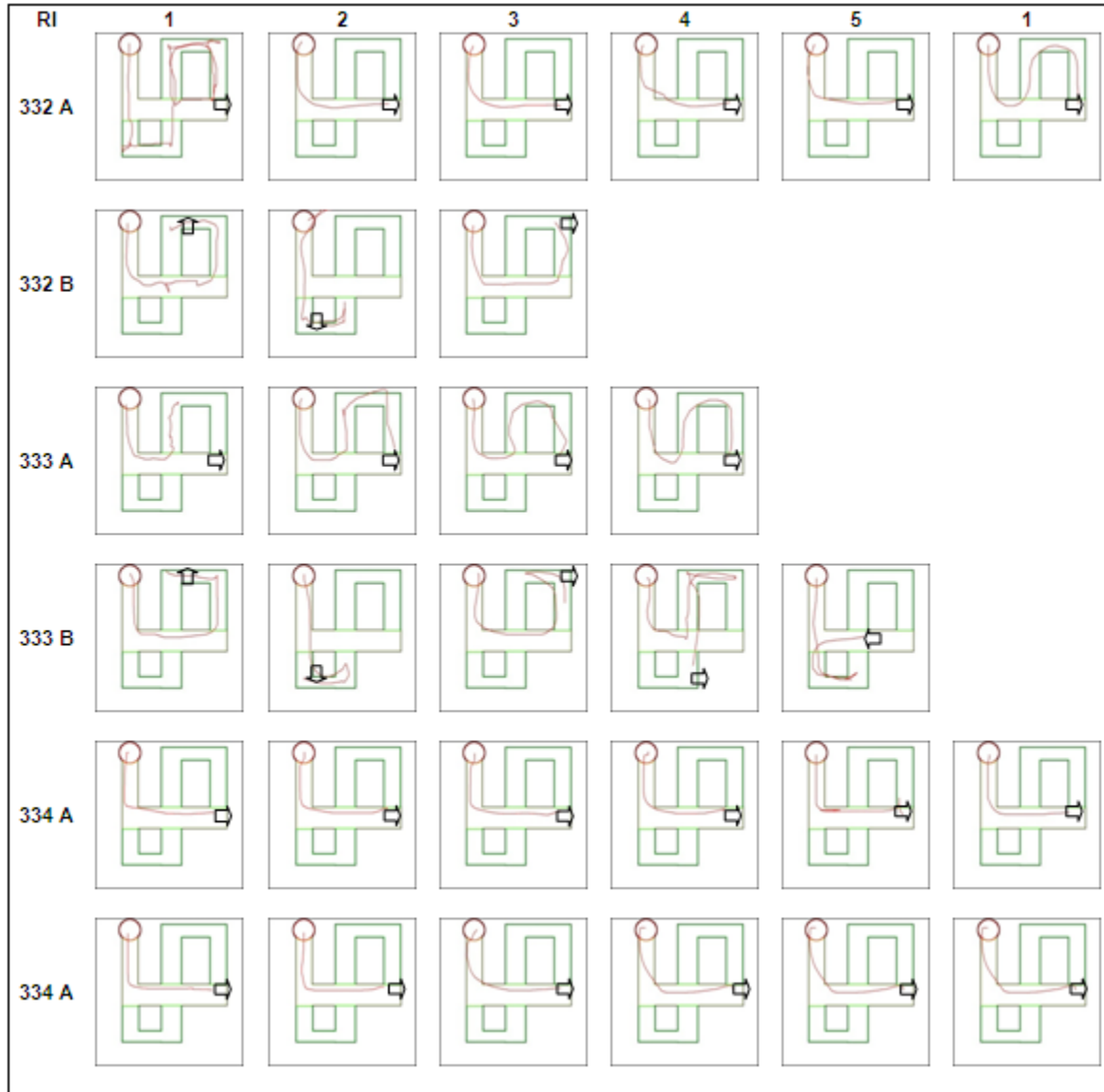


Figura 42. Recorrido que presentaron los sujetos del grupo Ruta con pistas internas durante las pruebas conductuales realizadas el día del sacrificio, la A con el mismo punto de salida, y la B con diferentes puntos de salida, apareciendo en cada laberinto un ensayo. El laberinto se encuentra delineado en verde, en el cual el círculo rojo delinea la zona meta, y el punto de salida se encuentra marcado con una flecha que indica la posición en que fue colocada la rata. En la parte superior de cada laberinto aparece marcado con un número (1-5) el tipo de salida. Las imágenes de laberinto faltantes son ensayos en los cuales el sistema de registro falló en arrojar el dibujo del recorrido.

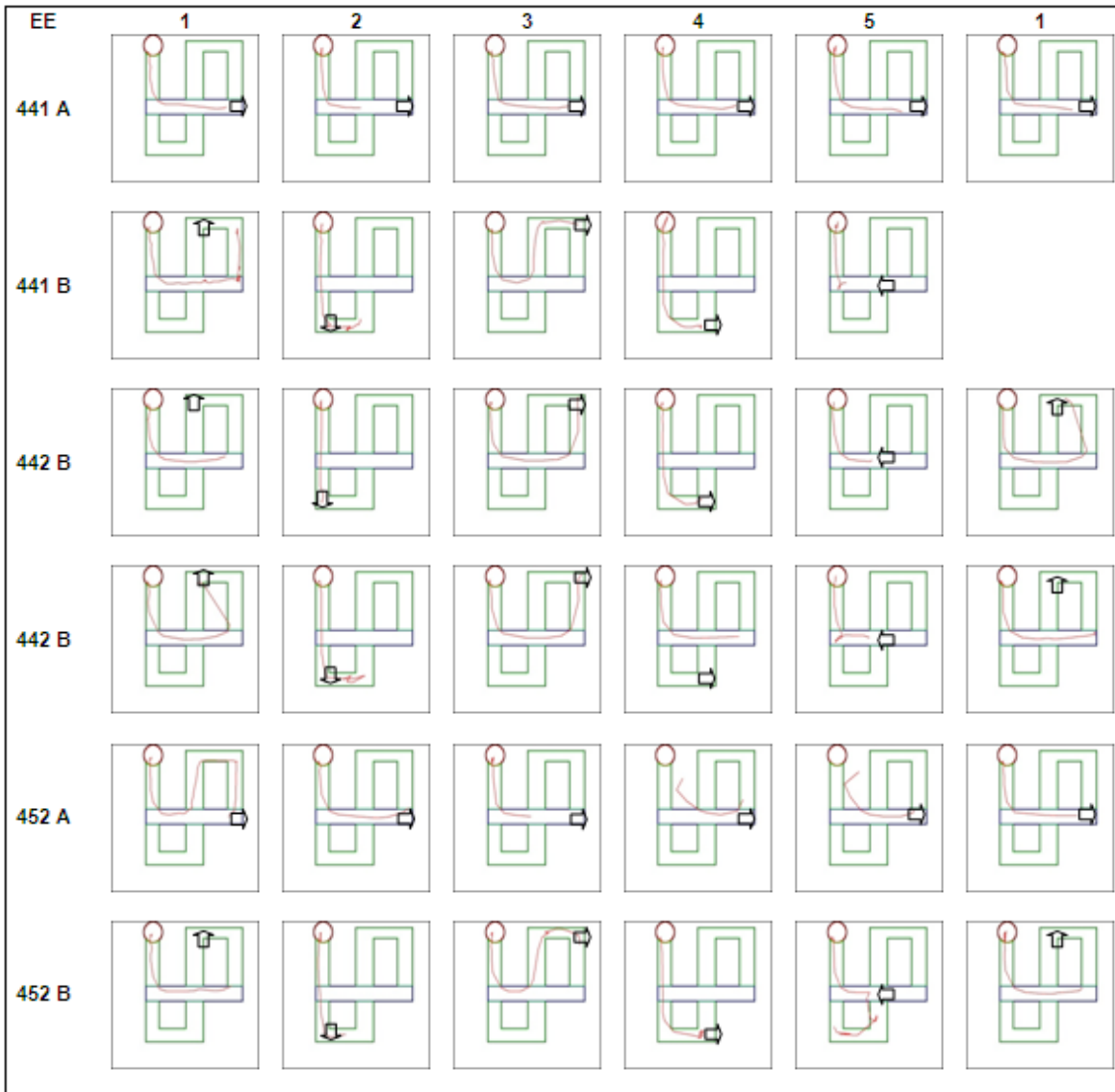


Figura 43. Recorrido que presentaron los sujetos del grupo Espacial con pistas externas durante las pruebas conductuales realizadas el día del sacrificio, la A con el mismo punto de salida, y la B con diferentes puntos de salida, apareciendo en cada laberinto un ensayo. El laberinto se encuentra delineado en verde, en el cual el círculo rojo delinea la zona meta, y el punto de salida se encuentra marcado con una flecha que indica la posición en que fue colocada la rata. En la parte superior de cada laberinto aparece marcado con un número (1-5) el tipo de salida. Las imágenes de laberinto faltantes son ensayos en los cuales el sistema de registro falló en arrojar el dibujo del recorrido.

