

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA



TESIS

**EFFECTOS DE LA MICROINYECCIÓN DE ANISOMICINA EN EL
HIPOCAMPO DORSAL SOBRE LA CONSOLIDACIÓN DE LA
MEMORIA DE UN APRENDIZAJE MEDIADO POR NIVELES
ALTOS Y BAJOS DE REFORZAMIENTO**

PRESENTA:

LUIS MIGUEL RODRÍGUEZ SERRANO

PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS (NEUROBIOLOGÍA)

DIRECTOR DE TESIS

DR. ROBERTO A. PRADO-ALCALÁ

Campus Juriquilla, Querétaro, Julio 2010



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

Los miembros del Comité Tutorial certificamos que la tesis elaborada por: Luis Miguel Rodríguez Serrano, cuyo título es: “Efectos de la microinyección de anisomicina en el hipocampo dorsal sobre la consolidación de la memoria de un aprendizaje mediado por niveles altos y bajos de reforzamiento” se presenta como uno de los requisitos para obtener el grado de Maestría en Ciencias (Neurobiología) y cumple con los criterios de originalidad y calidad requeridos por la División de Estudios de Posgrado de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Presidente

Dr. Raúl Paredes Guerrero

Secretario (Tutor)

Dr. Roberto Agustín Prado-Alcalá

Vocal

Dra. Martha Escobar Rodríguez

Suplente

Dra. Sofía Díaz Miranda

Suplente

Dr. Efraín Santiago Rodríguez

Aprobado por el Comité Académico

Coordinador del Programa

AGRADECIMIENTOS

A mi Abuelita Socorro por todo su apoyo y cariño. A mis padres, Santos y Juana por estar conmigo en este camino que me llevo a lejos de casa. Gracias a Arely por todo tú cariño y apoyo durante todo este tiempo, muchas gracias por estar a mi lado.

A mi tutor, el Dr. Roberto Agustín Prado Alcalá por su invaluable orientación en el desarrollo de la presente tesis y en mi formación académica y científica.

A la Dra. Gina Lorena Quirarte por sus observaciones en la parte conductual del trabajo de tesis.

A la Dra. Andrea Cristina Medina Fragoso por su colaboración en los experimentos conductuales, por su amistad y apoyo moral.

A la Dra. Sofía Díaz Miranda y a la Dra. Isabel Miranda por su asesoría como parte de mi comité tutorial.

Al Sr. Ángel Méndez por su apoyo en el cuidado de los animales y la limpieza del material, y a la M.V.Z. Norma Serafín López por su ayuda en la compra de material del laboratorio.

Al M.V.Z. José Martín García por proporcionar los animales requeridos para el desarrollo de los experimentos.

A la M.C. Leonor Casanova Rico, por su oportuno apoyo en todos los trámites realizados.

A todos los compañeros del laboratorio B04 por el tiempo compartido y por su amistad durante estos años en especial a Jorge, a Lucy, a Yahvé, a Sinuhé, Criss Siller y Sofía.

Al laboratorio de Psicofarmacología de la memoria de la FEZ-Iztacala, UNAM. A la Dra. Sara Cruz-Morales por haberme dado la oportunidad aprender de ella y de su grupo de trabajo, en especial a la Dra. Norma García-Saldivar, a la Dra. Mari Reyes, al Mts. José Gómez, a la Mts. Gina Castillo y a Priscila por su amistad durante estos años.

A CONACyT (46754Q), y a PAPIIT (IN211608 e IN216708) por las becas que me otorgaron y que hicieron posible la realización de este grado.

Conservación de los recuerdos

Los Famas para conservar sus recuerdos proceden a embalsamarlos en la siguiente forma: luego de fijado el recuerdo con pelos y señales, lo envuelven de pies a cabeza en una sábana negra y lo colocan parado contra la pared de la sala, con un cartelito que dice: "Excursión a Quilmes", o: "Frank Sinatra".

Los Cronopios, en cambio, esos seres desordenados y tibios, dejan los recuerdos sueltos por la casa, entre alegres gritos, y ellos andan por el medio y cuando pasa corriendo uno, lo acarician con suavidad y le dicen: "no vayas a lastimarte", y también: "cuidado con los escalones". Es por eso que las casas de los Famas son ordenadas y silenciosas, mientras que en las de los Cronopios hay gran bulla y puertas que golpean. Los vecinos se quejan siempre de los Cronopios, y los famas mueven la cabeza comprensivamente y van a ver si las etiquetas están todas en su sitio

Julio Cortázar / Historias de Cronopios y de Famas

RESUMEN

La consolidación es el proceso por el cual la información adquirida pasa de un almacén de corto plazo a uno de largo plazo, existe evidencia experimental que este proceso requiere de la síntesis de proteínas. El objetivo del presente trabajo fue determinar si la administración de un inhibidor de la síntesis de proteínas (anisomicina: ANI) en el hipocampo dorsal afecta la tarea de evitación inhibitoria (EI), cuando se emplean diferentes intensidades de choque eléctrico en el entrenamiento. Se implantaron bilateralmente cánulas en el hipocampo dorsal (HD) en ratas y se realizaron cuatro experimentos de grupos independientes: 1) curva dosis respuesta de ANI (15.62, 31.25, 62.5, 93.7 $\mu\text{g}/0.5 \mu\text{l}$) administrada antes del entrenamiento de EI con una intensidad de choque eléctrico de 0.8 mA. 2) se administró ANI (62.5 $\mu\text{g}/0.5 \mu\text{l}$) antes del entrenamiento, con una intensidad de choque eléctrico de 0.8, 1.0 ó 2.0 mA. 3) se administró ANI (62.5 $\mu\text{g}/0.5 \mu\text{l}$) antes del entrenamiento de EI y se probó a los 30 min (MCP) y posteriormente a las 48 h (MLP). 4) se administró ANI (62.5 $\mu\text{g}/0.5 \mu\text{l}$) tanto antes del entrenamiento como antes de la prueba de EI. Los resultados muestran que la ANI produjo efectos amnésicos cuando las ratas fueron entrenadas con 0.8 ó 1.0 mA, mientras que las ratas entrenadas con 2.0 mA no presentaron amnesia. Se concluye, que la administración de ANI en el HD no interfiere con la consolidación de la memoria cuando se entrena con 2.0 mA en la prueba de EI. Por otra parte no se interfiere con la MCP pero si interfiere con la MLP, además se descarta que el efecto amnésico se deba a un efecto de dependencia de estado.

ABSTRACT

Consolidation is the process through which passes the information acquired from a short-term memory (STM) to a long-term memory (LTM), there is experimental evidence that this process requires protein synthesis. The aim of this study was to determine whether administration the inhibitor of protein synthesis (anisomycin: ANI) in the dorsal hippocampus affects to task inhibitory avoidance (IA), with different intensities to foot-shock. Were implanted cannulas bilaterally in the dorsal hippocampus in rats and were performed four experiments the independent groups: 1) The effects of hippocampal administration of different doses of ANI (15.62, 31.25, 62.5, 93.7 $\mu\text{g}/0.5 \mu\text{l}$) on memory consolidation were determined. The intensity of foot-shock used during IA training was 0.8 mA and the retention test was run 48 hours after training. 2) We determined whether enhanced learning prevents the amnesic effect of administration of ANI (62.5 $\mu\text{g}/0.5 \mu\text{l}$). Three foot-shock intensities were studied (0.8, 1.0, and 2.0 mA). 3) We determined the effects of ANI (62.5 $\mu\text{g}/0.5 \mu\text{l}$) on STM (test at 30 min) and LTM (test at 48 hours). 4) We determined whether pre-training administration of ANI (62.5 $\mu\text{g}/0.5 \mu\text{l}$) induced state-dependent learning. The results show that ANI administration was amnesic effects when rats were trained with 0.8 or 1.0 mA, while rats trained with 2.0 mA showed no amnesia. We conclude ANI produced amnesia when the rats were trained using 0.8 or 1.0 mA, while no effects were found when 2.0 mA were used. ANI did not interfere with short-term memory. The amnesic effect of ANI was not state-dependent. The enhanced training of IA prevents the impairment of long-term memory produced by ANI administration to dorsal hippocampus.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS.....	3
RESUMEN.....	5
ABSTRACT.....	6
1. INTRODUCCIÓN.....	9
1.1 APRENDIZAJE.....	10
1.2 MEMORIA.....	15
1.3 LA CONSOLIDACIÓN DE LA MEMORIA Y LA SÍNTESIS DE PROTEÍNAS	18
1.4 HIPOCAMPO Y LA CONSOLIDACIÓN DE LA MEMORIA.....	25
1.5 EL SOBREFORZAMIENTO ANTE TRATAMIENTOS AMNÉSICOS.....	28
2. ANTECEDENTES.....	34
3. HIPÓTESIS.....	36
4. OBJETIVOS.....	36
5. METODOLOGÍA.....	37
5.1 SUJETOS.....	37
5.2 CIRUGÍA ESTEROTÁXICA	37
5.3 MICROINYECCIÓN DE ANISOMICINA	38
5.4 APARATOS.....	38
5.5 PROCEDIMIENTOS.....	39
5.6 ANÁLISIS HISTOLÓGICO.....	40
5.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	41

6. EXPERIMENTOS.....	42
6.1 EXPERIMENTO 1. CURVA DOSIS RESPUESTA.....	42
6.2 RESULTADOS EXPERIMENTO 1	43
6.3 DISCUSIÓN EXPERIMENTO 1.....	45
6.4 EXPERIMENTO 2. CURVA DE INTENSIDAD.....	47
6.5 RESULTADOS EXPERIMENTO 2	48
6.6 DISCUSIÓN EXPERIMENTO 2	50
6.7 EXPERIMENTO 3. MEMORIAS DE CORTO Y LARGO PLAZO.....	52
6.8 RESULTADOS EXPERIMENTO 3.....	53
6.9 DISCUSIÓN EXPERIMENTO 3.....	55
6.10 EXPERIMENTO 4. DEPENDENCIA DE ESTADO.....	56
6.11 RESULTADOS EXPERIMENTO 4.....	57
6.12 DISCUSIÓN EXPERIMENTO 4.....	58
7. DISCUSION GENERAL.....	59
8. CONCLUSIONES.....	62
9. BIBLIOGRAFÍA.....	63
10 TABLAS Y FIGURAS.....	71

1. INTRODUCCION

Un objetivo de las neurociencias es conocer los sustratos anatómicos, fisiológicos y moleculares del aprendizaje y la memoria. Aunque hoy en día se cuenta con un mayor conocimiento del tema, aún hace falta explicar las condiciones (tanto fisiológicas como conductuales) que pueden estar mediando estos procesos. Además, existen reportes en la literatura científica que han orientado y sentado las bases de la investigación básicamente en dos líneas: la investigación clínica, en la que se han estudiado a pacientes (como el caso H. M.) que han sufrido alguna lesión cerebral que deteriora la memoria, presentando una disociación de sus funciones. Por otro lado, en la investigación básica se ha podido experimentar con animales de laboratorio, en condiciones que sería poco viable realizar con humanos, pudiéndose manipular y controlar variables que intervienen en el aprendizaje y en la memoria (Eichenbaum, 2003).

La división clásica de la memoria, es a partir del tiempo que dure la información adquirida, y sea accesible o recuperable, por lo que se han distinguido diferentes tipos de memoria. William James (1890) distinguió entre una memoria primaria y una secundaria, que hoy se conocen como memoria de corto plazo (MCP) y memoria a largo plazo (MLP) (mencionado en Prado-Alcalá, 1999). El proceso por el cual pasa la información de una MCP a una MLP, es la consolidación y fueron Müller & Pilzecker (1900) los primeros en describir experimentalmente este proceso, indicando que es dependiente del tiempo (McGaugh, 1966; Dudai, 2004).

Existe evidencia experimental que sugiere que este proceso requiere la síntesis de proteínas *de novo*, ya que tratamientos con inhibidores de la síntesis de proteínas, tanto de forma sistémica como intracerebral, antes o inmediatamente después del entrenamiento de una tarea interfieren con la consolidación y por lo tanto con la MLP (Davis & Squire, 1984).

1.1 APRENDIZAJE

El aprendizaje es el cambio en la conducta del sujeto, derivado de la experiencia, que es más o menos permanente (Prado-Alcalá, 1999) y no es resultado de la maduración, habituación, fatiga o de algún efecto de drogas (Hilgard & Bower, 1975). Por lo tanto, la persistencia en el tiempo de una conducta derivada de la experiencia, es el aspecto central que distingue al aprendizaje. En su estudio experimental para determinar su correlato neurofisiológico, se ha intentado explicar la relación de los cambios conductuales con procesos biológicos (anatómicos, fisiológicos o moleculares) (Thompson, 1977).