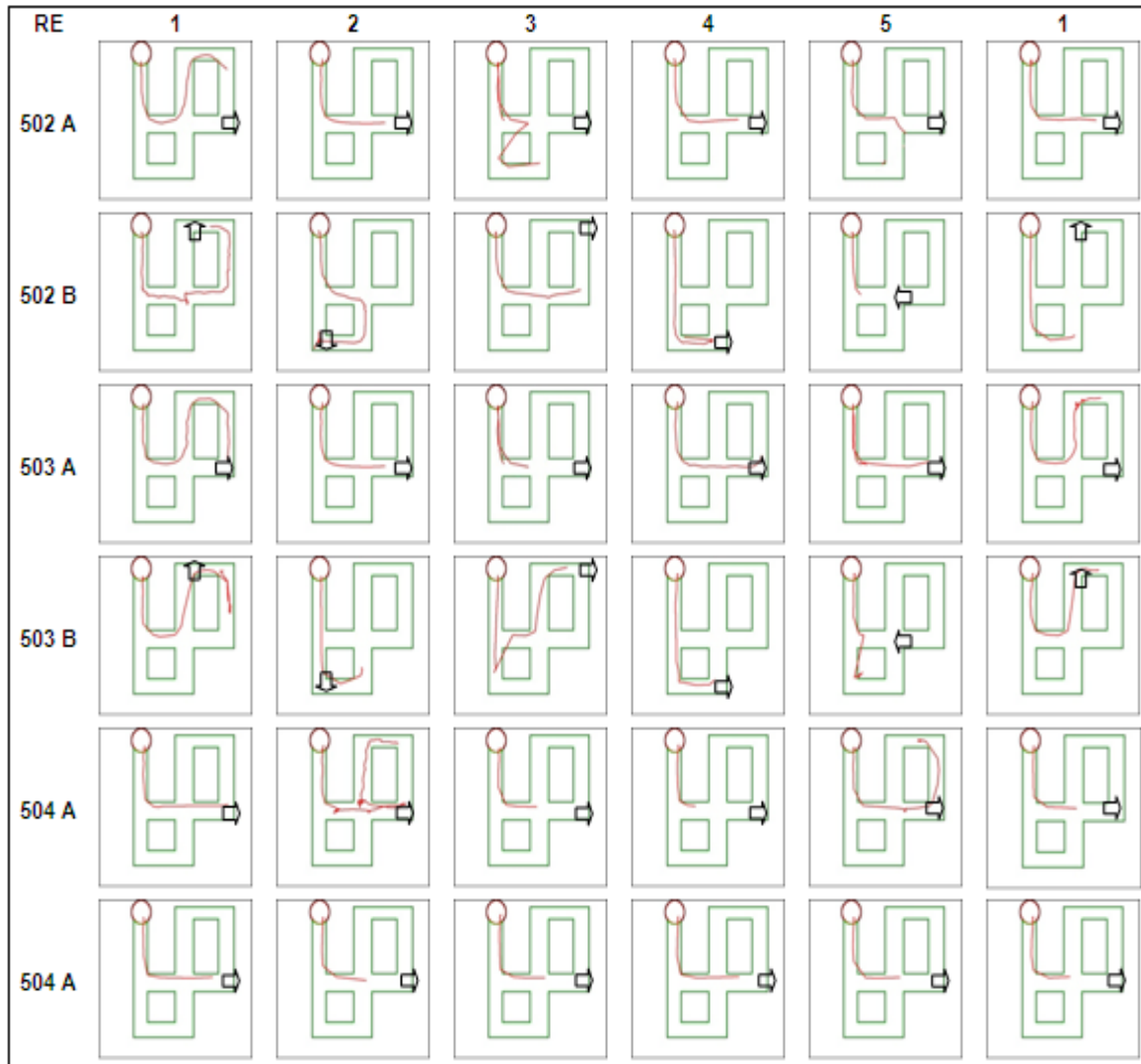


Figura 44. Recorrido que presentaron los sujetos del grupo Ruta con pistas externas durante las pruebas conductuales realizadas el día del sacrificio, la A con el mismo punto de salida, y la B con diferentes puntos de salida, apareciendo en cada laberinto un ensayo. El laberinto se encuentra delineado en verde, en el cual el círculo rojo delinea la zona meta, y el punto de salida se encuentra marcado con una flecha que indica la posición en que fue colocada la rata. En la parte superior de cada laberinto aparece marcado con un número (1-5) el tipo de salida.

Las latencias que mostraron los animales durante la prueba conductual del día del sacrificio (Figura 45) no presentan diferencias significativas entre grupos; en A se observaron latencias similares a las de los últimos días del entrenamiento (RE  $M=6.6s\pm 1.9$  > RE  $M=9.1s\pm 2$  > EE  $M=9.3s\pm 1$ ), y en B se observaron latencias mayores y las mismas tendencias (RI  $M=8.9s\pm 4.5$  > RE  $M=13.2s\pm 3.4$  > EE  $M=15s\pm 4$ ). Las barras de error nos muestran en B (en el cual el procedimiento fue espacial) una mayor variabilidad.

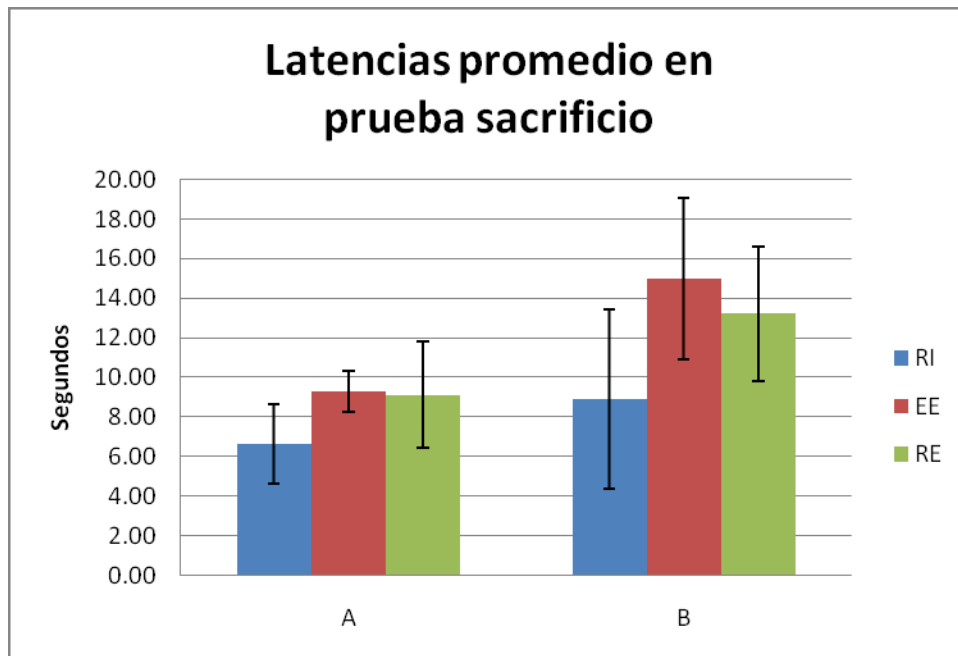


Figura 45. Promedio de la latencia por grupo, el día de la prueba sacrificio en la exposición conductual A con procedimiento de ruta, y B con procedimiento espacial.

### *Resultados histológicos*

Las imágenes obtenidas por medio del microscopio de fluorescencia muestran a primera vista una mayor saturación de la señal de Arc (en rojo) en los animales expuestos a la exploración espacial en comparación con los controles (Figura 46).

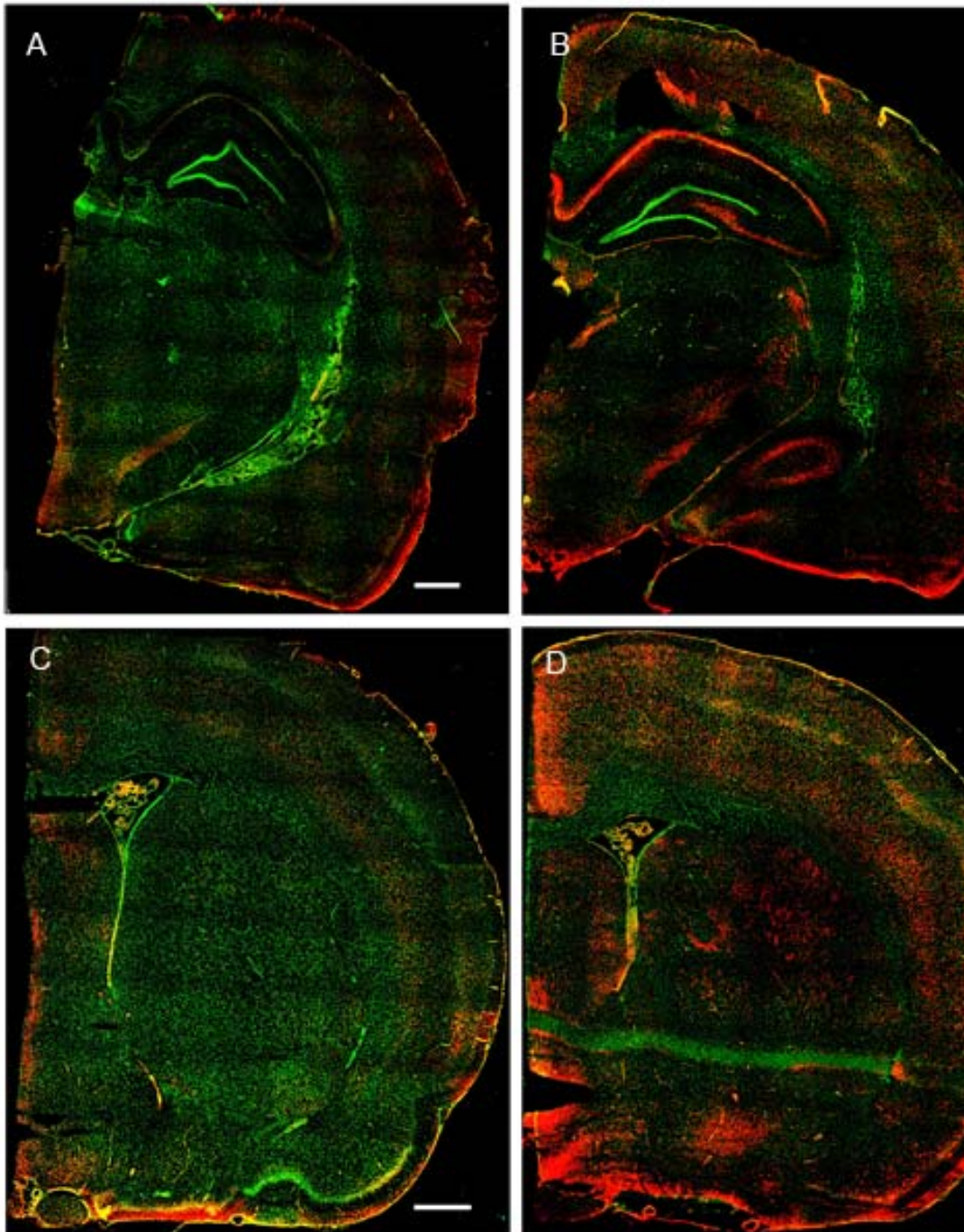


Figura 46. Mosaicos reconstruidos de imágenes obtenidas por el microscopio Apotome, se presenta el corte completo de 4 cerebros, A y B de la misma altura correspondiente a hipocampo; y C y D de la misma altura correspondiente a estriado. A y C de cerebros control y B y D de cerebros experimentales del grupo RE. La línea blanca indica una escala de 1000  $\mu\text{m}$ .

El ANOVA factorial para el índice del área de señal de Arc en las diferentes subregiones estriatales mostró diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (Figura 47). En el estriado dorsal se pudo observar una expresión



significativamente mayor de la proteína de Arc ( $F_{3, 11}=10.36$ ;  $p= 0.0001$ ) en el grupo de RI con respecto al grupo de EE ( $p= 0.007$ ). A su vez, la actividad de los grupos RI y RE fue significativamente mayor con relación a la del grupo control ( $p< 0.0001$  y  $p= 0.0003$ , respectivamente). La magnitud de la expresión de Arc en el grupo RE indica que su actividad oscila entre la observada en los dos grupos RI y EE.

En el estriado ventral ( $F_{3, 11}=4.237$ ;  $p=0.014$ ) se observó una activación sin diferencias significativas entre el grupo EE, el grupo RE y el control, destacando una expresión de la proteína de Arc significativamente menor del grupo RI con respecto al grupo EE ( $p= 0.002$ ). Al igual que en el caso anterior, la tendencia de la actividad del grupo RE, muy similar a la del grupo control, parece oscilar entre el intervalo de magnitud de actividad expresado entre el grupo EE y RI.

En el estriado lateral se observó una mayor expresión de la proteína Arc en los grupos RI y EE con respecto al control ( $F_{3, 11}=5.58$ ;  $p=0.004$ ). Los grupos entrenados no mostraron diferencias significativas entre sí.

En el estriado medial se observó una expresión de la proteína de Arc significativamente mayor ( $F_{3, 11}=10.58$ ;  $p<.0001$ ) en el grupo RI con respecto al grupo EE ( $p= 0.003$ ), y una vez más, la tendencia de la actividad del grupo RE parece oscilar entre el intervalo de magnitud de expresión entre el grupo RI y EE. La magnitud de la expresión de Arc en el grupo control, al igual que en el estriado dorsal es significativamente menor con respecto a los grupos entrenados por procedimiento de ruta (RI-C,  $p< 0.0001$ ; RE-C,  $p= 0.003$ ).

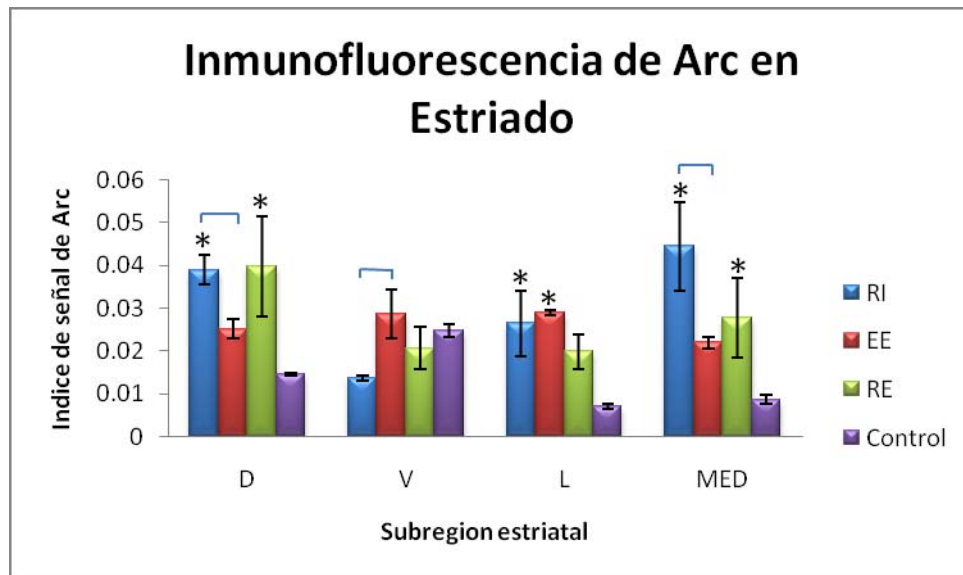


Figura 47. Índice (área activada/área total) promedio del área en píxeles medida por el ROI de señal inmunofluorescente para la proteína del gen Arc en las diferentes subregiones estriatales para los diferentes grupos. D=dorsal; V=ventral; L=lateral; MED=medial.

En las diferentes regiones hipocampales (Figura 48), el ANOVA factorial para el índice del área de señal de Arc mostró diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. En la capa inferior del giro dentado ( $F_{3, 11}=5.083$ ;  $p=0.0067$ ) se observó una tendencia de menor expresión de la proteína de Arc para el grupo EE con respecto a los otros dos grupos experimentales. Se observó una mayor expresión de Arc en los grupos entrenados con respecto al control, siendo significativa en los grupos RI ( $p= .001$ ) y RE ( $p= 0.004$ ).

En la capa superior del giro dentado se observó una expresión significativamente diferente ( $F_{3, 11}=9.968$ ;  $p=0.0002$ ). El grupo RI presentó una mayor expresión de Arc con respecto al grupo EE ( $p= 0.0004$ ). Las diferencias significativas con respecto se observaron en el caso de RI ( $p< 0.0001$ ) y RE ( $p= 0.004$ ).

En la región de CA1 ( $F_{3, 11}=12.670$ ;  $p<0.0001$ ) se observó una tendencia de menor expresión de la proteína de Arc en el grupo EE, en comparación con RI y RE, los cuales mostraron una magnitud de expresión similar. En esta subregión las diferencias significativas se presentaron con respecto al control en los tres grupos entrenados (RI-C,  $p< 0.0001$ ; EE-C,  $p= 0.0004$ ; RE-C,  $p< 0.0001$ ).

En CA3 se observó en general una magnitud de expresión menor a la presentada en CA1. De igual forma que en CA1 y giro dentado, en CA3 se

observó una expresión menor del grupo EE con respecto a los grupos entrenados por procedimientos de ruta ( $F_{3, 11}=6.537$ ;  $p=0.0019$ ). De manera similar a la expresión en estriado dorsal y medial la tendencia de la actividad del grupo RE parece oscilar entre el intervalo de magnitud expresada por los grupos EE y RI. La expresión de los grupos entrenados es mayor con respecto al control, siendo esta diferencia significativa para RI ( $P= 0.0005$ ) y RE ( $P= 0.002$ ).

En la región del subículo ( $F_{3, 11}=11.716$ ;  $p<0.0001$ ) se encontró la mayor expresión de los grupos RI y EE conforme a las demás regiones hipocampales, y las tendencias de expresión mostraron en este caso una mayor similitud entre la magnitud de expresión de los grupos RI y EE. El grupo RI se presentó por única ocasión con la menor magnitud de expresión, aunque similar a la expresión de EE. Las diferencias con respecto al control se presentaron en todos los grupos (RI y EE  $p< 0.0001$ ; RE  $p= 0.0006$ ).

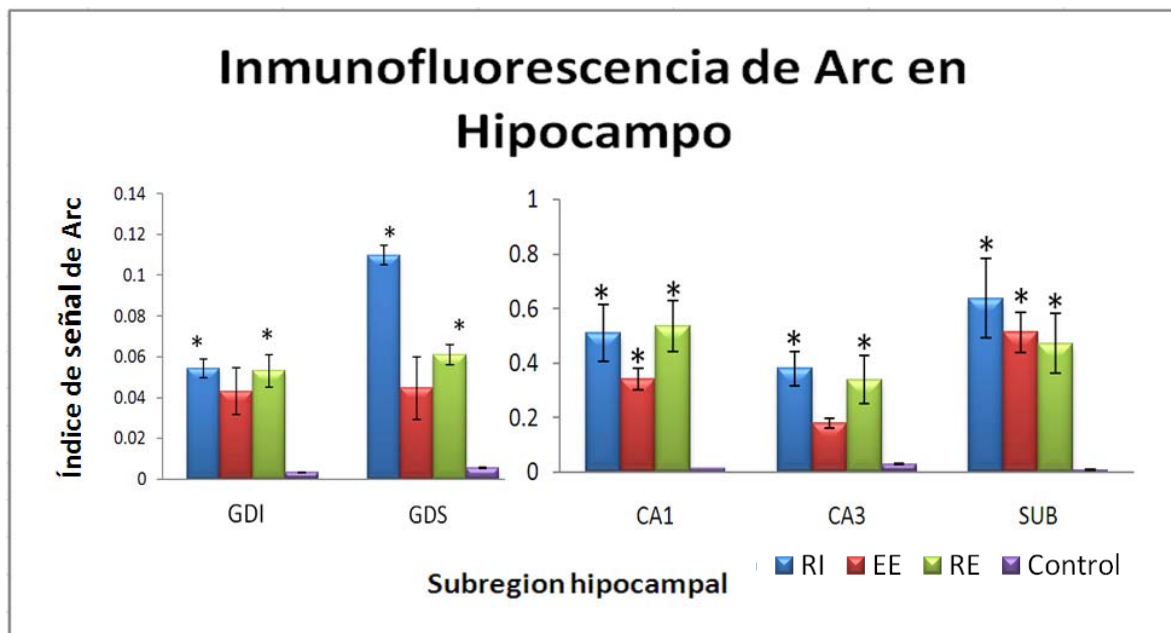


Figura 48; Muestra el índice (área activada/área total) promedio del área en píxeles medida por el ROI de señal inmunofluorescente para la proteína del gen Arc en las diferentes subregiones hipocampales para los diferentes grupos. GDI=giro dentado inferior; GDS=giro dentado superior; SUB=subículo.

### Discusión.

El objetivo de nuestra investigación fue distinguir si las diferentes condiciones ambientales y de procedimiento a lo largo de tareas de navegación

eran capaces de inducir diferencialmente un aprendizaje por rutas o uno espacial, así como el estudiar cómo están asociados estos diferentes tipos de aprendizaje con ciertas estructuras cerebrales. Los resultados conductuales obtenidos nos permitieron observar la adquisición de diferentes estrategias para la resolución de una tarea de navegación bajo dos procedimientos distintos, que se les adjudica ser dependientes de la actividad de dos sistemas diferentes de memoria, uno espacial y uno de respuesta. Además, la actividad neuronal cuantificada nos permitió observar que las diferentes condiciones del entrenamiento indujeron una expresión característica de Arc en estos dos sistemas que involucran importantemente al hipocampo y al estriado.