Existe evidencia experimental que como resultado del aprendizaje, se producen cambios en el sistema nervioso que pueden ser duraderos y que originan cambios perdurables en la conducta (Morgado, 2005; Correa, 2007); estos cambios pueden ser funcionales, estructurales o de ambos tipos (sináptico, bioquímico, etc.) que involucrarían una plasticidad cerebral (Mendoza, 2002). De tal modo que para las neurociencias es de gran interés conocer los cambios que conlleva el aprendizaje en la conformación neuronal, ya que el aprendizaje es un claro ejemplo de la plasticidad neuronal con que cuenta el cerebro.

Se conocen dos tipos de aprendizaje: el no asociativo y el asociativo. El aprendizaje no asociativo es el más simple y se encuentra en casi todos los seres vivos, se produce cuando se expone al sujeto una vez o repetidas veces a un solo tipo de estímulo, además que tiene dos modalidades de presentación:

- Habitación, es un descenso de la respuesta a un estímulo moderado repetitivo.
- Sensibilización (o pseudo condicionamiento) es un fortalecimiento de la respuesta a una amplia variedad de estímulos, que sigue a un estímulo intenso o nocivo (Kandel, 2002).

Por otra parte, entre los tipos de aprendizaje asociativo que existen y por fines de estudio del presente trabajo se describirán dos tipos de aprendizaje asociativo y sus procedimientos experimentales:

- El condicionamiento clásico, que es un aprendizaje que implica la asociación entre dos estímulos, en el que un estímulo poco significativo adquiere las propiedades de un estímulo significativo. El experimento clásico desarrollado por Pavlov (1927), consiste en que la sola presencia de un estímulo (carne) a un perro hambriento provocaba la salivación en el animal; a este tipo de respuesta se le llamó respuesta incondicionada (RI), pues no requiere de ningún procedimiento en particular, y en forma similar, a la carne se le llamó estímulo incondicionado. Si antes de mostrar el estímulo incondicionado al perro se le presentaba el sonido de una campana (estímulo condicionado, EC), después de un buen número de asociaciones de estos estímulos, la sola presencia del EC producía una respuesta de salivación (respuesta condicionada, RC). Así, a toda esta situación en la que se provocaba salivación por el sonido de la campana se le llamó condicionamiento, pues requería de las condiciones por las cuales el sonido de la campana provocaba una respuesta en el sujeto que antes no daba (Bermúdez-Rattoni, Quirarte & Prado-Alcalá, 2001). Además, una característica importante es que el EC siempre debe preceder al EI. Así, Pavlov encontró que se necesitaba un intervalo de tiempo entre los dos estímulos, que en investigaciones posteriores se encontró que el intervalo óptimo entre la presentación de estímulos es de medio segundo y desde luego si los estímulos se separan en términos de horas, entonces no se logra el condicionamiento (Bermúdez-Rattoni, Quirarte & Prado-Alcalá, 2001).
- El condicionamiento operante es el otro tipo de aprendizaje asociativo que más se ha estudiado, y quizás el que más se conoce en la literatura. En este condicionamiento el sujeto emite una respuesta (conducta) que altera el ambiente, y esta relación tiene consecuencia sobre el sujeto. De esta forma el condicionamiento operante implica una triple relación de

contingencias en donde un estímulo (generalmente un contexto determinado o una señal discriminativa) es seguido por una respuesta, y a esta última le sigue una consecuencia, la cual tendrá un efecto directo sobre la probabilidad de presentación futura de la respuesta. A las consecuencias se les ha llamado reforzadores, los cuales pueden ser positivos o negativos. El reforzador positivo es el estímulo que cuando es presentado inmediatamente después de la emisión de una respuesta, incrementa la probabilidad de ocurrencia de dicha respuesta. Y el reforzador negativo, es cuando la emisión de una respuesta evita la presentación de un estímulo aversivo, por tanto, se ve incrementada la probabilidad de ocurrencia de esta respuesta (Mendoza, 2002).

Además, en el condicionamiento operante se pueden estudiar tres procesos, el primero es el castigo: al presentarse una conducta se aplica un estímulo aversivo, el sujeto deja de emitir la respuesta. El segundo es el escape: el sujeto debe responder rápidamente ante la presentación del estímulo nociceptivo, para alejarse de éste. El tercero es la evitación: la ejecución de una respuesta instrumental, permite al sujeto no recibir el estímulo aversivo (Anderson, 2002). Existen diferentes procedimientos experimentales para estudiar la evitación los 3 mas comunes se describen a continuación:

1. En un procedimiento de evitación, se emplea una caja provista de dos compartimientos se coloca al sujeto en uno de ellos y se presenta un estímulo discriminativo (un tono o una luz), el cual va indicar cuándo el sujeto debe saltar de un compartimiento al otro para evitar recibir una descarga eléctrica en ese ensayo. Si el sujeto no responde durante la presentación del estímulo discriminativo, se administra la descarga eléctrica y el sujeto ha de interrumpirla escapando al otro compartimiento. Por lo que, en este procedimiento se pueden presentar la conducta de evitación y la de escape, ya que al inicio del experimento el sujeto no sabe que es posible evitar el choque eléctrico y escapa de él, conforme el sujeto aprende que tras la respuesta se interrumpe la descarga eléctrica, comienza a responder antes de que este se de. En resumen, antes de

descubrir que responder evita la descarga eléctrica, el sujeto simplemente escapa al choque cuando este aparece (Tarpy, 2000).

2. En otro procedimiento de evitación, se emplea una cámara provista con una palanca que el sujeto puede presionar; el piso formado por rejillas pueden ser electrificadas. El sujeto puede posponer la descarga eléctrica presionando la palanca, no hacerlo implica recibir el choque eléctrico. Cuando el sujeto responde, comienza un intervalo sin descarga, de tal modo si el sujeto responde con una tasa lo suficientemente alta, puede evitar las descargas eléctricas por completo (Sidman, 1980). La diferencia entre este procedimiento y el anterior, radica en que no se emplea habitualmente un estímulo discriminativo, el sujeto prevé la descarga eléctrica siguiente sólo por la separación temporal entre las descargas en vez de por la señal externa (Tarpy, 2000).
3. Evitación pasiva o inhibitoria (EI) es quizás el procedimiento más empleado para estudiar el condicionamiento de evitación, consiste en entrenar a los sujetos a evitar la presentación de un estímulo aversivo por medio de la inhibición de una respuesta comúnmente de tipo motor. Se emplea una cámara de evitación inhibitoria, conformada por dos compartimientos separados por una compuerta, uno de seguridad (iluminado) y otro de castigo (oscuro) provisto con un piso de rejilla para administrar choques eléctricos. Se entrena al sujeto a no cruzar al compartimiento donde se le administró el estímulo aversivo (choque eléctrico). La prueba de evitación se puede hacer inmediatamente, varias horas o días después del choque (entrenamiento), y se mide el tiempo que tarda en atravesar al otro compartimiento (latencia de retención) (Sweatt, 2005).

Este procedimiento ha sido muy útil para el estudio experimental del aprendizaje y la memoria en animales de laboratorio bajo distintos tratamientos, ya que comúnmente se adquiere en un ensayo y la memoria es estable una vez que se adquirió, y su ejecución en la prueba indica si el sujeto aprendió o no. Latencias largas son interpretadas como una buena retención, mientras latencias cortas indican una mala retención (amnesia)

(Gold, 1986). Además, se han identificado factores que pueden influir en la ejecución de esta tarea, tales como la sensibilidad al choque eléctrico que se administre, la respuesta bioquímica al estrés y la actividad locomotora del sujeto (Bammer, 1982).

1.2. MEMORIA

La memoria es el almacén de la información que se adquirió, y su división clásica empleada en neurobiología depende del tiempo que dure la información adquirida, y sea accesible a recuperarla por lo que hay dos tipos de memoria en términos funcionales, una memoria de corto plazo (MCP) y una memoria de largo plazo (MLP) (mencionado en Prado-Alcalá, Quiroz, Garín, Díaz-Trujillo, Díaz del Guante, Galindo, Martínez & Quirarte, 2004).

La consolidación es el proceso por el cual la información adquirida pasa de la MCP a la MLP, y las evidencias experimentales sugieren que requiere de la síntesis de proteínas (Davis & Squire, 1984). Durante la consolidación la información es lábil y se puede interrumpir interfiriendo que acceda a la MLP (Dudai, 2004), por lo que la consolidación es dependiente del tiempo (McGaugh, 2000). En la figura 1 se ilustran la MCP y la MLP en su transición por la consolidación.

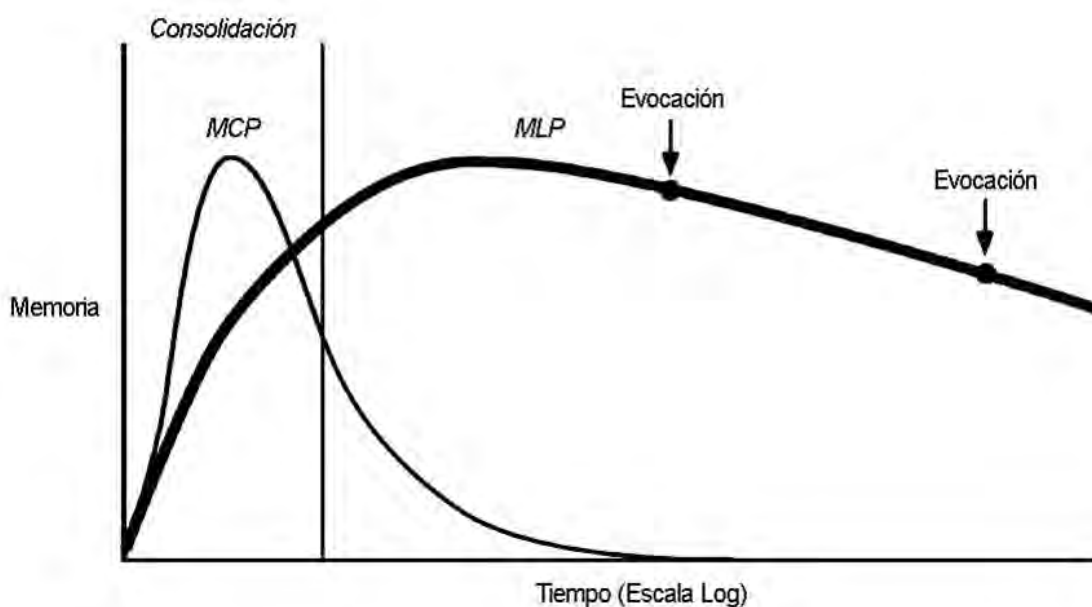


Figura 1. Se ilustra como la memoria de corto plazo (MCP) tiende a decaer conforme pasa el tiempo con una corta duración, mientras la memoria de largo plazo (MLP) su duración es por más tiempo una vez que pasa por el proceso de consolidación. Modificada de Dudai (2004).

La MCP almacena temporalmente una cantidad limitada de información recientemente adquirida, disponible durante unos segundos o minutos tras el aprendizaje, y su utilidad es inmediata (Pérez-Vega, Morales-Villagrán, Ferial-Velasco & González-Burgos, 2004), puede durar de minutos a horas, y existe evidencia experimental que requiere de modificaciones post-traduccionales a proteínas existentes pero no de la síntesis de nuevas macromoléculas (Kandel, 2001).

Por su parte la MLP, almacena una cantidad aparentemente ilimitada de información durante periodos prolongados, de días, meses o años e incluso por toda la vida; su característica esencial es la persistencia en el tiempo (Sandi, 2003). Además, la MLP implica la producción de cambios plásticos relativamente duraderos, incremento en la densidad de botones sinápticos, en la longitud y ramificaciones axónicas, así como en el número de espinas dendríticas (Dudai, 2002). Para que estos cambios ocurran se ha propuesto que se requiere de un incremento en la síntesis de proteínas y la activación de genes (Dudai, 2002; Kandel, 2002), síntesis del mensajero del receptor (RNAm), los cuales pueden inducir el fortalecimiento de conexiones sinápticas, modificando así la eficiencia de la transmisión sináptica (Cammarota, Bevilaqua, Rossato, Ramirez, Medina & Izquierdo, 2005). Se ha demostrado por gran evidencia experimental que la administración sistémica o intracerebral de inhibidores de la síntesis proteínas (ISPs) bloquea la formación de la MLP de diferentes tareas (Davis & Squire, 1984; Hernandez & Abel, 2008; Prado-Alcalá, Quiroz, Garín, Díaz-Trujillo, Díaz del Guante, Galindo, Martínez & Quirarte, 2004), aunque el mecanismo de esta acción es tema de controversia actual, como veremos adelante.