En primer lugar, la adquisición de una ruta hacia la meta establecida en las ratas del grupo entrenado por ruta con pistas internas, al salir de un punto único de salida, requirió de más sesiones de entrenamiento con respecto al grupo entrenado espacialmente. Lo anterior es consistente con la idea de que un entrenamiento de ruta requiere del establecimiento de programas de conducta motora automatizados (hábitos), como resultado de la creación de memoria procedimental o motora (Packard y McGaugh, 2007).

El establecimiento de este tipo de programas motores tipo hábito, requiere la creación de conexiones fronto-cortico-estriatales (Wise et al., 1996), acorde con la idea de la función que tienen las conexiones directas y somatotópicamente organizadas entre el estriado lateral dorsal con la corteza motora para el establecimiento de un aprendizaje de respuestas motoras poco flexibles (Crutcher y Alexander, 1990). Los circuitos cortico-estriatales, en especial los infra-límbicos y los sensoriomotores con el estriado dorsolateral, parecen participar en la transición a procesos de decisión que implica conductas tipo hábito asociados con aprendizaje sensoriomotor (Balleine et al., 2007). En contraste con el establecimiento de estas respuestas, los aprendizajes espaciales requieren inclusive de una sola exposición a un ambiente rico en información espacial, para que el sistema neuronal principalmente definido por el sistema hipocampal, establezca alguna memoria contextual (Cammarota et al., 2005; Miyashita et al., 2009).

Por otro lado, las latencias del grupo entrenado por procedimiento de ruta con pistas internas fueron menores durante todo el entrenamiento. Este dato puede ser una evidencia conductual que indique el uso de una estrategia estriatal eficaz, basada en movimientos automatizados y utilizando solamente asociaciones entre la información cinestésica con pequeñas señales visuales, como en el caso de aprendizaje asociativo de tipo E-R (Mizumori et al., 2000). Se puede sugerir que este tipo de aprendizaje egocéntrico resulta en conductas con menor posibilidad de variación y, por ello, de menor latencia.

Una mayor latencia de respuesta en las tareas espaciales puede estar relacionada con un procesamiento de información neural enfocado a la toma de decisiones, consistente a lo que expresan Johnson et al. (2007), ya que al observar la conducta de animales en un aparato de entrenamiento espacial, detectaron que los animales realizan pausas en puntos de decisión, durante las cuales orientan sus sistemas sensoriales hacia diferentes opciones potenciales. Ellos consideran que este tipo de conducta representa el aprendizaje vicario de prueba y error o VTE (por sus siglas en inglés, Vicarious Trial Error) cuando se presenta en las primeras fases del entrenamiento anteriores a la automatización.

La mayor latencia de los animales entrenados espacialmente una latencia puede deberse así, a que su conducta no automatizada requiere de un mayor procesamiento de toma de decisiones implicado en conductas de tipo VTE, las cuales se han relacionado con la actividad del hipocampo en estudios anteriores como el de Hu y Amsel (1995, citado en Johnson et al., 2007).

En nuestro experimento, durante la prueba conductual nueva ruta, observamos que las ratas entrenadas con el procedimiento espacial tendían a tomar la nueva ruta más veces desde varios puntos de salida aunque esta no fuera la ruta más directa en todos los casos. Esto supone una conducta más flexible que la expresada por las ratas entrenadas con procedimiento de ruta. Consistente con las hipótesis de O'Keefe y Nadel (1978) y con los experimentos de Tolman (1948), las ratas con un mapa más amplio del ambiente, como las entrenadas espacialmente, fueron entonces capaces de generar no sólo rutas más cortas o atajos sino también nuevas rutas. Así, parece claro que un animal que ha

tenido la oportunidad de aprender diferentes formas de llegar a una meta en un espacio y, por tanto, mantiene una representación más completa del mismo, es capaz de utilizar varias de las conductas eficaces posibles para resolver un laberinto que tiene disponibles diferentes rutas posibles de llegada a una meta. Esto es acorde con diseños experimentales previos, que indujeron una conducta espacial egocéntrica o allocéntrica (DeLeonibus, et al., 2005), o un aprendizaje de respuesta o de lugar (Gill, et al., 2007), dependiendo de si la rata ingresaba al aparato desde el mismo punto de partida o desde distintos puntos respectivamente.

Durante la prueba conductual nueva ruta se observó una proporción de errores, titubeos y latencias de ejecución más alta, así como una menor elección de la ruta entrenada por parte de las ratas entrenadas con procedimientos de ruta, indicando una mayor exploración del ambiente. Sugiero que dichas diferencias son debidas a que estas ratas no lograron una representación completa del laberinto, al no tener la oportunidad de asociar durante el entrenamiento diferentes puntos de salida dentro del laberinto con la meta, y por tanto requirieron de una mayor exploración del laberinto durante la prueba para poder encontrar algún punto asociado a la ruta que habían establecido.

Las conductas de titubeo manifiestan una especial importancia para indicar la estrategia cognitiva utilizada, las cuales coincidieron en su definición operacional con las conductas llamadas de tipo VTE por Johnson et al. (2007). Siguiendo la idea de Johnson et al., considero que al momento que la rata realiza un titubeo, estaría realizando una toma de decisiones; por tanto, la mayor cantidad de titubeos que se presentó en las ratas entrenados por ruta, durante la prueba nueva ruta, se debe a que necesitaron realizar mayor procesamiento para la toma de decisiones al ser expuestos a situaciones novedosas en el mismo ambiente.

Entonces, y acorde con nuestras hipótesis, los titubeos son evidencia que indica el tipo de mapa espacial que poseían nuestras ratas: un “mapa angosto” para los grupos de ruta y un “mapa completo” para los grupos espaciales. Acorde con ello, las diferencias en las estrategias de navegación entre nuestros grupos se presentaron para el grupo espacial, el cual desde el punto de partida D no exhibió

titubeo alguno y al mismo tiempo presentó una cantidad notable de cruces por el nuevo pasillo, lo que sugiere un amplio conocimiento del laberinto por parte de estos animales.

Durante la prueba de la nueva ruta, el grupo entrenado por ruta con pistas internas realizó un porcentaje de cruces por el nuevo pasillo desde la posición de salida D mayor al que presentaron los otros dos grupos. Pese a que esta conducta de tomar atajos en un principio parece ser opuesta a las hipótesis del trabajo, es perfectamente consistente con la idea de que las ratas de ese grupo exhibieran conductas de tipo E-R debido a un aprendizaje de asociación entre pequeñas pistas con puntos exactos del recorrido en el laberinto (White, 2004). Las ratas entrenados por ruta generan una representación puntual del espacio y, dado que en la posición de la salida D tenían visibilidad del bebedero meta desde su punto de salida, considero que se dirigieron directo al mismo, ya que éste fungió como clave de lugar. Lo cual es congruente con la hipótesis de Bennet (1996) de que los animales son incapaces de adquirir representaciones completas del espacio (tipo mapa cognitivo) y en cambio crean asociaciones entre claves de lugar y posiciones específicas (tipo aprendizaje E-R). Bennet, por lo tanto, sugería que si un animal tenía visibilidad de las claves de lugar asociadas a un punto meta desde un punto distinto al habitual, era capaz de tomar otras rutas más directas hacia la meta.

Los casos en que observamos que la rata se dirigió directo a alguna pista visible relacionada con punto de la ruta que había aprendido, constituyen datos que apoyan la hipótesis de la capacidad de los animales para tomar atajos utilizando un sistema de memoria de tipo E-R. Este suceso no se presentó con el grupo RE, probablemente a causa de que este grupo se le entrenó con una cantidad pobre de pistas cercanas y, por tanto, no le fue posible establecer de manera exitosa asociaciones entre la meta y pistas cercanas como el bebedero.

Se puede considerar que el rendimiento mostrado por el grupo RE, durante las primeras fases del entrenamiento, estuvo mediado por una estrategia de aprendizaje espacial, en este las pistas externas son asociadas con toda una zona del laberinto, es decir, existe una representación global del espacio. A medida de

que fue avanzado el entrenamiento, debido a que la rata salía siempre del mismo punto de salida, se debió de haber establecido una estrategia de ruta, o de acuerdo con otros estudios, un aprendizaje de respuesta como resultado de la práctica (Chang y Gold, 2002; Packard y McGaugh, 1996); reflejando un cambio de memoria declarativa a memoria procedimental o de hábito (Packard, 1999). Al momento de la prueba con la nueva ruta, la rata llegó al reforzador siguiendo la ruta que utilizaba habitualmente, desde los puntos iniciales de la misma, orientándose con la cantidad limitada de pistas locales del laberinto y de pistas inespecíficas externas del mismo, debido a que el aprendizaje resultante del entrenamiento se inclina hacia una estrategia de navegación por ruta con una pobre asociación de las conductas con las pistas espaciales. Las condiciones del entrenamiento resultaron para el grupo RE en una ejecución con mayor cantidad de errores, latencia más alta y una cantidad nula de cruces por el nuevo pasillo durante la prueba nueva ruta, así como en una mayor cantidad de titubeos durante ambas pruebas, mostrando ser el grupo con la ejecución más deficiente.

Las conductas en la prueba de varias salidas se presentaron muy similares a las obtenidas durante la prueba nueva ruta, observándose en este caso que el grupo EE mostró una menor cantidad de errores como era esperado. Del mismo modo el grupo RE fue el que cometió una mayor cantidad de errores y titubeos, sólo que en este caso el grupo EE no presentó errores, posiblemente porque no existía ningún cambio en la configuración de laberinto que dificultara su ejecución y porque tuvo una representación mucho más rica sobre el laberinto.

La evidencia conductual obtenida apoya parcialmente la hipótesis de Collet y Graham (2004) acerca del establecimiento de una estrategia de ruta cuando existe una mayor cantidad de pistas egocéntricas y una pobre cantidad de alocéntricas; y el establecimiento de una estrategia de tipo espacial cuando las pistas en mayor cantidad o más sobresalientes son alocéntricas. La excepción a la hipótesis de Collet y Graham (2004) se observa en las conductas inducidas como resultado del entrenamiento del grupo RE, en el cual la cantidad de pistas alocéntricas era mayor pero el procedimiento fue de ruta. Las conductas que refleja el grupo RE no parecen guiarse por una estrategia claramente definida, ya



que durante ambas pruebas exhiben una conducta de búsqueda del centro del laberinto al inicio de la prueba, lo que coincide con una estrategia espacial; aunque posteriormente realizaron una conducta motora inflexible para llegar a la meta, que coincide con una estrategia de ruta. Esta combinación de estrategias alude a la discusión acerca de la interacción que puede existir entre los sistemas estriatal e hipocampal, que abordaré más adelante.