Por tanto, la memoria de corto plazo es un proceso activo, frágil y de corta duración que constituye una primera etapa en el desarrollo de una memoria permanente (MLP); es decir, el hecho de que la información pase en primer lugar por la MCP y posteriormente se consolide y pase a la MLP, habla de que son sistemas secuenciales e interdependientes, por lo cual necesariamente para que la información que se consolide y quede en la MLP

tuvo que pasar por la MCP (McGaugh, 2000; Sandi, 2001). Sin embargo, existen evidencias que sugieren lo contrario, es decir que son sistemas independientes que funcionan en paralelo (Cammarota, Bevilaqua, Rossato, Ramirez, Medina & Izquierdo, 2005).

La diferencia más notoria entre estos tipos de memorias es que la MLP parece requerir de la síntesis de proteínas en el hipocampo y en otras estructuras cerebrales específicas como la amígdala, mientras que la MCP no las requiere (Cammarota, Bevilaqua, Rossato, Ramírez, Medina & Izquierdo, 2005). Además, se ha podido demostrar que los mecanismos moleculares de MCP son diferentes de la MLP, como se muestra en la figura 2.

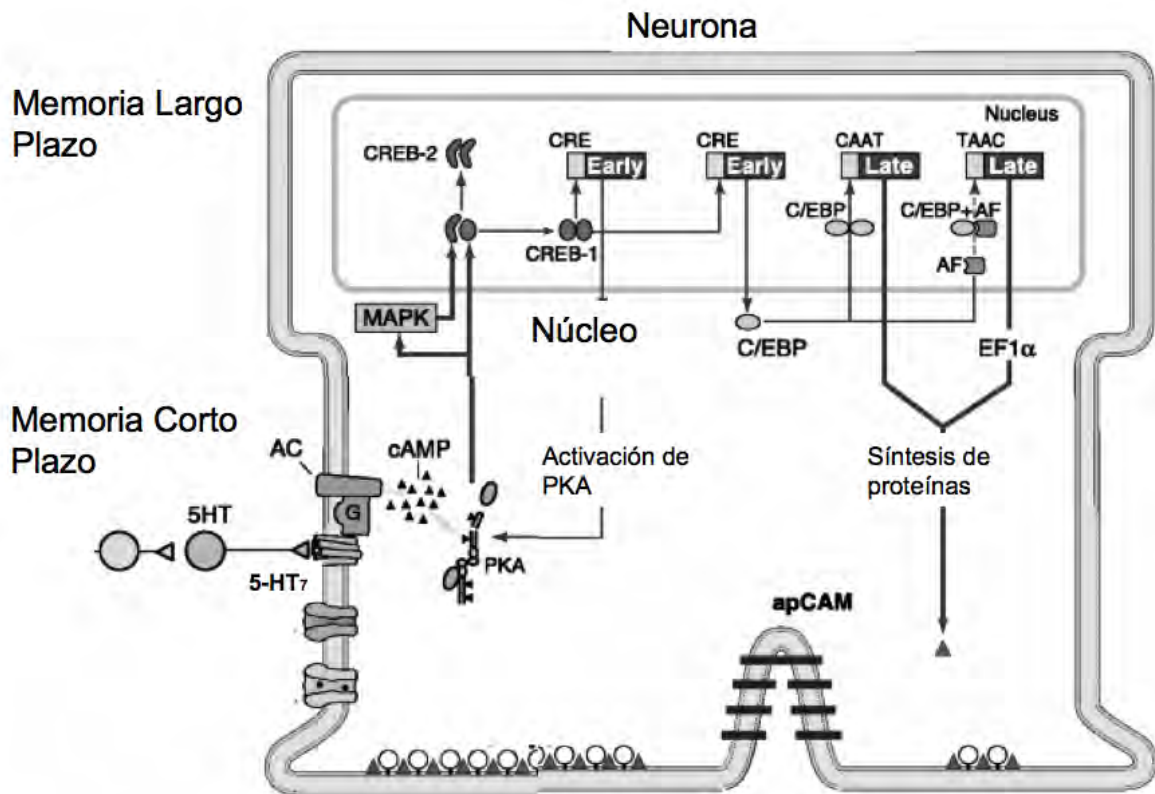


Figura 2. Se describen los eventos moleculares de la formación de la MCP y MLP (Modificada de Kandel, 2001). La MCP ocurre cuando la serotonina endógena activa receptores serotoninérgicos (como el 5-HT₇) aumentando el AMPc. Cuando continúa estimulándose el receptor y aumentando el AMPc, este activa la PKA, translocándose al núcleo y promoviendo factores de transcripción tempranos como el CREB, induciendo la síntesis de nuevas proteínas.

1.3 CONSOLIDACIÓN DE LA MEMORIA Y LA SÍNTESIS DE PROTEÍNAS

La consolidación es el proceso por el cual una memoria inestable y frágil (MCP), pasa a una relativamente permanente (MLP) (Eichenbaum, 2003; McGaugh, 2000). La evidencia experimental al respecto es abundante y sugiere que la consolidación de la memoria es dependiente del tiempo (McGaugh, 1966), es progresiva y puede durar de minutos a horas (Dudai, 2004), y es dependiente de la síntesis de proteínas de *novo* (Flexner, Flexner & Stellar, 1963; Agranoff, Davis & Brink, 1965; Davis & Squire, 1984).

En 1900 Müller y Pilzecker publican una extensa monografía de una serie de experimentos con humanos, y tienen el merito de ser los primeros en mencionar el termino consolidación este contexto (Lechner, Squire & Byrne, 1999), y su principal conclusión fue que el establecimiento de la memoria es un proceso que requiere del paso del tiempo, y que la memoria es muy frágil durante su formación (Prado-Alcalá, et al., 2007). Posteriormente, una explicación de cómo se lleva a cabo la consolidación supone que es un largo proceso de organización entre eventos físicos (neurofisiológicos) y los eventos psicológicos en la representación y asociación de los estímulos (Burham, 1903 citado por Eichenbaum, 2003), por lo tanto la amnesia retrograda es consecuencia de un procesamiento organizacional interrumpido, que se lleva acabo a poco tiempo después del aprendizaje.

Por otra parte, la primera explicación fisiológica sobre la consolidación, fue la teoría del trazo dual por Hebb (1949), quien planteó que la memoria en un primer estadio, es un ensamble de neuronas en reverberación cuyo estado es lábil, y la memoria se estabiliza gracias a cambios celulares en el ensamble dando lugar a la memoria de largo plazo. Sin embargo, esta propuesta que ha orientado la investigación de los eventos intercelulares que ocurren durante la formación de la memoria, tuvo un antecedente ya que, Bain (1872) propuso que "Por cada acto de memoria, cada ejecución de aptitud corporal, cada hábito, recuerdo o tren de ideas, existe un agrupamiento o coordinación de sensaciones y movimientos específicos, debidos a crecimientos específicos en las uniones celulares (p. 91). Unos años después el psicólogo James (1890)

escribió que “Cuando dos procesos cerebrales elementales han estado activos simultáneamente o en sucesión inmediata, uno de ellos, al repetirse, tiende a propagar su excitación al otro”. Por su parte, 10 años más tarde, el genio español Don Santiago Ramón y Cajal (1899), refiriéndose a la actividad cognitiva en términos de “gimnasia cerebral” indicó que ésta conduciría con toda probabilidad a modificar el «aparato dendrítico» y las «colaterales del axón» de las áreas del cerebro más relacionadas con el ejercicio mental; las asociaciones entre conjuntos de neuronas serían reforzadas con el aprendizaje; y el aprendizaje se expresaría en forma de cambios anatómicos a nivel de las neuronas. Con respecto al mecanismo de reverberación, como sustrato fisiológico de la memoria de corto plazo, ya en 1934 y 1938, Lorente de Nó, discípulo de Ramón y Cajal, describió las cadenas cerradas de neuronas internunciales (interneuronas), que son la base de los circuitos reverberantes.

En resumen, con la evidencia presentada por Müller y Pilzecker en 1900, y las propuestas de Bain (1872), James (1890), Cajal (1899), Lorente de Nó (1938), y del mismo Hebb (1949), fueron los antecedentes para que en 1949 Duncan reportara que la administración de un choque eléctrico convulsivo, interfiere con la consolidación de la memoria, provocando una amnesia retrograda. Con este reporte se dio inicio a la experimentación de procedimientos que evaluaron el efecto amnésico de algunos tratamientos, tales como la administración de drogas, la lesión neurotóxica de alguna estructura cerebral en particular o la administración de choques electroconvulsivos que desorganizan la actividad cerebral (mencionado en: Prado-Alcalá, Quiroz, Garín, Díaz-Trujillo, Díaz del Guante, Galindo, Martínez & Quirarte, 2004). De tal forma, se puede inducir una amnesia anterógrada cuando se administra el tratamiento amnésico antes del entrenamiento que interfiera con la adquisición, provocando una incapacidad de formar nuevos recuerdos, pero se conservan los antiguos recuerdos. Por otra parte, se produce una amnesia retrógrada cuando es administrado el tratamiento inmediatamente después del entrenamiento y se interfiere en la consolidación de la memoria (Sandi, 2001).

Eichenbaum (2003) considera que se ha entendido la consolidación bajo dos concepciones que difieren tanto en los mecanismos supuestos que median la consolidación, como en la escala temporal de los sucesos pertinentes. Esta diferencia ha dado origen a la idea que supone una fijación en la memoria en la sinapsis durante un periodo de minutos a horas, y otra que supone una reorganización de memorias que se produce durante un espacio que va de semanas a años. En el primer enfoque se considera a la consolidación de la memoria como un fenómeno que desencadena una cascada de eventos moleculares mediante los cuales ciertas modificaciones sinápticas a corto plazo causan cambios permanentes en la conectividad de neuronas. Se supone que estos eventos son la base que permite la transición de una memoria de corto plazo a una de largo plazo, en una escala temporal de segundos a minutos (Eichenbaum, 2003). Por lo tanto, la consolidación de la memoria conlleva cambios constantes en el sistema nervioso, y es posible que cualquiera que fuesen los cambios a nivel estructural o funcional en las conexiones sinápticas, estos serían producidos por un incremento en la producción de proteínas (Thompson, 1977).

A este respecto, haciendo un breve recuento histórico encontramos que fueron Katz y Halstead (1950) quienes propusieron que la base molecular del almacenamiento de la memoria se encontraba por las proteínas neuronales; bajo esta premisa Hydén, en 1959, estudió la cantidad de ácidos nucleicos y proteínas formadas en una situación de aprendizaje, siendo el pionero en este campo encontró que el ácido ribonucleico (ARN) se modifica en condiciones de aprendizaje (mencionado en: Chapouthier, 1983).

Tiempo después, con el descubrimiento de los antibióticos que inhiben la síntesis de proteínas, se pudo comprobar que cuando se administra un ISP como la puromicina, inmediatamente después del entrenamiento, se interfiere con la consolidación de la memoria (Flexner et al., 1963). Este efecto se ha corroborado a lo largo de los años en diferentes especies de animales (Agranoff, et al., 1965; Flexner, et al., 1967) sometidos a diferentes tareas (Davis & Squire, 1984). En resumen, se evidenció que la consolidación de la

memoria depende la síntesis de proteínas, mientras la adquisición y la MCP no requiere de la síntesis de proteínas (Barondes & Cohen, 1967a).

Davis y Squire (1984) mencionan que en el estudio de la consolidación de la memoria de un aprendizaje en particular se deben tener en cuenta la estrategia experimental, la prueba conductual (que tipo de aprendizaje se trata y que tipo de memoria), el modelo animal que se emplee (roedor, primate, etc.), conocer la farmacología de la droga (farmacocinética, vida media, vía de administración) que se esté estudiando, además de tener en cuenta los cambios que pueda acarrear (efectos secundarios de la droga en la conducta del sujeto).