Al respecto de los resultados histológicos, en general se observó una cantidad significativamente mayor de la proteína Arc en el hipocampo y en el estriado de los grupos experimentales con respecto al control (con excepción del estriado ventral). Esto sugiere que ambas estructuras presentan actividad eléctrica de alta frecuencia durante la tarea de navegación a la que fueron sometidos los animales el día del sacrificio y, por tanto, sabemos que participan en el procesamiento de información para las conductas de navegación que indujimos en los tres grupos. La detección de proteína Arc apoya en este sentido la noción de que ambas estructuras están activas durante la resolución de tareas espaciales (Mizumori, 2004) y que realizan un manejo paralelo de diferentes tipos de información (Martel et al., 2007). Esta actividad paralela parece resultar en una interacción dinámica en la cual el sistema más adaptado a la resolución de la tarea es el que provee la eferencia conductual (Martel et al., 2007), lo cual puede ser observado en el caso de nuestros animales para los que las estrategias de navegación fueron distintas entre los grupos.

La actividad hipocampal para los grupos experimentales se mostró inversa a las hipótesis iniciales del trabajo, puesto que se mantuvo una mayor actividad promedio para el grupo de procedimiento de ruta con claves internas y una menor para el grupo espacial. Para explicar este resultado a primera vista contradictorio, podemos apoyarnos en los resultados de Guzowsky et al. (2001) y Gill, et al. (2007), los cuales también encontraron expresión de genes inmediatos en el hipocampo de animales que aprendieron procedimientos de respuesta y no encontraron diferencias significativas entre la expresión en estos animales y la observada en animales que aprendieron procedimientos de lugar. Según esta hipótesis, el sistema hipocampal está involucrado en la adquisición y

mantenimiento de diferentes tipos de información necesaria para las tareas de navegación, la cual es utilizada en paralelo con la información que utiliza el sistema estriatal para el establecimiento y mantenimiento de los aprendizajes de respuesta. Consistente con las conclusiones de Compton (2004), ambos sustratos neuroanatómicos están involucrados con la adquisición y mantenimiento de diferentes tipos de información y lo realizan en paralelo.

Al analizar las diferencias subregionales de ambas estructuras se observaron algunos resultados relevantes. En el hipocampo, en el área de la capa superior del giro dentado se presentó una mayor expresión para el grupo con estrategia de ruta a diferencia del grupo espacial. Previamente se ha mostrado una diferencia en la expresión de Arc entre ambas capas del hipocampo, vinculando a la capa superior del giro dentado con actividad conductual espacial (pero no con actividad general o novedosa); en contraste, las células de la capa inferior del giro dentado no respondieron a este tipo de conductas (Chawla et al., 2005). Así, pues, nuestros datos muestran una activación de las capas del giro dentado acorde con lo esperado para el grupo espacial y una expresión mayor en el grupo RI, dato que podría indicar algún tipo de función de la capa superior del giro dentado en el uso de una estrategia de tipo ruta; o por otro lado, y como discutiremos más a detalle, también para las demás regiones del hipocampo, una mayor cantidad de neuronas activadas en el sistema hipocampal para el grupo RI por un escaso refinamiento de la red hipocampal en estos animales dado que se valieron más de la red estriatal.

A diferencia del hipocampo, el estriado mostró en general un área proporcionalmente mayor de activación, tanto en los grupos experimentales como en los controles, apareciendo entonces como una estructura con una mayor actividad de transcripción basal de la proteína Arc. La magnitud de activación en el estriado dorsal y medial se presentó similar entre los grupos control y espacial, y mayor para los grupos de ruta, señalando que la actividad de estas regiones está relacionada con una estrategia de ruta (Hartley y Burgess, 2005); o la existencia de una referencia conductual más fuerte en los aprendizajes de respuesta, consistente con lo que sugieren los resultados de Gill et al. (2007).

En otros estudios se ha diferenciado la actividad del estriado de manera general, encontrando diferencias entre las regiones ventral y dorsal (Schultz et al., 1998; De Leonibus et al., 2006; Wickens, 2007). En nuestro caso, observamos en la actividad de subregiones del estriado dorsal y medial una expresión diferencial entre los grupos similar a la esperada –mayor para los grupos de ruta y menor para los grupos control y espacial-, lo que sugiere que estas subregiones están más fuertemente relacionadas con los aprendizajes de ruta. En el estriado dorsal-lateral no se encontraron diferencias entre los grupos, pero si con respecto al control, probablemente debido a la función de señalización temporal de presencia de refuerzo que se le adjudica a esta zona (Wickens et al., 2007). En el estriado ventral se encuentra una expresión similar al control, para los grupos de ruta, además se observó una expresión significativamente mayor para el grupo EE con respecto al RI, dato que podría estar señalando la participación del estriado ventral en las memorias espaciales aloécnicas, como ya habían observado De Leonibus et al. (2006).

Las diferencias en el área de señal de Arc en hipocampo están sujetos a dos fenómenos importantes; el primero versa acerca de una menor actividad en hipocampo observada en el grupo espacial al compararlo con los grupos de respuesta, fenómeno que propongo se debe a un proceso de refinamiento de la red (Hebb, 1949 citado 2002; Sakurai, 1999) hipocampal para el grupo espacial. Siguiendo la idea que nos presentó Packard (1999), los animales del grupo espacial (EE) y los del grupo de ruta (RI), debieron de iniciar el entrenamiento utilizando el sistema hipocampal y en algún momento el grupo de ruta realizó un cambio de estrategia a una estriatal; mientras tanto el grupo espacial refinaba la red neural hipocampal (Sakurai et al., 1999). El segundo fenómeno se presenta con respecto a la actividad que muestra el grupo de ruta con pistas externas al laberinto, el cual presenta una magnitud de área activada oscilante entre la del grupo de ruta y la del grupo espacial (la cual considero oscilante y no solo intermedia ya que su dispersión se acerca a la magnitud de activación de ambos grupos), en el estriado dorsal, medial y en el área CA3 del hipocampo. Dicha actividad oscilante coincide con la presencia de características conductuales de

este grupo que le hacen oscilar entre estrategias de navegación de ruta y espaciales, y coincide también con las características del entrenamiento, las cuales combinan un procedimiento de ruta con claves espaciales. Este grupo muestra una actividad intermedia tanto en hipocampo como en estriado, lo cual supone un uso de ambos sistemas de memoria para la resolución de la tarea espacial, mostrando una interacción entre ambos sistemas.

La naturaleza de la interacción entre ambos sistemas para este grupo aún no se muestra clara: podría ser cooperativa (White y Mc Donald, 2002), como resultado del uso de una combinación entre estrategias, valiéndose de la mayor cantidad de información allocéntrica y egocéntrica posible cuando la cantidad de ambos tipos de información no es suficiente por sí sola; o competitiva (Da Cunha et al., 2007; Compton, 2004), al presentarse una interferencia entre la referencia conductual de un sistema y otro, resultando en el uso de una u otra estrategia de manera alternante, sin mostrarse alguna de las dos con la suficiente práctica como para resultar la estrategia más efectiva.

La actividad en las diferentes subregiones hipocampales mostrada en los tres grupos sustenta una actividad paralela de ambos sistemas, lo que indica su interacción en las conductas de navegación en general. La naturaleza de esta interacción no ha sido mostrada totalmente en el presente estudio y puede ser puesta a prueba en posteriores estudios mediante la lesión o inactivación de alguno de los sistemas en ratas entrenadas con procedimientos de ruta o espaciales, entonces al realizar pruebas conductuales podremos observar una mejoría en la ejecución en comparación a la de controles entrenados, si la interacción fuera de interferencia o, por el contrario, una ejecución pobre o menor en el caso de una interacción cooperativa. Sería de interés realizar esta inactivación de las estructuras antes del entrenamiento y durante diferentes puntos del mismo en otro experimento similar para observar la naturaleza de la interacción de estas estructuras en la adquisición y mantenimiento de estrategias de navegación, así como para observar si existe algún efecto de cambio de estrategia resultante de la práctica.

El presente estudio muestra limitaciones en la manera de inducir de manera totalmente irrefutable la inducción de diferentes estrategias de navegación en un mismo laberinto y de demostrar de la misma manera el establecimiento de una u otra de las estrategias, problema que se ha presentado de manera constante en este tipo de trabajos. Por tanto deja con sus limitaciones la necesidad de realizar posteriores estudios que presenten análisis más profundos o más eficaces al respecto de las conductas y se controlen de diferentes maneras la inducción de diferentes estrategias de navegación para así develar cada vez más tanto el sustrato neural que da como resultado las conductas de navegación, así como los mecanismos implicados en la representación del espacio.

Finalmente, con respecto al método de cuantificación de proteína de Arc que utilizamos, queda para futuras incursiones el refinamiento cuantitativo de las diferencias que observamos entre las estructuras y sus subregiones. La cuantificación de cada área puede ser realizada por medio de un conteo con resolución celular, con el cual obtendremos una cantidad total de células y la proporción de células positivas para señal de proteína de Arc. Dichos datos mostrarán de manera más fina el uso diferencial de cada red neuronal bajo cada condición experimental y permitirán probar la confiabilidad de esta nueva técnica de cuantificación que hemos generado. La cual resultaría entonces en un gran avance metodológico que nos permitirá estimar cantidades de neuronas activadas ante un evento conductual, en amplias regiones cerebrales del animal intacto, e inclusive mapear la actividad del cerebro completo susceptible a reconstrucciones tridimensionales.

### ***Conclusiones***

El presente estudio resulta en datos que apoyan la noción de una necesaria interacción entre la actividad de estructuras del sistema nervioso para la integración de una conducta de navegación, específicamente una interacción entre el hipocampo y el estriado.

Se logró diseñar un modelo conductual en un laberinto de pasillos que permite comparar el papel que juegan las pistas internas y externas en la

adquisición de una tarea dirigida a una meta. Al modificar el tipo de entrenamiento y el contexto espacial, definido por el tipo de señales que el animal tenía disponibles para guiar su recorrido, logramos obtener datos de la interacción entre el sistema de navegación de ruta, o procedimiento, y el sistema de navegación espacial, o también llamado de lugar.

Se detectó que cuando se entrena a ratas para utilizar una estrategia de ruta combinada con pistas externas, los individuos presentan un deterioro significativo para resolver la tarea cuando ésta se encuentra modificada en algún aspecto (en el caso de este trabajo por la posibilidad de una nueva ruta o la salida desde un punto distinto al utilizado en el entrenamiento).

Observamos que ratas entrenadas en condiciones que inducen un aprendizaje de tipo ruta y las entrenadas espacialmente son capaces de tomar una nueva ruta de llegada a la meta, sin ser necesario que esta conducta refleje una estrategia cognitiva espacial, en las ratas de los grupos de ruta que tomaron el atajo al reconocer claves de lugar familiares.

La actividad neuronal cuantificada por medio de una técnica de inmunohistoquímica que detecta la proteína de un gen de expresión inmediata temprana llamado Arc produjo evidencia neuroanatómica que indica la participación funcionalmente diferencial de las neuronas hipocampales y estriatales en las diferentes condiciones de navegación; nos permitió observar la inducción de un grado característico de activación de las redes hipocampales y estriatales dependiendo cada condición experimental del entrenamiento.

La actividad en el área dorsal y el área medial del estriado dorsal están relacionadas en la ejecución de tareas de navegación guiadas por claves egocéntricas. La actividad de las subregiones hipocampales al momento de ejecutar tareas de navegación tanto egocéntricas como aloécnicas, sustenta una actividad paralela de los sistemas estriatales e hipocampales.

El nivel intermedio de actividad en hipocampo y estriado que presentó el grupo entrenado con procedimiento de ruta en presencia de claves aloécnicas, comparado contra el grupo espacial y el de ruta, indica una interacción entre sistemas que proponemos como cooperativa.

## **Referencias.**

- Amaral, D. G. y Witter, M. P. (1989). The three-dimensional organization of the hippocampal formation: a review of anatomical data. *Neuroscience*. 31, 571-591.
- Amaral, D. G. y Witter, M. P. (1995). Hippocampal formation. En Paxinos G y Watson CH (Eds), 1982. *The rat Brain in Sterotaxic Coordinates*. New York: Academic Press.
- Andrzejewski, M. E., Sadeghian, K. y Kelley, A. E. (2004). Central amygdalar and dorsal striatal NMDA receptor involvement in instrumental learning and spontaneous behavior. *Behavioral Neuroscience*. 118(4), 715-729.
- Bailey, C. H. y Kandel, E. R. (1993). Structural changes accompanying memory storage. *Annual Review of Physiology*. 55, 397-426.
- Balleine, B. W., Delgado, M. R. y Hikosaka, O. (2007). The Role of the Dorsal Striatum in Reward and Decision-Making. *The Journal of Neuroscience*. 27(31), 8161-8165.
- Barrera, A. y Weitzenfeld, A. (2008). Biologically inspired Robot Spatial Cognition based on rat Neurophysiological Studies. *Autonomous Robots*, Springer Netherlands, DOI 10.1007/s10514-007-9074-3
- Barrera, A., Weitzenfeld, A. (2007). Rat-inspired Model of Robot Target Learning and Place Recognition. *Proceedings of the Mediterranean Conference on Control and Automation (MED)*, Athens, Greece.
- Barnes, C. A., McNaughton, B. L., Mizumori, S.J., Leonard, B.W. y Lin, L.H. (1990). Comparison of spatial and temporal characteristics of neuronal activity in sequential stages of hippocampal processing. *Progress Brain Research*. 83, 287-300

- Benhamou, S. (1997) Path integration by swimming rats. *Animal Behaviour* 54, 321-327
- Bennett, A. T. D. (1996) Do animals have cognitive maps?. *The Journal of Experimental Biology*. 199, 219-224
- Bliss, T. V. y Lomo, T. (1973). Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *Journal of Physiology*. 232, 331-356.
- Bonini, J. S., Da Silva, C., Bevilaqua, L. R. M., Medina, J. H., Izquierdo, I. y Cammaroto, M. (2007). On the participation of hippocampal PKC in acquisition, consolidation and reconsolidation of spatial memory. *Neuroscience*. 147, 37-45.
- Bortolotto, Z. A. y Collingridge, G. L. (1993). Characterisation of LTP induced by the activation of glutamate metabotropic receptors in area CA1 of the hippocampus. *Neuropharmacology*. 32, 1-9.
- Burgess, N., Jackson, A., Hartley, T. y O'Keefe, J. (2000). Predictions derived from modeling the hippocampal role in navigation. *Biological Cybernetics*. 83, 301-312.
- Burke, S. N., Chawla, M. K., Penner, M.R., Crowell, B.E., Worley, P.F., Barnes, C.A. y McNaughton, B. L. (2005). Differential encoding of behavior and spatial context in deep and superficial layers of the neocortex. *Neuron*. 45, 667-674.
- Cammarorta, M., Bevilaqua, L. R. M., Köhler, C., Medina, J. H. y Izquierdo, I. (2005). Learning twice is different from learning once and from learning more. *Neuroscience*. 132, 273-279



- Carlson, N. (2000). "Fisiología de la Conducta"(4ta edición). Barcelona: Ariel
- Chang, Q. y Gold, P. E. (2003). Intra hippocampal lidocaine injections impair acquisition of a place task and facilitate acquisition of a response task in rats. *Behaviour Brain Research*. 144, 19-24
- Chawla, M. K., Guzowski, J. F., Ramirez-Amaya, V., Lipa, P., Hoffman, K. L., Marriott, L. K., Worley, P. F., McNaughton, B. L. y Barnes, C. A. (2005). Sparse, environmentally selective expression of Arc RNA in the upper blade of the rodent fascia dentata by brief spatial experience. *Hippocampus*. 15(5), 579-86
- Collett, T. S. y Graham, P. (2004). Animal Navigation: Path Integration, Visual Landmarks and Cognitive Maps. *Current Biology*. 14, 475–477.
- Compton, D. (2004). Behaviour strategy learning in rat: effects of lesions of the dorsal striatum or dorsal hippocampus. *Behavioural Processes*. 67, 335-342
- Da Cunha, C., Wietzikoski, S., Wietzikoski, E. C., Silva, M. H., Chandler, J. Jr., Ferro, M. M., Andreatini, R. y Canteras, N. S. (2007). Pre-training to find a hidden platform in the Morris water maze can compensate for a deficit to find a cued platform in a rat model of Parkinson's disease. *Neurobiology of Learning and Memory*. 87(4), 451-63.
- Da Cunha, C., Wietzikoski, S., Wietzikoski, E. C., Miyoshi, E., Ferro, M. M., Anselmo-Franci, J. A., Cantera, N. S. (2003). Evidence for the substancia nigra pars compacta as an essential component of a memory system independent of the hippocampal memory system. *Neurobiology of Learning and Memory*. 79, 236-242

- De Leonibus, E., Oliverio, A., Mele, A. (2005). A study on the role of dorsal striatum and the nucleus accumbens in allocentric and egocentric spatial memory consolidation. *Neurobiology of Learning and Memory*. 12, 491-503
- Eschenko, O., Mizumori, S.J.Y. (2007). Memory influences on hippocampal and striatal neural codes: Effects of a shift between task rules. *Neurobiology of Learning and Memory*. 87, 495-509
- Etienne, A.S., Jeffrey, K.J. (2004). Path integration in mammals. *Hippocampus*.14: 180–192
- Fields, R. D., Lee, P. R. y Cohen, J. E. (2005). Temporal integration of intracellular Ca<sup>2+</sup> signaling networks in regulating gene expression by action potentials. *Cell Calcium*. 37, 433-442.
- Gengler, S., Mallot, H.A., Hölscher, C. (2005). Inactivation of the rat dorsal striatum impairs performance in spatial tasks and alters hippocampal theta in freely moving rat. *Behavioral Brain Research*. 164, 73-82
- Gill, K.M., Bernstein, I.L., Mizumori, S.J.Y. (2007). Immediate early gene activation in hippocampus and dorsal striatum: Effects of explicit place and response training. *Neurobiology of Learning and Memory*. 87, 583-596
- Gold, C., Henze, D.A., Koch, C., Buzsáki, G. (2006). On the origin of the extracellular action potential waveform: A modelling study. *Journal of Neurophysiology*. 95(5), 3113-28.
- Guzowski, J. F., McNaughton, B. L., Barnes. C. A. y Worley, P. F. (1999). Environment-specific expression of the immediate-early gene Arc in hippocampal neuronal ensembles. *Nature Neuroscience*. 2, 1120-1124.

- Guzowski, J. F., Lyford, G. L., Stevenson, G. D., Houston, F. P., McGaugh, J. L., Worley, P. F. y Barnes, C. A. (2000). Inhibition of activity-dependent Arc protein expression in the rat hippocampus impairs the maintenance of long-term potentiation and the consolidation of long-term memory. *Journal of Neuroscience*. 20, 3993-4001.
- Guzowski, J. F., Setlow, B., Wagner, E. K., & McGaugh, J. L. (2001). Experience-dependent gene expression in the rat hippocampus after spatial learning: a comparison of immediate early genes Arc, c-fos, and zif268. *Journal of Neuroscience*. 21, 5089–5098.
- Guzowski, J. F., Knierim, J. J. y Moser E. I. (2004). Ensemble dynamics of hippocampal regions CA3 and CA1. *Neuron*. 44, 581-584.
- Hartley, T., Burgess, N. (2005). Complementary memory systems: competition, cooperation and compensation. *Trends of Neuroscience*. 28(4), 169-70.
- Hebb D. (1949) "The organization of behavior; A neuropsychological theory" New York: J. Wiley 1964. Ed 2002.
- Hippocampal pathways (2003). Recuperado el 15 de Julio 2009, de <http://www.bristol.ac.uk/synaptic/info/pathway/hippocampal.htm>
- Houk, J. C. and S. P. Wise (1995). Distributed modular architectures linking basal ganglia, cerebellum, and cerebral cortex: Their role in planning and controlling action. *Cerebral Cortex* 5, 95-110.
- Holscher, C. (2003). Time, space and hippocampal functions. *Reviews of Neuroscience*. 14, 253-284.