Además, se ha reportado que el nivel de inhibición de proteínas que alcanza un ISPs, depende de la vía de administración, de la dosis, y del tiempo (Davis & Squire, 1984; Meiri, et al., 1997; Wanisch & Wotjak, 2008). En la tabla 1 se resumen los ISPs que mas se han reportado, como en las tareas que se han probado, además de los estudios clásicos en cada caso.

En el caso particular de la anisomicina, que es el inhibidor de síntesis de proteínas que emplearemos en la presente tesis, esta se une a la subunidad 60S del ribosoma e impide la unión peptídica y consecuentemente la elongación de la cadena polipeptídica e inhibe a la peptidil transferasa.

ISP	Actúa a nivel de	Sitio de acción	Tareas conductuales	Referencias
Dactinomicina	Trascrición de ADN a ARN	Bloquea la elongación de la ARN polimerasa	LY, EP	Barondes et al., 1964; Cohen et al., 1966;
8-azuguanine	Trascrición de ADN a ARN	Bloquea la elongación de la ARN polimerasa	LY	Dingman & Sport, 1964
Acetilcicloheximida	Traducción (ribosomal)	inhibe la peptidil transferasa en el ribosoma	LY, EA	Flexner et al., 1967; Serota, 1971; Flood et al., 1975; Barondes et al., 1967b;
Puromicina	Traducción (ribosomal)	inhibe la peptidil transferasa en el ribosoma	LY, EP, EA,	Flexner et al., 1963; Agranoff et al., 1965; Barondes et al., 1967a
Ciclohexamida	Traducción (ribosomal)	inhibe la peptidil transferasa en el ribosoma	EP	Flood et al., 1972b; Rainbow et al., 1980; Flood et al., 1980; Kameyana, et al., 1986;
Anisomicina	Traducción (ribosomal)	inhibe la peptidil transferasa en el ribosoma	EP, EA, CAS, RO, CM, LAM,	Grecksch et al., 1980; Judge, et al., 1982; Davis & Squire, 1984;

Tabla 1. Se resumen los principales ISPs que más se han empleado en la investigación acerca de la consolidación de la memoria, el nivel donde actúan, así como las tareas que comúnmente se utilizan para probar sus efectos. LY, laberinto en Y; LCA, laberinto de campo abierto; EP, evitación pasiva; EA, evitación activa; CAS, condicionamiento aversivo a los sabores; RO, reconocimiento de objetos; CM, condicionamiento al miedo; LAM, laberinto acuático de Morris.

La hipótesis de que la consolidación requiere de la síntesis de proteínas ha sido consistente con la evidencia experimental, ya que como se mencionó anteriormente, la estrategia experimental ha sido la administración local o sistémica de ISPs, tanto en invertebrados como en vertebrados en distintas pruebas conductuales, y su efecto ha sido ampliamente aceptado, ya que inducen amnesia y por lo tanto interfiere con la consolidación de la memoria. Esta estrategia experimental ha sido muy atractiva, ya que supone la interferencia de los eventos moleculares, que pudiesen suscitarse en la transición de una memoria de corto plazo a una memoria de largo plazo. Sin embargo, recientemente esta hipótesis se ha puesto en duda por Canal, Chang & Gold (2007), ya que la administración de ANI en la amígdala induce un efecto amnésico en la tarea de EI, que gran parte de la literatura ha reportado, pero al realizar la cuantificación de monoaminas (por microdiálisis) en el sitio de la microinyección, se observó un incremento de estos neurotransmisores como efecto secundario de la administración de la ANI. Por lo tanto la discusión es si la amnesia se debió a la ISPs o a la liberación excesiva de estos neurotransmisores (figura 3); los autores concluyen que es más probable que la amnesia es causa del efecto secundario de la ANI que a la ISPs. Este reporte, lanzó la pregunta de si realmente es vigente la hipótesis clásica de la consolidación o requiere una revisión en cuanto si es dependiente o no de la síntesis de proteínas. Ya antes, Routtenberg & Rekart (2005) propusieron que las modificaciones post-traduccionales de proteínas que ya se encuentran en las sinapsis es el mecanismo de la MLP.

Recientemente, se reportó que la administración sistémica de otro ISPs, la cicloheximida, produce un deterioro significativo en la consolidación de una tarea de evitación pasiva en ratas entrenadas en condiciones habituales de estimulación aversiva, pero cuando los sujetos son sometidos a un sobrerreforzamiento en esa tarea, el ISPs es totalmente incapaz de interferir con la consolidación (Díaz-Trujillo, et al., 2009).

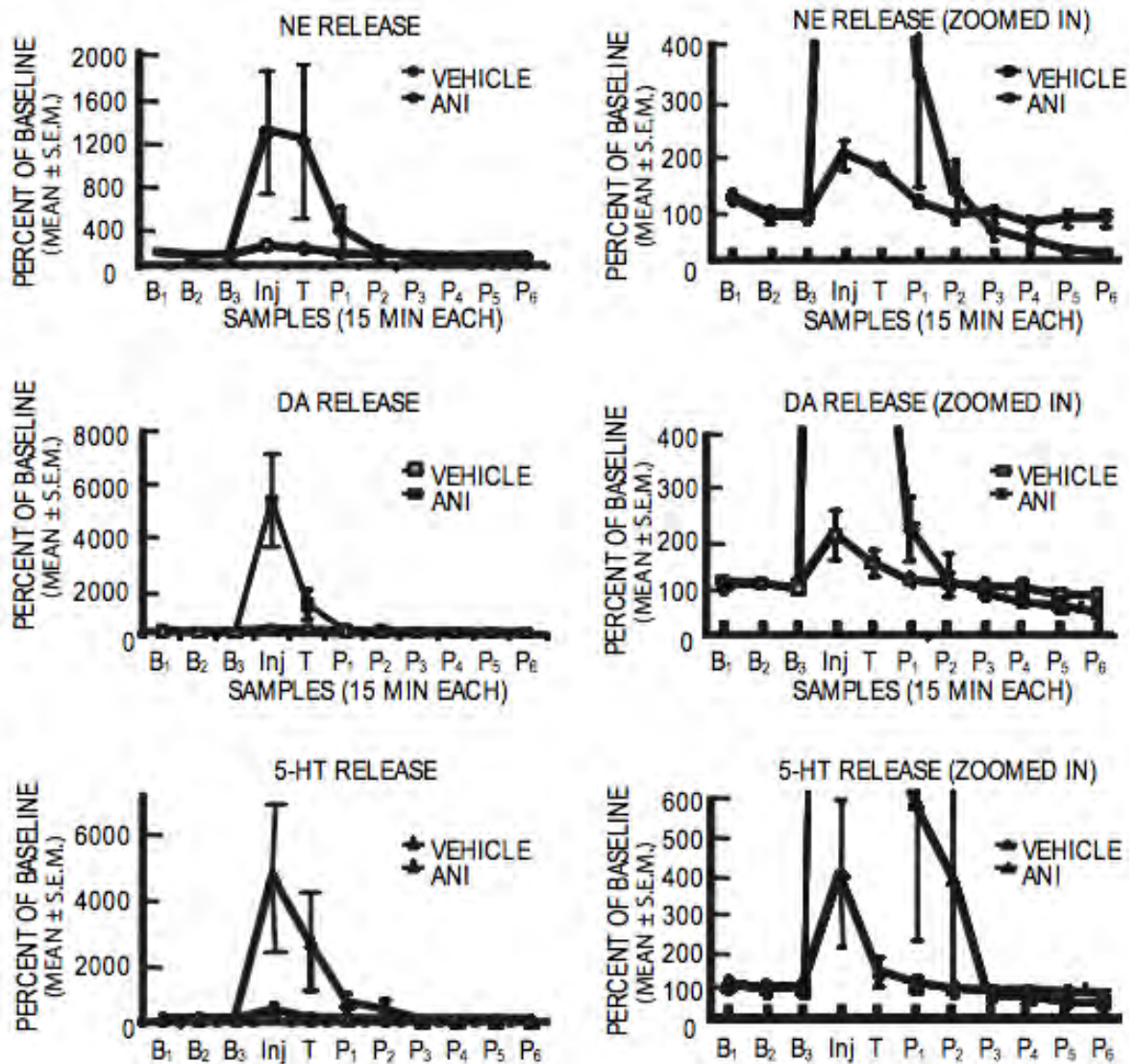


Figura 3. Se muestran la cuantificación por HPLC de los neurotransmisores: Noradrenalina (NA), Dopamina (DA) y serotonina (5-HT) en la amígdala basolateral (BLA). En cada grafica se presentan las muestras cuantificadas del neurotransmisor, cada muestra se tomo cada 15 minutos (línea base: B₁, B₂, B₃; pos-inyección: P₁, P₂, P₃, P₄, P₅, P₆); además, el momento en que se inyecto ANI o VEH (Inj) en la BLA. Las graficas de la columna izquierda se presentan las variaciones en la concentración de los neurotransmisores por la administración de ANI o VEH en la BLA, y la columna de la derecha es el aumento de la grafica de la izquierda para mostrar como se generaron cambios en la concentración de los neurotransmisores por la administración de ANI. Imagen tomada de Canal, Chang & Gold (2007).

1.4 HIPOCAMPO Y LA CONSOLIDACIÓN DE LA MEMORIA

El hipocampo es una estructura subcortical localizada dentro del anillo de arquicorteza que rodea al sistema ventricular y que se conoce como corteza límbica. Dentro del hipocampo se distinguen tres regiones bien diferenciadas: el cuerno de Ammón (CA) que incluye los campos CA1, CA2 y CA3, formados por una hilera continua de neuronas piramidales; el giro dentado, formado por una hilera de neuronas granulares y la región hilar formada por células poliformes, todas de naturaleza glutamatérgica (Amaral, Scharfman & Lavenex, 2007). En todas las regiones del CA se encuentran interneuronas inhibitorias de naturaleza GABAérgica principalmente. La arquitectura básica de los subcampos hipocámpales es muy similar, todos consisten de una capa de neuronas cuyas dendritas apicales se extienden a una zona de pocas células: el estrato radiado y el lagunoso-molecular en el CA, y el estrato molecular en el giro dentado (Gutiérrez Guzmán, González Burgos, Guevara Pérez & Olvera Cortés, 2007). Además, el hipocampo recibe información fundamentalmente por dos vías diferentes:

- La primera es desde la corteza entorrinal (CE), por medio de la vía perforante, una proyección glutamatérgica que se distribuye mayoritariamente por el GD, pero que alcanza también al CA. Esta proyección corticohipocámpal provee al hipocampo de información sensorial supramodal procedente de todas las áreas corticales de asociación sensorial.
- La segunda entrada importante al hipocampo es el sistema de la fimbria-fórnix (FF), que provee al GD y al CA de inervación aminérgica y colinérgica procedente del septo y los núcleos de la formación reticular del tronco encefálico (Almaguer-Melian, Vallejo, Ramírez, Capdevila, Rosillo-Martí & Bergado-Rosado, 2003).

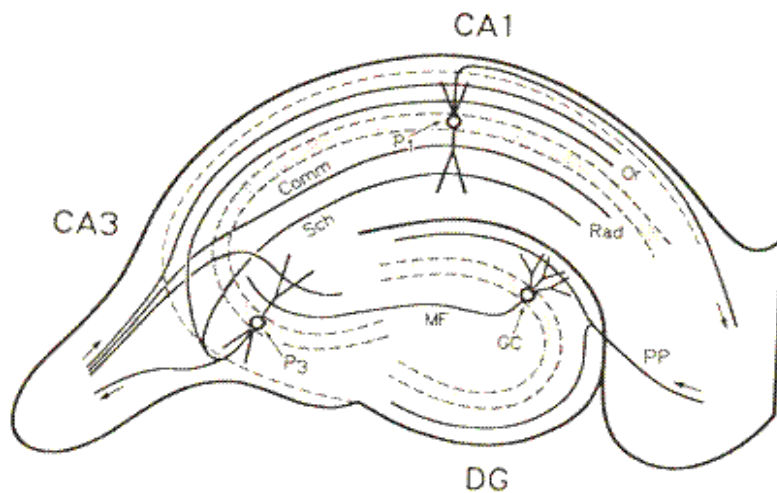


Figura 4. Corte coronal, donde se muestra el hipocampo, el cuerno de Ammón (CA1, CA3) y el giro dentado (DG). Modificado de Amaral, Scharfman, Lavenex (2007).

Existe evidencia experimental tanto en la investigación básica en animales como en la investigación clínica con humanos, de que el hipocampo participa en la consolidación de la memoria. Fue el reporte clínico del paciente H. M. el que señaló el papel del hipocampo en la memoria; dicho paciente fue intervenido quirúrgicamente con el objeto de aliviar sus convulsiones epilépticas. Con la cirugía practicada a este individuo de 29 años de edad, que consistió en la remoción de la parte inferior y lateral del lóbulo temporal, se logró controlar la epilepsia; sin embargo presentó una gran incapacidad para recordar nueva información (amnesia anterógrada), aunque recordaba la información previa a la cirugía (Scoville & Milner, 1957). Estudios posteriores hechos al paciente H.M. demostraron que su memoria de procedimiento no estaba dañada, ya que lograba recordar tareas de tipo motor, como marcar el contorno de una estrella a través del reflejo de un espejo, después de un buen número de ensayos. Sin embargo su memoria declarativa estaba francamente dañada, por lo que H.M. era incapaz de recordar información de tipo consiente (explícita) que previamente se le había presentado, y se relacionó esta deficiencia con el hipocampo, ya que fue una de las estructuras que se le habían removido (Kandel, 2002).

Pero fue en la investigación básica con modelos animales que se pudo experimentar con lesiones o manipulaciones farmacológicas, para conocer que estructuras cerebrales están participando en la memoria. En un inicio una estrategia experimental, fue la lesión de zonas cerebrales para determinar su participación en el aprendizaje y la memoria, a este momento se le conoció como la búsqueda del engrama y su mayor representante fue Karl Lashley (Garrett, 1975). De estos estudios al día de hoy se conoce que el hipocampo es necesario para la adquisición de tareas de orientación espacial (Ramos, 2002), como es EI, que requiere tanto de una memoria de procedimiento (Malin & McGaugh, 2006), como de una memoria espacial (Santín, Rubio, Begega, Miranda & Arias, 2000).

Existe evidencia experimental que el hipocampo participa en tareas de memoria espacial, como es el caso del laberinto acuático y del laberinto radial, ya que se requiere de la participación del hipocampo para la navegación por medio de señales ambientales (D'Hooge & De Deyn, 2001; Hannesson, Mohapel & Corcoran, 2001). Además, el hipocampo presenta una diferenciación funcional en su parte dorsal con respecto a la ventral (Moser & Moser, 1998), ya que al lesionar el hipocampo dorsal y el ventral con ácido kaínico se observa una mayor interferencia en la memoria de largo plazo de la tarea de EI cuando se lesiona la porción ventral (Martínez, et al., 2002). Por otra parte, al administrar un ISPs, como ANI en el hipocampo dorsal, se interfiere con la consolidación de la memoria en la tarea del laberinto acuático (Naghdi, Majlessi & Bozorgmehr, 2003).

1.5 EL SOBRRERFORZAMIENTO ANTE TRATAMIENTOS AMNÉSICOS

En la búsqueda de estructuras cerebrales y de sistemas de neurotransmisión que pudieran estar participando en el aprendizaje y la memoria, uno de los procedimientos conductuales más empleados es el de la evitación inhibitoria, el cual consiste en entrenar a los sujetos a evitar la presentación de un estímulo aversivo por medio de la inhibición de una respuesta de tipo motor. Se ha empleado este procedimiento para evaluar los efectos de distintas drogas tanto en la adquisición como en la consolidación de la memoria. Los efectos de las drogas pueden ser dependientes de la intensidad del choque y de otros parámetros de la estimulación eléctrica (voltaje y duración), ya que causan distintos efectos (Cruz-Morales & Prado-Alcalá, 2002), es decir el efecto amnésico de alguna droga (por ejemplo algún anticolinérgico como la escopolamina), se observa con choques de baja intensidad, pero cuando se incrementa (sobrerreforzamiento) ya no se presenta el efecto amnésico del tratamiento (Cruz-Morales, Durán-Arévalo, Díaz del Guante, Quirarte, & Prado-Alcalá, 1992; Cruz-Morales, Reyes-Cervantes, Gómez-Romero, López & Secundino, 1999; Quirarte, Cruz-Morales, Díaz del Guante & Prado-Alcalá, 1993).

Por ejemplo, al inactivar alguna estructura en particular, como el hipocampo dorsal, por medio de tetrodotoxina (TTX) una neurotoxina que bloquea canales de sodio y su efecto es reversible, se observó un cuadro amnésico en la tarea de EI cuando se entrenó con un choque bajo (0.8 mA), pero al incrementar la intensidad de choque (1.0 mA) el efecto amnésico ya no se presentó (Quiroz, et al., 2003). Por otra parte, como se mencionó anteriormente, la extensa evidencia experimental indica que la consolidación de la memoria requiere de la síntesis de proteínas de *novo*, para que la información acceda a la MLP (Davis & Squire, 1984). Sin embargo, hasta hace poco tiempo no se había estudiado el efecto del sobrerreforzamiento ante tratamientos que inducen amnesia en EI como son ISPs. Recientemente, Díaz-Trujillo et al., (2009), reportaron que la administración sistémica de cicloheximida (CXM) un ISPs, antes o inmediatamente después del

entrenamiento de EI, bajo diferentes intensidades choque (0.6, 0.8, 1.0, 2.0, 2.4 y 3.2 mA) produjo efecto amnésico cuando se entrenó con intensidades relativamente bajas (0.6, 0.8 y 1.0 mA), sin embargo cuando se incremento la intensidad del (2.0, 2.4 y 3.2 mA) no se presentó dicho efecto amnésico. Por lo tanto, se observó un efecto protector del sobrerreforzamiento ante este tratamiento (figuras 5 y 6). Además, reportan que cuando se hace la misma maniobra experimental y se prueba la MCP no se observa el efecto amnésico de la CXM cuando se entrena con intensidades bajas de choque, ya que los ISPs no interfieren con la MCP, dado que no depende la síntesis de proteínas; también encontraron que el efecto de la CXM no se debe a un efecto por dependencia de estado, ya que al administrarla tanto antes del entrenamiento como de la prueba, se presenta la amnesia (figura 7).

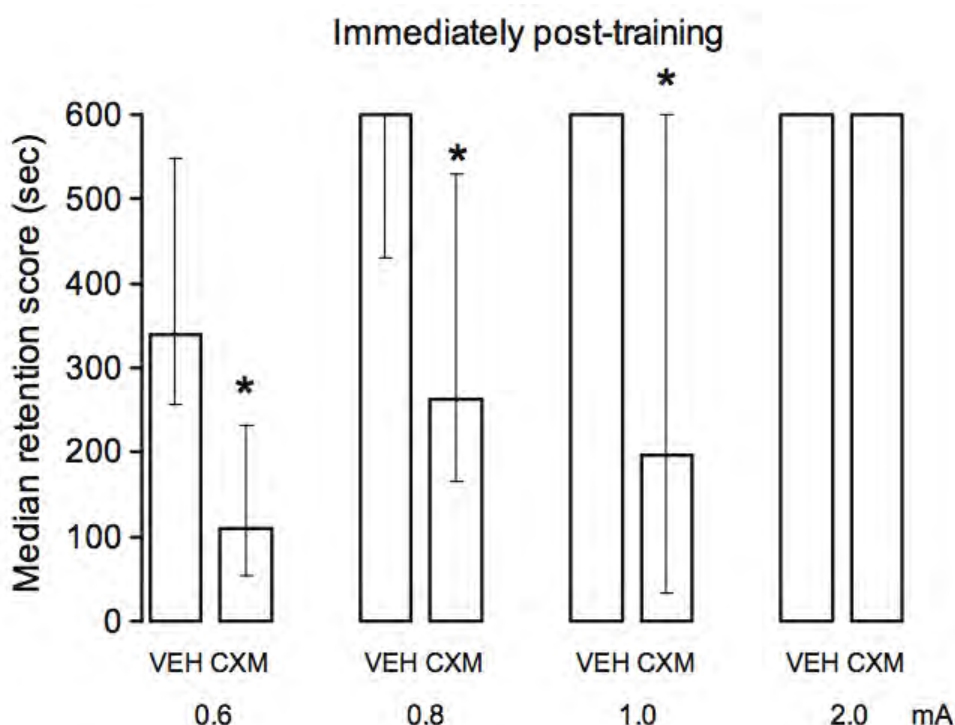


Figura 5. Latencias de retención de EI. Están graficadas las latencias de retención y las intensidades de choque (0.6, 0.8, 1.0 y 2.0 mA), de los grupos que se les administró inmediatamente después del entrenamiento la cicloheximida (CXM); y sus respectivos controles que recibieron el vehículo (VEH) (tomada de Díaz-Trujillo et al., 2009).

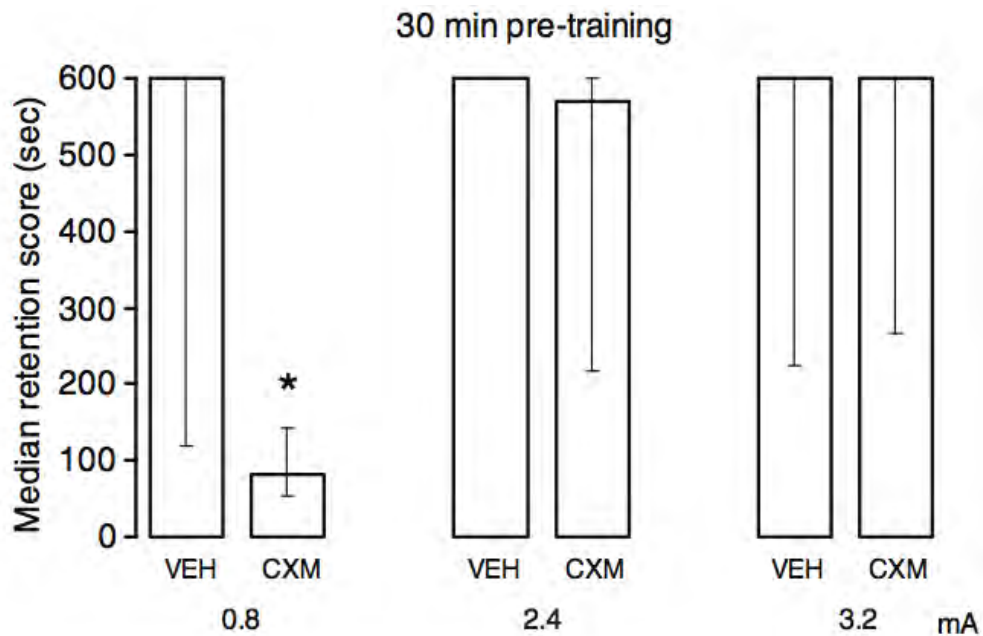


Figura 6. Latencias de retención de EI. Están graficadas las latencias de retención y las intensidades de choque (0.8, 2.4 y 3.2 mA), de los grupos que se les administró 30 minutos antes del entrenamiento la cicloheximida (CXM); y sus respectivos controles que recibieron el vehículo (VEH) (tomada de Díaz-Trujillo et al., 2009).

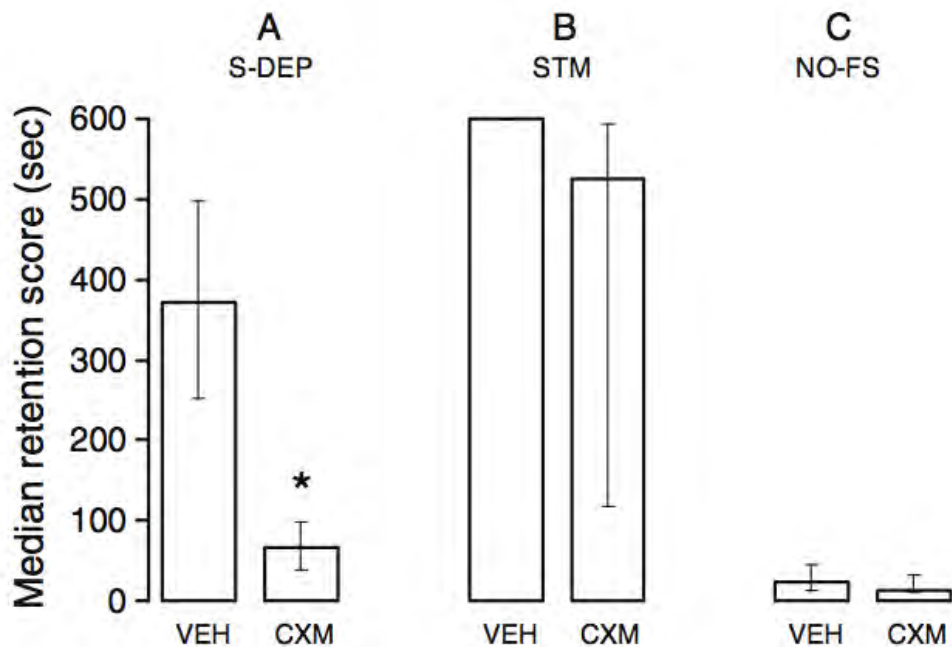


Figura 7. Latencias de retención de EI. Están graficadas las latencias de retención, la intensidad de choque fue de 0.8 mA para todos los grupos. Se muestran los grupos de dependencia de estado (S-DEP); los grupos con MCP (STM), y los grupos que no recibieron el choque (NO-FS) en el entrenamiento de EI (tomada de Díaz-Trujillo et al., 2009).