- Ishizuka, N., Weber, J. y Amaral, D. G. (1990). Organization of intrahippocampal projections originating from CA3 pyramidal cells in the rat. *Journal of Comparative Neurology*. 295, 580-623.
- Jaffe, D. B. y Gutierrez, R. (2007). Mossy fiber synaptic transmission: communication from the dentate gyrus to area CA3. *Progress Brain Research*. 163, 109-132.
- Jeffery, K. J. y Hayman, R. (2004). Plasticity of the hippocampal place cell representation. *Reviews of Neuroscience*. 15, 309-331.
- Johnson, A., van der Meer, M. A.A. y Redish, A. D. (2007) Integrating hippocampus and striatum in decision-making. *Current Opinion in Neurobiology*. 17, 692–697
- Kandel, E., Schwartz, J. y Jessell, T. (Eds) (2001). “Neurociencia y Conducta”. Madrid: Prentice Hall
- Kesner, R. P., Lee, I. y Gilbert, P. (2004). A behavioral assessment of hippocampal function based on a subregional analysis. *Neuroscience*. 15(5), 333-51.
- Kentros C., Hargreaves E., Hawkins R.D., Kandel E.R., Shapiro M., Muller R.V. (1998). Abolition of long-term stability of new hippocampal place cell maps by NMDA receptor blockade. *Science*. 280 (5372), 2121-2126.
- Klein, S., Hadamitzky, M., Koch, M. y Schwabe, K. (2004). Role of glutamate receptors in nucleus accumbens core and shell in spatial behaviour of rats. *Neuroscience*. (2), 229-38.
- Knierim, J. J., Lee, I. y Hargreaves, E. L. (2006). Hippocampal place cells: parallel input streams, subregional processing, and implications for episodic memory. *Hippocampus*. 16(9), 755-64.
- Lashley, K. S. (1931). Mass action in cerebral function. *Science*. 6(73), 245-254.

- Link, W., Konietzko, U., Kauselmann, G., Krug, M., Schwanke, B., Frey, U., Kuhl, D. (1995). Somatodendritic expression of an immediate early gene is regulated by synaptic activity. *Process Nature Academy of Science* . 92, 5734-5738.
- Lorenz, K. (1976). "Consideraciones sobre la conducta animal y humana". Barcelona: *Plaza and Janes*
- Lyford, G. L., Yamagata, K., Kaufmann, W. E., Barnes, C. A., Sanders, L. K., Copeland, N. G., Gilbert, D. J., Jenkins, N. A., Lanahan, A. A., Worley, P. F. (1995). Arc, a growth factor and activity-regulated gene, encodes a novel cytoskeleton-associated protein that is enriched in neuronal dendrites. *Neuron*. 14, 433-45.
- Malenka, R.C. y Nicolli, R.A. (1999). Long-term potentiation-apecade of progress? *Science*. 285, 1870-1874.
- Martinez, J. L. Jr y Derrick, B. E. (1996). Long-term potentiation and learning. *Annual Reviews of Psychology*. 47, 173-203
- Martel, G., Blanchard, J., Gastambide, F., Micheau, J. y Guillou, J. L. (2007). Dynamic interplays between memory systems depend on practice: The hippocampus is not always the first to provide solution. *Behavioral Neuroscience*. 150(4), 743-75
- Marr, D. (1971) Simple memory: a theory for archicortex. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B*. 262, 23-81.
- McDonald, R. J. y White, N. M.. (1994). Parallel information processing in the wather maze: evidence for independent momory systems involving dorsal striatum and hippocampus. *Behavioral Neural Biology*. 61, 260-270

- McIntyre, C. K., Marriot, L.K. y Gold, P.E. (2003) Patterns of brain acetylcholine release predict individual differences in preferred learning strategies in rats. *Neurobiology of Learning and Memory*. 79, 177-183
- McNaughton, B. L., Barnes, C. A., Gerrard, J. L., Gothard, K., Jung, M. W., Knierim, J. J., Kudrimoti, H., Qin, Y., Skaggs, W. E., Suster, M. y Weaver, K. L. (1996) Deciphering the hippocampal polyglot: the hippocampus as a path integration system. *Journal of Experimental Biology*. 199(1), 173-85
- McNamara, H. J., Long, J. B., y Wike, E. L. (1956). Learning without response under two conditions of external cues. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 49, 477–480.
- Middei, S., Restivo, L., Sgobio, C., Passino, E., Ammassari-Teule. (2004). Reversible inactivation of hippocampus and dorsolateral striatum in C57BL/6 and DBA/2 inbred mice failed to show interaction between memory systems in these genotypes. *Behavioural Brain Research*. 154, 527-534
- Miyashita, T., Kubik, S., Haghghi, N., Steward, O., Guzowski, J. F.(2009). Rapid activation of plasticity-associated gene transcription in hippocampal neurons provides a mechanism for encoding of one-trial experience. *Journal of Neuroscience*. 28;29(4), 898-906.
- Mizumori, S. J., Ragozzino, K. E., Cooper, B. G. y Leutgeb, S. (1999). Hippocampal representational organization and spatial context. *Hippocampus*. 9, 444–451.
- Mizumori, S. J. Y., Cooper, B. G., Leutgeb, S., y Pratt, W. E. (2000). A neural systems analysis of adaptive navigation. *Molecular Neurobiology*. 21, 57–82.

- Mizumori, S. J. Y., Yeshenko, O., Gill, K. M., Davis, D. M.. (2004) Parallel processing across neural systems: Implications for a multiple memory system hypothesis. *Neurobiology of Learning and Memory*. 82 278-298
- Morris R. G., Anderson, E., Lynch, G. S. y Baudry, M. (1986). Selective impairment of learning and blockade of long-term potentiation by an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, AP5. *Nature*. 319, 774-776.
- Muller, R. (1996). A Quarter of a Century of Place Cells. *Neuron*. 17: 979–990.
- O'Keefe, J. y Dostrovsky, J. (1971). The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. *Brain. Res.* 34, 171-5.
- O'Keefe, J. y Nadel, L. (1978). "The Hippocampus as a Cognitive Map". Oxford: Clarendon Press. Oxford, 1978.
- Packard, M. G. y Knowlton, B. J. (2002). Learning and memory functions of the Basal Ganglia. *Annual Review of Neuroscience*. 25, 563–593.
- Packard, M.G. y McGaugh, J.L. (1996) Inactivation of hippocampus or caudate nucleus with lidocaine differentially affects expression of place and response learning. *Neurobiology of Learning and Memory*. 65, 65-72
- Packard, M. G. y White, N. M. (1990). Lesions of the caudate nucleus selectively impair 'reference memory' acquisition in the radial maze. *Behavioral and Neural Biology*. 53, 39–50.
- Pastalkova, E., Serrano, P., Pinkhasova, D., Wallace, E., Fenton, A. A. y Sacktor, T. C. (2006). Storage of spatial information by the maintenance mechanism of LTP. *Science*. 25(313), 1141-4.

- Paxinos, G. y Watson, C. (1997). "The rat brain in stereotaxic coordinates". San Diego: Academic Press.
- Poldrack, R. A. y Packard, M. G. (2003). Competition among multiple memory systems: converging evidence from animal and human brain studies. *Neuropsychologia*. 41, 245-251
- Poucet, B. (1993). Spatial cognitive maps in animals: New hypotheses on their structure and neural mechanisms. *Psychological Review*. 100(2), 163-182.
- Qin, Y.L., McNaughton, B.L., Skaggs, W.E., Barnes, C.A. (1997) Memory reprocessing in corticocortical and hippocampocortical neuronal ensembles. *Philosophical Transactions of the Royal Society London Biological Science*. 352, 1525–1533.
- Ramírez-Amaya, V., Vazdarjanova, A., Mikhael, D., Rosi, S., Worley, P. F. y Barnes, C. A. (2005). Spatial exploration-induced Arc mRNA and protein expression: evidence for selective, network-specific reactivation. *Journal of Neuroscience*. 25, 1761-68.
- Ramírez-Amaya, V. (2007). Molecular mechanisms of synaptic plasticity underlying long-term memory formation. En *Neural Plasticity and Memory. From Genes to Brain Imaging*, Ed Bermudez-Rattoni F. CRC Press. Boca Raton FL USA.
- Ramos, J.M. (2000) Long-term spatial memory in rats with hippocampal lesions. *Eur J Neuroscience*. 12(9), 3375-84.
- Redgravé, P. (2007) Basal Ganglia. *Scholarpedia*. 2(6), 1825.



- Riedel, G. , Casabona, G. y Reymann, K. G. (1995). Inhibition of long-term potentiation in the dentate gyrus of freely moving rats by the metabotropic glutamate receptor antagonist MCPG. *Journal of Neuroscience*.15, 87-98.
- Sargolini, F., Roullet, P., Oliverio, A. y Mele, A. (2003). Effects of intra-accumbens focal administrations of glutamate antagonists on object recognition memory in mice. *Behavioral Brain Research*. 138(2), 153-63.
- Sakurai, Y. (1999). How do cell assemblies encode information in the brain? *Neuroscience Biobehavior Reviews*. 23, 785-796.
- Schultz W. (2006). Behavioral theories and the neurophysiology of reward. *Annu Rev Psychol*. 57:87-115. Review. Schultz, W. and Dickinson, A. Neuronal coding of prediction errors. *Annual Reviews of Neuroscience*. 23, 473-500 (2000).
- Schultz, W. (1988). Predictive reward signal of dopamine neurons. *Journal of Neurophysiology* 80, 1-27.
- Sherry, D. F. y Schacter, D. L. (1987). The evolution of multiple memory systems. *Psicological Review*. 94(4), 439-454
- Silva, A., Stevens, C., Tonegawa, S. y Wang, Y. (1992). Deficient Hippocampal long-term potentiation in  $\alpha$ -calcium-calmodulin Kinase II mutant mice. *Science*. 257, 201-206.
- Teather, L.A., Packard, M.G., Smith DE, Ellis-Behnke RG, Bazan NG. (2005) Differential induction of c-Jun and Fos-like proteins in rat hippocampus and dorsal striatum after training in two water maze tasks. *Neurobiology of Learning and Memory*. 84, 75-84

- Thompson, L. T. y Best, P. J. (1990). Long-term stability of the place-field activity of single units recorded from the dorsal hippocampus of freely behaving rats. *Brain Research*. 509, 299-308.
- Thompson, R. F. y Kim, J. J. (1996). Memory systems in the brain and localization of a memory. *Process Natl of the Academy of Science USA*. 93, 13438-13444.
- Tolman E. (1948) "Cognitive maps in rats and men." *The Psychological Review*. 55 (4), 189-208
- Vazdarjanova, A., McNaughton, B. L., Barnes, C.A., Worley, P. F. y Guzowski, J. F. (2002). Experience-dependent coincident expression of the effector immediate-early genes *arc* and *Homer 1a* in hippocampal and neocortical neuronal networks. *Journal of Neuroscience*. 22, 10067-10071.
- Vazdarjanova, A. y Guzowski, J. F. (2004). Differences in hippocampal neuronal population responses to modifications of an environmental context: evidences for distinct, yet complementary, functions of CA3 and CA1 ensembles. *J Neuroscience*. 24, 6489-6496.
- Weisz, D.J., Clark, G.A. y Thompson, R.F. (1984). Increased responsivity of dentate granule cells during inicitating membrane response conditioning in rabbit. *Behavioral Brain Research*. 12, 145-154.
- White, N.M. (2004). The role of stimulus ambiguity and movement in spatial navigation: A multiple memory systems analysis of location discrimination. *Neurobiology of Learning and Memory*. 82, 216–229
- White, N.M., McDonald, R.J. (2002) Multiple parallel memory systems in the brain of the rat. *Neurobiology of Learning and Memory*. 77, 125-184

Wickens, J.R., Budd, C.S., Hyland, B.I., Arbuthnott GW. (2007) Striatal contributions to reward and decision making: making sense of regional variations in a reiterated processing matrix. *Annals of the New York Academy of Science*.1104, 192-212.

Yeshenko, O., Guazzelli, A. y Mizumori, S.J.Y. (2004). Context dependent reorganization of spatial and movement representations by simultaneously recorded hippocampal and striatal neurons during performance of allocentric and egocentric tasks. *Behavioral Neuroscience*, 118, 751–769.

Yin, H.H., Knowlton, B.J. (2004). Contributions of striatal subregions to place and response learning. *Learning and Memory*. 11(4), 459-63.

## **Anexos**

### *Anexo1. Hipótesis estadísticas.*

1. H<sub>1</sub>: Las condiciones dentro de un laberinto con mayor cantidad de información aloctónica, a la par de un entrenamiento en el cual el animal llegue a la meta desde distintos puntos inducen un aprendizaje de lugar.  
H<sub>0</sub>: Las condiciones dentro de un laberinto con mayor cantidad de información aloctónica, a la par de un entrenamiento en el cual el animal llegue a la meta desde distintos puntos no inducen un aprendizaje de lugar.
  
2. H<sub>1</sub>: Las condiciones dentro de un laberinto con mayor cantidad de información aloctónica, a la par de un entrenamiento en el cual el animal llegue a la meta desde distintos puntos resultan en una mayor activación en las regiones hipocampales.  
H<sub>0</sub>: Las condiciones dentro de un laberinto con mayor cantidad de información aloctónica, a la par de un entrenamiento en el cual el animal llegue a la meta desde distintos puntos no resultan en una mayor activación en las regiones hipocampales.
  
3. H<sub>1</sub>: Las condiciones con mayor cantidad de claves de lugar inducen un aprendizaje de respuesta.  
H<sub>0</sub>:. Las condiciones con mayor cantidad de claves de lugar no inducen un aprendizaje de respuesta.
  
4. H<sub>1</sub>: Las condiciones con mayor cantidad de claves de lugar inducen activación de regiones estriatales.  
H<sub>0</sub>: Las condiciones con mayor cantidad de claves de lugar no inducen activación de regiones estriatales

5.  $H_1$ : Las condiciones con procedimientos de salida fija inducen un aprendizaje de respuesta.  
 $H_0$ : Las condiciones con procedimientos de salida fija no inducen un aprendizaje de respuesta.
6.  $H_1$ : Las condiciones con procedimientos de salida fija inducen activación de regiones estriatales.  
 $H_0$ : Las condiciones con procedimientos de salida fija no inducen activación de regiones estriatales
7.  $H_1$ : El establecimiento de un aprendizaje de lugar promueve la habilidad para tomar nuevas rutas.  
 $H_0$ : El establecimiento de un aprendizaje de lugar no promueve la habilidad para tomar nuevas rutas.
8.  $H_1$ : El establecimiento de un aprendizaje por ruta resultará en una conducta de llegada a la meta solamente mediante la ruta que se ha aprendido.  
 $H_0$ : El establecimiento de un aprendizaje por ruta no resultará en una conducta de llegada a la meta solamente mediante la ruta que se ha aprendido.

*Anexo 2. Distancias en prueba nueva ruta.*



Figura 49. Promedio de las distancias por grupo, el día de la prueba Nueva Ruta.

*Anexo 3. Distancias en prueba conductual varias salidas.*



Figura 50. Promedio de las distancias por grupo, el día de la prueba varias salidas.

## ***Índice de tablas y figuras.***

Figura 1. Conexiones Sinápticas y sus conexiones recurrentes.....	8
Figura 2. Potenciación a largo plazo (LTP) en la vía colateral de Schaffer a la región CA1 del hipocampo.....	11
Figura 3. Mecanismos moleculares por los cuales se produce y se mantiene la potenciación a largo plazo. ....	14
Figura 4: Un experimento hipotético de nuevas rutas o atajos. (Bennet, 1996).....	17
Figura 5. Modelo de la cognición espacial, basada en estudios neurobiológicos en ratas. (Barrera y Weitzenfeld, 2008).....	20
Figura 6. La red de trabajo del hipocampo .....	21
Figura 7. Campos receptivos espaciales de distintas neuronas en un ambiente de exploración.....	23
Figura 8: Componentes principales de los ganglios basales .....	26
Figura 9. Aferencias potencialmente convergentes al estriado dorsal.....	28
Figura 10. Resultados del estudio de Da Cunha et al., 2003.....	32
Figura 11. Resultados del estudio de Compton, 2004.. ....	34
Figura 12. Paradigma y resultados de Gill et al. (2007). ....	39
Figura 13. Hibridación in situ fluorescente para Arc y Homer1a.....	42
Figura 14. Proporción células con expresión de Arc en el giro dentado.....	43
Figura 15. Laberinto cíclico. ....	47
Figura 16. Procedimientos de entrenamiento de ruta o espacial. ....	49
Tabla 1. Tipo de tarea a la que fueron expuestas las ratas el día del sacrificio.....	51
Figura 17. Procedimientos de exhibición de tipo ruta o espacial para el día del sacrificio.....	51
Figura 19. Distribución de las muestras de hemisferios en el Bloque 1 y el Bloque 2 . ....	54
Figura 18. Procedimiento de construcción del bloque .....	1
Figura 20. Proceso de análisis de la imagen.....	56
Figura 21: Recorrido que presentaron los sujetos del grupo RI durante el entrenamiento con puntos de salida fijo. ....	59
Figura 22: Recorrido que presentaron los sujetos del grupo EE durante el entrenamiento con puntos de salida variable.....	59
Figura 23: Recorrido que presentaron los sujetos del grupo RE durante el entrenamiento con puntos de salida fijo. ....	60
Figura 24; Promedio grupal de la latencia de llegada al bebedero por sesión, a lo largo del entrenamiento y el día de las pruebas .....	61
Figura 25: Recorrido que presentaron los sujetos del grupo Ruta con pistas internas durante la prueba con la nueva ruta.....	62

Figura 26: Recorrido que presentaron los sujetos del grupo Espacial con pistas externas durante la prueba con la nueva ruta .....	63
Figura 27: Recorrido que presentaron los sujetos del grupo Ruta con pistas externas durante la prueba con la nueva ruta.....	63
Figura 28; Media de la latencia por grupo para el día de la prueba Nueva Ruta. ....	64
Figura 29; Media de la latencia por tipo de salida para el día de la prueba Nueva Ruta.....	65
Figura 30; Porcentaje promedio grupal obtenido para las conducta de titubeo por posición de salida el día de la prueba Nueva Ruta.. ....	66
Figura 31; Probabilidad promedio de elección de la ruta entrenada el día de la prueba Nueva Ruta.....	67
Figura 32; Promedio grupal del porcentaje de errores obtenido el día de la prueba Nueva Ruta.....	68
Figura 33; Promedio grupal del porcentaje de cruces por el pasillo de la nueva ruta obtenido por posición de salida el día de la prueba Nueva Ruta.....	69
Figura 34: Recorrido que presentaron los sujetos del grupo ruta con pistas internas durante la prueba de varias salidas .....	1
Figura 35: Recorrido que presentaron los sujetos del grupo espacial con pistas externas durante la prueba de varias salidas.....	1
Figura 36: Recorrido que presentaron los sujetos del grupo ruta con pistas externas durante la prueba de varias salidas .....	1
Figura 37; Promedio de la latencia por grupo, el día de la prueba varias salidas .....	71
Figura 38. Promedio de la latencia por tipo de salida, el día de la prueba varias salidas.....	72
Figura 39; Frecuencia promedio grupal obtenido para las conducta de titubeo por posición de salida el día de la prueba varias salidas.....	73
Figura 40; Promedio grupal del porcentaje de elección de la ruta entrenada obtenido por posición de salida el día de la prueba varias salidas.....	74
Figura 41; Promedio grupal del porcentaje de errores obtenido por posición de salida el día de la prueba varias salidas. ....	74
Figura 42: Recorrido que presentaron los sujetos del grupo Ruta con pistas internas durante las pruebas conductuales realizadas el día del sacrificio.....	75
Figura 43: Recorrido que presentaron los sujetos del grupo Espacial con pistas externas durante las pruebas conductuales realizadas el día del sacrificio.....	76
Figura 44: Recorrido que presentaron los sujetos del grupo Ruta con pistas externas durante las pruebas conductuales realizadas el día del sacrificio.....	77
Figura 45; Promedio de la latencia por grupo, el día de la prueba Sacrificio en la exposición conductual con procedimiento de ruta, y con procedimiento espacial.....	78
Figura 46: Mosaicos reconstruidos de imágenes obtenidas por el microscopio Apotome.....	79
Figura 47; Índice (área activada/área total) promedio del área en pixeles medida por el ROI de señal inmunofluorescente para la proteína del gen Arc en las diferentes subregiones estriatales.....	81
Figura 48; Muestra el índice (área activada/área total) promedio del área en pixeles medida por el ROI de señal inmunofluorescente para la proteína del gen Arc en las diferentes subregiones hipocampales. ....	82



<b>Figura 49 ; Promedio de las distancias por grupo, el día de la prueba Nueva Ruta. ....</b>	<b>109</b>
<b>Figura 50; Promedio de las distancias por grupo, el día de la prueba varias salidas.....</b>	<b>109</b>