Por otra parte, Marín, et al., (2008) administraron CXM de forma sistémica antes del entrenamiento de la tarea de Evitación Activa (EA), la cual consiste en entrenar a los sujetos a evitar un choque eléctrico al activar su conducta motora. Se emplea una cámara compuesta de dos compartimientos comunicados entre si por una compuerta, el sujeto debe de pasar de un compartimiento a otro para evitar un choque eléctrico, y se toma como acierto cuando pasa el sujeto al otro compartimiento antes que se de el choque eléctrico y error cuando recibe el choque y escapa al otro compartimiento. Por lo tanto, un mayor número de aciertos indica que el sujeto aprendió a evitar el choque eléctrico antes de que este se presente, y un menor número de aciertos se entiende como un síntoma amnésico. Encontraron que la CXM produjo el efecto amnésico en esta tarea, cuando se les entrenó con bajas intensidades de choque, pero al incrementar la intensidad de choque, ya no se observó el efecto amnésico de la CXM (ver figura 8).

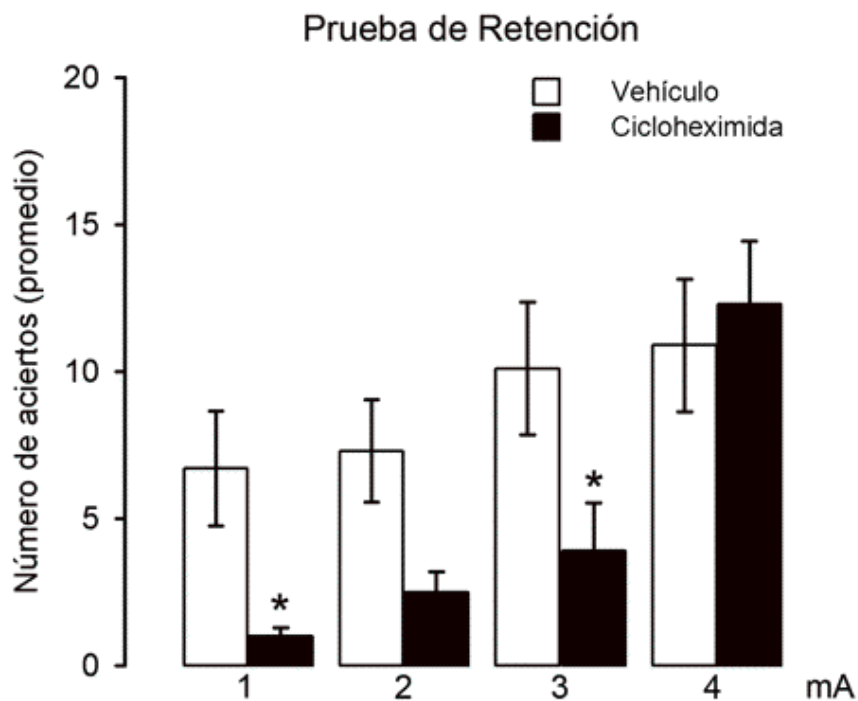


Figura 8. Prueba de retención de EA. Están graficados el número de aciertos y la intensidad de choque de los grupos que recibieron cicloheximida como los que recibieron el vehículo. Tomado de Marín et al. (2008).

Por tanto, los resultados reportados por Díaz-Trujillo et al. (2009) y por Marín et al. (2008), demuestran que la CXM interfiere con la consolidación de la memoria ya sea en EI o en EA, pero al aumentar la intensidad de choque dicho efecto amnésico ya no se presenta. Es decir, inicialmente estos reportes son consistentes con la literatura al respecto, ya que el efecto amnésico de este tratamiento se encuentra cuando el nivel de choque con que se les entrenó es bajo, sin embargo al aumentar la intensidad de choque dicho efecto amnésico ya no se presenta. Por tanto ya no son consistentes con la teoría de que la consolidación de la memoria depende de la síntesis de proteínas, ya que al menos bajo estas condiciones estos reportes apoyan la hipótesis de Canal et al. (2007) de que la consolidación de la memoria no depende de la síntesis proteínica. El principal resultado de estos reportes, es señalar que el sobrerreforzamiento protege a la memoria de tratamientos como son los ISPs, si bien este efecto protector ya se había documentado bajo otras maniobras experimentales (Cruz-Morales et al., 1992; Quitarte et al., 1993; Prado-Alcalá, Salado-Castillo, Quiroz, Garín-Aguilar, Díaz, Rivas-Arancibia, & Quirarte, 2007). Es de resaltar que dada la discusión actual que señalan Canal et al. (2007), en el sentido de que los efectos amnésicos de los ISPs se deben a los efectos secundarios que acarrearán, en la situación de aprendizaje incrementado aún estos efectos secundarios no impiden la consolidación.

En resumen, se ha demostrado que la consolidación de la memoria depende tanto de las condiciones orgánicas (un funcionamiento neuronal normal) como de la experiencia, pero cuando se interfiere con el funcionamiento neuronal (por alguna lesión o por una manipulación farmacológica en determinada estructura cerebral) antes o inmediatamente después de la adquisición de la tarea, se interfiere con la consolidación de la memoria, presentándose un cuadro amnésico. Sin embargo, cuando se incrementa el aprendizaje por un mayor número de sesiones de entrenamiento (sobreentrenamiento) o por una mayor magnitud del reforzamiento (sobrerreforzamiento), dicha interferencia en la consolidación no se presenta, por lo que hay un efecto protector del aprendizaje incrementado ante tratamientos amnésicos. Es decir, si el sujeto es sometido a una experiencia

incrementada de aprendizaje, probablemente las estructuras cerebrales implicadas en el proceso de consolidación sufren un arreglo funcional, pasando de una conexión serial a una en paralelo con otras estructuras (Prado-Alcalá, 1995; Prado-Alcalá, Cruz-Morales, García, Quirarte, Roldan-Roldan, & Solana-Figueroa, 1998).

2. ANTECEDENTES

El hipocampo, la amígdala y el estriado son las estructuras cerebrales que se han relacionado con la consolidación de la memoria, ya que se cuenta con la evidencia experimental, de que la microinyección de una gran variedad de drogas que interfieren con la función sináptica, producen deficiencias en la consolidación de la memoria (Prado-Alcalá, Quiroz, Garín, Díaz-Trujillo, Díaz del Guante, Galindo, Martínez & Quirarte, 2004).

En la década de 1950 se publicaron los primeros estudios que describen los efectos que produce la administración de inhibidores de la síntesis de proteínas (Sutton & Schuman, 2006). Flexner, Flexner & Stellar (1963) publicaron el primer estudio de los efectos de la puromicina inyectada en el lóbulo temporal, que bloqueó la MLP de un laberinto en forma de Y, y se ha indicado reiteradamente que la consolidación requiere la síntesis de nuevas proteínas (Rudy, Biedenkapp, Moineau & Bolding, 2007), ya que la microinyección intracerebral de inhibidores de la síntesis de proteínas después del entrenamiento bloquean la consolidación (McGaugh, 2000); el procedimiento de evitación inhibitoria (EI), ha sido ampliamente empleado para estudiar el efecto de de estos tratamientos sobre la consolidación (Flood, Bennett, Orme & Rosenzweig, 1975).

La evitación inhibitoria consiste en entrenar a los sujetos a evitar la presentación de un estímulo aversivo por medio de la inhibición de una respuesta de tipo motor; es un procedimiento muy útil, ya que se adquiere rápidamente (habitualmente en un sólo ensayo), la memoria es estable una vez que se adquirió, y su ejecución en la prueba indica si el sujeto aprendió o no. Las latencias de respuesta largas son interpretadas como una buena retención, y latencias de respuesta cortas indican una mala retención (amnesia) (Gold, 1986). Los efectos de los tratamientos pueden ser dependientes de los parámetros del choque que se administre (la intensidad, el voltaje y la duración) (Cruz-Morales & Prado-Alcalá, 2002).

El hipocampo es una estructura cuya participación en la consolidación de la memoria se conoce ampliamente (Eichenbaum, 2003). Cuando se ha administrado anisomicina en el hipocampo dorsal, se han variado tanto las dosis empleada como el momento de administración (antes o después del entrenamiento). Se conoce que la microinyección de anisomicina en el hipocampo dorsal 15 minutos antes del entrenamiento de evitación inhibitoria, bloquea la consolidación (Vianna, Szapiro, McGaugh, Medina & Izquierdo, 2001), como la administración inmediatamente después del entrenamiento (Cammarota, Bevilaqua, Medina & Izquierdo, 2007).

Por otro lado, existen reportes de que el sobrerreforzamiento en la tarea evitación inhibitoria, protege la memoria de los efectos amnésicos que comúnmente se observan después de la aplicación sistémica de escoploamina (Cruz-Morales, Duran-Arevalo, Díaz Del Guante, Quirarte, & Prado-Alcalá, 1992; Duran-Arévalo, Cruz-Morales, & Prado-Alcalá, 1990) o p-cloroanfetamina (Solana-Figueroa, Salado-Castillo, Quirarte, Galindo, & Prado-Alcalá, 2002). Además, se ha reportado que el sobrerreforzamiento en esta tarea, protege la memoria de tratamientos que usualmente son amnésicos cuando son administrados en el hipocampo (Quiroz et al., 2003), sustancia nigra (Cobos-Zapiain et al., 1996) y estriado (Díaz del Guante, Rivas-Arancibia, Quirarte, & Prado-Alcalá, 1990; Giordano & Prado-Alcalá, 1986; Pérez-Ruiz & Prado-Alcalá, 1989; Prado-Alcalá, Kaufmann, & Moscona, 1980). Hasta ahora, solamente se ha investigado el efecto de la administración sistémica de un inhibidor de la síntesis de proteínas sobre la consolidación de la memoria en animales que fueron sometidos a un sobrerreforzamiento en evitación inhibitoria y en evitación activa. El propósito de este proyecto es explorar, por primera vez, los efectos de la administración de un inhibidor de la síntesis de proteínas en el hipocampo dorsal, sobre la consolidación de la memoria, cuando se da un sobrerreforzamiento en la tarea de evitación inhibitoria.

3. HIPÓTESIS

- La consolidación de la memoria no será bloqueada por la administración de anisomicina en el hipocampo dorsal, si el aprendizaje es mediado por un sobrerreforzamiento en la tarea de evitación inhibitoria.

4. OBJETIVOS

General

- Determinar si el sobrerreforzamiento protege a la consolidación de la memoria del efecto amnésico de un inhibidor de síntesis de proteínas.

Particular

- Estudiar los efectos de la microinyección de diferentes dosis de anisomicina en el hipocampo dorsal sobre la consolidación de la memoria en la prueba de evitación inhibitoria entrenada con estímulos aversivos de intensidad relativamente baja.
- Estudiar los efectos de la microinyección de anisomicina en el hipocampo dorsal sobre la consolidación de la memoria de la prueba de evitación inhibitoria mediado por niveles altos y bajos de reforzamiento.

5. METODOLOGÍA

5.1 Sujetos. Se emplearon ratas machos Wistar obtenidas del bioterio del Instituto de Neurobiología. Al inicio de los todos los experimentos los sujetos pesaron entre 250 y 300 g. y se alojaron en cajas individuales con libre acceso a comida y agua, con un ciclo luz-oscuridad de 12 horas iniciándose a las 8 a.m. en el bioterio del laboratorio, manteniéndolas en estas condiciones durante todo el experimento y desde una semana previa al mismo. El protocolo diseñado para el presente estudio se realizó conforme a las normas internacionales para el manejo y uso de animales de experimentación establecidas por la National Institutes of Health (NIH) y la National Academy of Science (2003; www.nih.gov) y fue aprobado por el Comité de Bioética del Instituto de Neurobiología de la Universidad Nacional Autónoma de México.

5.2 Cirugía estereotáxica. Los sujetos fueron anestesiados con pentobarbital sódico (50 mg/kg), combinado con atropina (0.4 mg/kg) administrados intraperitonealmente. Se colocaron en un aparato estereotáxico y se realizó una incisión en la piel del cráneo, el cual se descubrió y se tomó la lectura de las coordenadas para la región dorsal del hipocampo ($AP = -4.0$, $ML = \pm -2.7$, $DV = -2.7$ mm) de acuerdo al atlas de Paxinos & Watson (1998). Se hizo un trépano en el cráneo y se implantaron las cánulas bilateralmente, que fueron fabricadas con agujas de acero inoxidable (calibre 23, de 10 mm de longitud) (Fig. 9). Las cánulas fueron ancladas al hueso con la ayuda de un tornillo y con cemento dental. Terminada la cirugía transcurrieron cinco días de reposo pos-operatorio, y una vez que transcurridos se iniciaron los procedimientos conductuales.



Figura 9. Fotografía de un sujeto del presente estudio durante la cirugía estereotáxica.

5.3 Microinyección de Anisomicina. La administración de anisomicina se realizó con una bomba de perfusión lenta (World Precision Instruments Inc., modelo sp200i, E.U.A.), acoplada a una microjeringa Hamilton de 10 μ l, conectada a través de un tubo de polietileno calibre PE-20 a un inyector de 14 mm de longitud, fabricado con un tubo de aguja hipodérmica de acero inoxidable del número 30 (Fig. 10). La infusión de 0.5 μ l se realizó durante un minuto y se dejó el microinyector dentro de la cánula durante un minuto adicional para permitir una mejor difusión. Las dosis de anisomicina que se emplearon se definirán más adelante; los grupos controles recibieron 0.5 μ l del vehículo de la anisomicina (solución salina). La anisomicina (ANI), actúa a nivel de traducción bloqueando la peptidil transferasa y en una administración local (intracerebral en el hipocampo) alcanza su grado máximo de inhibición (entre un 90-95 %) alrededor de los 15 minutos después de la inyección (Meiri, et al, 1997; Canal & Gold, 2007).



Figura 10. Bomba de perfusión lenta.

5.4 Aparatos. La cámara de evitación inhibitoria (EI), está compuesta por dos compartimientos del mismo tamaño (30x30x30 cm cada uno) separados por una puerta tipo guillotina. Un compartimiento “de seguridad” iluminado por un foco de 10 watts colocado en la tapadera del compartimiento y con una rejilla en el piso. El otro compartimiento “de castigo”, es relativamente oscuro y sus paredes laterales de acero inoxidable tienen forma de V, las cuales llegan al piso del compartimiento, estando separadas en este lugar por una distancia de

1.5 cm (justo a la mitad del compartimiento). Estas laminas pueden ser electrificadas por un estimulador de pulsos cuadrados (Grass Instruments Co., modelo S48G). La duración de la aplicación de los estímulos, las latencias de entrada y de retención fueron medidas automáticamente con ayuda de una computadora la cual permite la presentación de estímulos y el registro de las latencias de adquisición, escape y retención, que se definen más adelante. La cámara de evitación inhibitoria esta ubicada en un cuarto sonoamortiguado (Fig. 11).



Figura 11. Cámara de evitación inhibitoria.

5.5 PROCEDIMIENTOS

Manipulación. Se realizó por tres días una vez transcurrido el post-operatorio, y consistió en manipular a los animales por parte del experimentador durante 3 minutos cada día, usando una toalla, sobre la que se colocaba al animal mientras el experimentador revisaba las cánulas, y habituaba al animal al manejo del experimentador. El último día de manipulación se introdujo en la cánula un falso inyector para verificar que no estuvieran tapadas.

Evitación inhibitoria (EI). Entrenamiento. Cada rata se colocó en el compartimiento de seguridad, y 10 s después la compuerta se abrió y se registró el tiempo que tarda en pasar al compartimiento de castigo (latencia de entrada); una vez que el animal hubo pasado se cerró la compuerta y se

administró un choque eléctrico (las intensidades se especificarán en la descripción de cada experimento). Transcurridos 5 s de choque eléctrico, la puerta se abrió y, se registró el tiempo que tardó en salir del compartimiento de castigo al de seguridad (latencia de escape). Los sujetos permanecieron ahí por 30 s y después se les regreso a su caja-habitación.

Prueba de retención. Dependiendo del experimento en particular, la medición de la retención se realizó a los 30 minutos o a las 48 horas después del entrenamiento, siguiéndose el mismo procedimiento de la sesión de entrenamiento, excepto que no se administró el choque eléctrico. Se registró la latencia de retención, que es el tiempo que el animal tarda en pasar del compartimiento de seguridad al de castigo. Si no cruzó en 600 segundos al compartimiento de castigo, se dio por terminada la sesión y se le asignó una latencia de retención de 600 segundos.

5.6 ANÁLISIS HISTOLÓGICO

Al término de las pruebas conductuales, los sujetos fueron perfundidos, a través del ventrículo izquierdo, con solución salina isotónica seguida de formaldehído al 10%; se extrajo el cerebro y posteriormente se realizaron cortes coronales de 50 μm de espesor que fueron teñidos con la técnica de Nissl. Los cortes fueron inspeccionados con un microscopio para localizar el lugar en el que estuvieron alojadas las puntas de los inyectores, y así poder determinar los sujetos que tuvieron las cánulas en el hipocampo dorsal, y descartar del experimento a los que las tuvieron fuera de esta estructura (Figura12). El total de sujetos incluidos o descartados del presente estudio se presentan en la tabla 2.

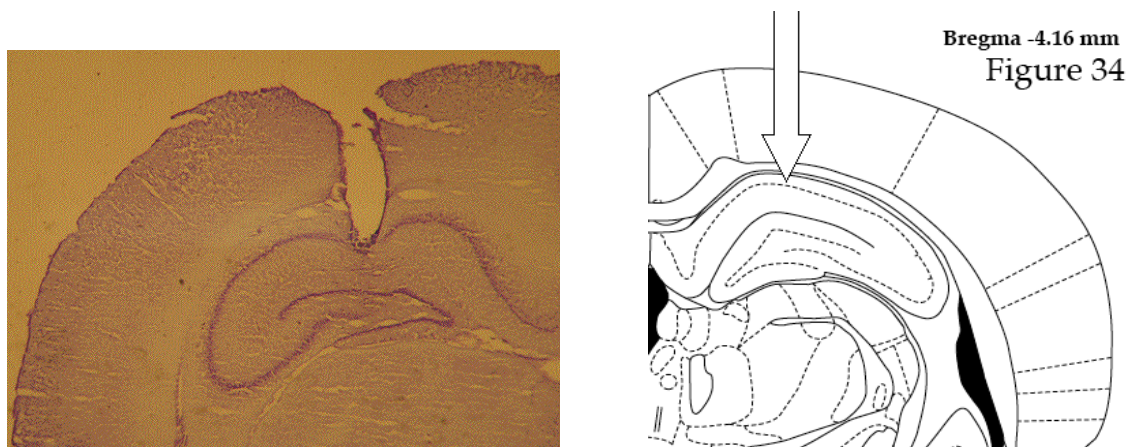


Figura 12. Corte coronal del hipocampo dorsal. Del lado derecho se muestra el esquema del atlas de Paxinos & Watson (1998), donde llega la punta del inyector (flecha) y del lado izquierdo se muestra una fotografía de un corte coronal del hipocampo dorsal de un sujeto del presente estudio.

HISTOLOGIA	EXPERIMENTOS				TOTAL
	1	2	3	4	
Sujetos Incluidos	47	69	18	17	151
Sujetos Descartados	13	18	3	2	36
TOTAL	60	87	21	19	187

Tabla 2. Resultados del análisis histológico, se muestran el total de sujetos de cada experimento que se incluyeron o se descartaron para el análisis estadístico. En la columna de la derecha se muestra el total de sujetos incluidos (150) y descartados (36) de los cuatro experimentos, como el total de sujetos empleados en todo el estudio (186). En la fila inferior se muestra la sumatoria de los sujetos incluidos y descartados del análisis estadístico, por cada experimento.

5.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para los experimentos 1 y 2, se analizaron en forma independiente las latencias de entrada, escape y retención de EI con la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis, y la prueba post-hoc U de Mann Whitney para determinar si hubo diferencias significativas entre cada par de grupos.

Por otra parte, en los experimentos 3 y 4 se analizaron en forma independiente las latencias de entrada, escape y retención por medio de la prueba no paramétrica U de Mann Whitney.

6. EXPERIMENTOS

6.1 EXPERIMENTO 1. CURVA DOSIS RESPUESTA

En este experimento se estudió el efecto amnésico de la ANI con diferentes dosis empleando un diseño experimental de grupos independientes, como se muestran en la tabla 2, para conocer qué dosis es la que tiene el efecto óptimo para inducir amnesia cuando se administra en el hipocampo dorsal, además se tuvo un grupo control (VEH) el cual se le administro el vehículo de la ANI. La intensidad de choque administrado fue de 0.8 mA en todos los grupos y la prueba de retención fue a las 48 horas después del entrenamiento.

Intensidad de Choque	0.8 mA				
Dosis $\mu\text{g}/0.5 \mu\text{l}$	VEH (n=9)	ANI 15.62 (n=10)	ANI 31.25 (n=9)	ANI 62.5 (n=10)	ANI 93.7 (n=9)

Tabla 3. Diseño experimental de grupos independientes. VEH: grupo control, ANI: grupos que se les administro anisomicina con diferentes dosis 15.62, 31.25, 62.5 y 93.7 ($\mu\text{g}/0.5\mu\text{l}$). La intensidad de choque en el entrenamiento de EI para todos los grupos fue de 0.8 mA Entre paréntesis se indica el número de sujetos por grupo.

En la Figura 13, se muestra el desarrollo temporal de este experimento. Inició una vez que a los animales se les implantó las cánulas en el hipocampo dorsal, seguido de cinco días pos-operatorios, se iniciaron las manipulaciones de los animales por tres días, al día siguiente 15 minutos antes del entrenamiento de EI, se administró la ANI y la prueba se realizó a las 48 horas. Terminado el experimento los animales fueron perfundidos.

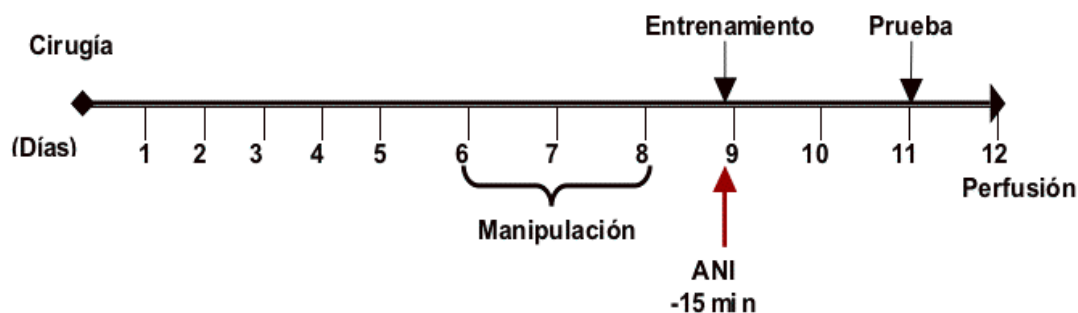


Figura 13. Desarrollo temporal del experimento 1. La flecha roja indica que la administración de ANI en el hipocampo dorsal fue 15 minutos antes del entrenamiento de EI, mientras las flechas negras indican el entrenamiento y la prueba de EI.

6.2 RESULTADOS EXPERIMENTO 1

En el análisis estadístico de las latencias de entrada (tiempo que tardaron los animales en atravesar del compartimiento de seguridad al de castigo) no se encontraron diferencias significativas entre los grupos que recibirían los diferentes tratamientos (Figura 14), así como tampoco en las latencias de escape (tiempo que tarda el sujeto en escapar del compartimiento de castigo al de seguridad) (Figura 15).

En el análisis estadístico de la latencia de retención (tiempo que tarda el sujeto en pasar del compartimiento de seguridad al de castigo en el día de la prueba), se encontraron diferencias significativas entre los grupos ($H=12.41$, $p<0.0061$). Al compararse con el grupo control (vehículo), se encontraron diferencias significativas con las dosis de $62.5 \mu\text{g}/0.5 \mu\text{l}$ ($U=12$, $p<0.0015$) y de $93.7 \mu\text{g}/0.5 \mu\text{l}$ ($U=22$, $p<0.0186$), pero no se encontraron diferencias significativas en las dosis de $15.62 \mu\text{g}/0.5 \mu\text{l}$ y de $31.25 \mu\text{g}/0.5 \mu\text{l}$ (ver Figura 16).

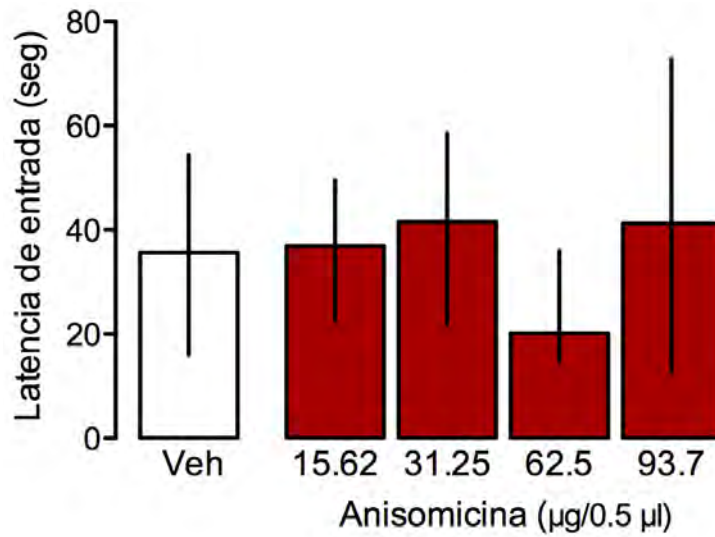


Figura 14. Latencias de entrada (expresadas en medianas y rangos intercuantiles), de los grupos a los que se les administro anisomicina en el hipocampo dorsal (cada barra roja se indica la dosis administrada) y el grupo control (Veh).

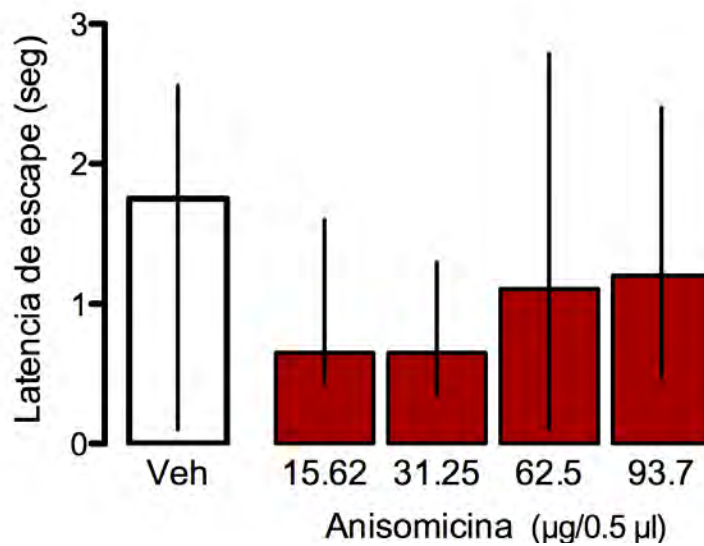


Figura 15. Latencias de escape (expresadas en medianas y rangos intercuantiles), de los grupos a los que se les administro anisomicina en el hipocampo dorsal (cada barra roja se indica la dosis administrada) y el grupo control (Veh).

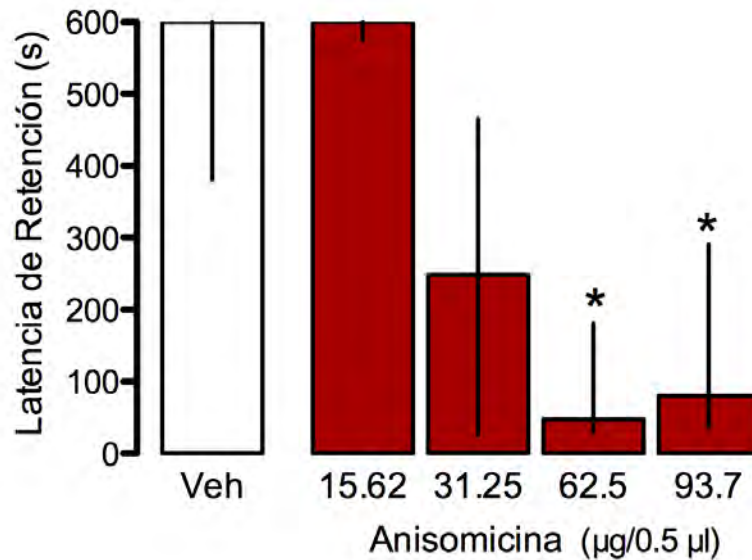


Figura 16. Latencias de retención (expresadas en medianas y rangos intercuantiles), de los grupos a los que se les administro anisomicina en el hipocampo dorsal (cada barra roja se indica la dosis administrada) y el grupo control (Veh). * Diferencia del vehiculo $p < 0.05$.

6.3 DISCUSIÓN EXPERIMENTO 1

Los resultados obtenidos mostraron que la administración del vehículo o de las diferentes dosis ANI en el hipocampo dorsal, no produjeron diferencias significativas en el tiempo que tardaron en entrar al compartimiento de castigo durante el entrenamiento, así como tampoco en el tiempo que tardaron en escapar del compartimiento de castigo al de seguridad. Estos datos indican que al no haber diferencias en las latencias de entrada y de escape, todos los grupos tuvieron la misma capacidad motora en la adquisición de la tarea, así como la misma capacidad para responder al estímulo aversivo, es decir, sus sistemas aferentes y eferentes involucrados en la respuesta de escape funcionaban correctamente.

Por otra parte, los resultados de las latencias de retención de EI nos indican que la administración de ANI en el hipocampo dorsal con las dosis de 62.5 µg/ 0.5 µl y 93.7 µg/ 0.5 µl, produce el efecto amnésico que la literatura ha reportado, sin embargo no se encontró dicho efecto con las dosis de 15.62 µg/ 0.5 µl y de 31.25 µg/ 0.5 µl; por lo tanto la ANI tiene un efecto amnésico

dosis-respuesta. Es importante señalar que de las dos dosis que presentaron el efecto amnésico, la dosis de 62.5 µg/ 0.5 µl ha sido reportada como amnésica por otros laboratorios cuando es administrada en la amígdala (Canal & Gold, 2007), y por nuestro laboratorio al ser administrada en la corteza insular (Huichín, 2007).

Como se mencionó en la introducción, se conoce que un ISPs como la ANI, interfiere con la consolidación de la memoria cuando se administra antes del entrenamiento (Davis & Squire, 1984; Quevedo, 2007). Por tanto, estos resultados son consientes con la literatura en cuanto que la administración local de ANI en el hipocampo tiene un efecto amnésico en EI (Cammarotta, et al., 2007; Canal & Gold, 2007; Quevedo, et al., 2007); sin embargo, recientemente se a puesto en duda que la amnesia inducida por la ANI se deba a la inhibición de la síntesis de proteínas, y se propone que mas bien se debe a un posible efecto secundario que tiene la administración local de ANI, como es un incremento en la liberación de monoaminas (Canal et al., 2007). Al menos, bajo las condiciones empleadas en este experimento se encontró que la ANI con dosis administradas antes del entrenamiento, interfiere con la consolidación de la memoria de la tarea de EI.

6.4 EXPERIMENTO 2. CURVA DE INTENSIDAD

Se decidió emplear la dosis de 62.5 $\mu\text{g}/0.5 \mu\text{l}$ para inducir amnesia en la tarea de EI para éste y para los siguientes experimentos, además, existe evidencia experimental que esta dosis administrada en la corteza insular (Huichín, 2007), en la amígdala (Canal & Gold, 2007) y en el hipocampo (Quevedo, et al., 2007), tiene efectos amnésicos en la tarea de EI. Por lo tanto, el objetivo de este experimento fue determinar si el aprendizaje con sobrerreforzamiento protege a la memoria contra el efecto amnésico de los ISPs. Para ello, se administró la dosis de ANI de 62.5 $\mu\text{g}/0.5\mu\text{l}$, y se aplicaron tres intensidades de choque (0.8, 1.0 y 2.0 mA), adicionalmente se empleo una dosis mayor de ANI (100 $\mu\text{g}/0.5\mu\text{l}$) en condiciones altas de reforzamiento (2.0 mA). El diseño experimental empleado fue de grupos independientes para cada intensidad de choque, como se muestran en la tabla 3.

Intensidad de Choque	0.8 mA	1.0 mA	2.0 mA
Dosis ($\mu\text{g}/ 0.5 \mu\text{l}$)	ANI 62.5 (n=10)	ANI 62.5 (n=10)	ANI 62.5 (n=10) *ANI 100 (n=10)
	VEH (n=9)	VEH (n=10)	VEH (n=10)

Tabla 4. Diseño experimental de grupos independientes. VEH: grupos control, ANI: grupos con administración de anisomicina en una dosis de 62.5 $\mu\text{g}/0.5\mu\text{l}$, *ANI: grupo con administración de anisomicina en una dosis de 100 $\mu\text{g}/0.5\mu\text{l}$. La intensidad de choque en el entrenamiento de EI, fue de 0.8, 1.0 y 2.0 mA. Entre paréntesis se indica el número de sujetos por grupo.

En la figura 17, se muestra cómo fue el desarrollo temporal de este experimento; 15 minutos antes del entrenamiento se administro la ANI en el hipocampo dorsal, y la prueba se realizo 48 horas más tarde.

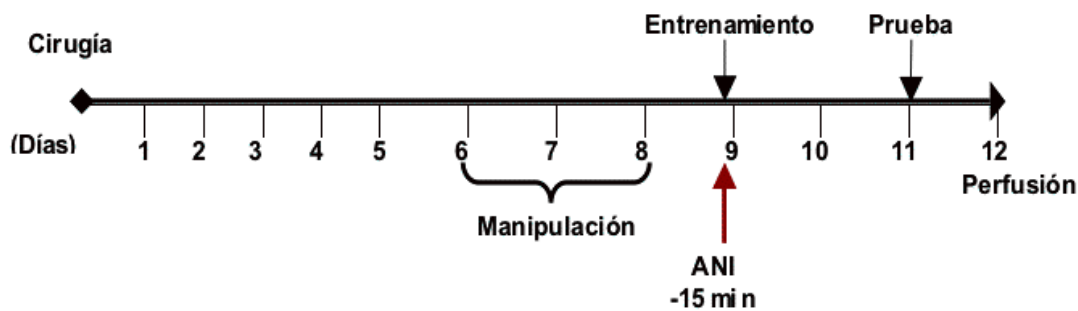


Figura 17. Desarrollo temporal del experimento 2. La flecha roja indica que la administración de ANI en el hipocampo dorsal fue 15 minutos antes del entrenamiento de EI, mientras las flechas negras indican el entrenamiento y la prueba de EI.

6.5 RESULTADOS EXPERIMENTO 2

El análisis estadístico de las latencias de entrada mostró que no se encontraron diferencias significativas entre los grupos (Figura 18). Igualmente, en las latencias de escape no se encontraron diferencias significativas entre los grupos (ver Figura 19).

En el análisis estadístico de las latencias de retención (tiempo que tarda el sujeto en pasar del compartimiento de seguridad al de castigo en el día de la prueba), se encontraron diferencias significativas entre los grupos ($H=12.71$, $p<0.0017$). Se encontraron diferencias significativas entre los grupos a los que se les administró ANI con su grupo control (VEH), cuando se les entrenó con las intensidades de 0.8 mA ($U=15$, $p<0.0018$) y 1.0 mA ($U=21$, $p<0.0034$). En contraste, no se encontraron diferencias significativas entre los grupos que se les administro ANI con su grupo control (VEH) con la intensidad de choque de 2.0 mA. Además, se compararon los grupos que recibieron ANI en las distintas intensidades, y no se encontraron diferencias significativas entre las intensidades de 0.8 y 1.0 mA, pero si hay diferencias significativas entre la intensidad de 2.0 mA con respecto a las demás intensidades ($U=15$, $p<0.0017$).

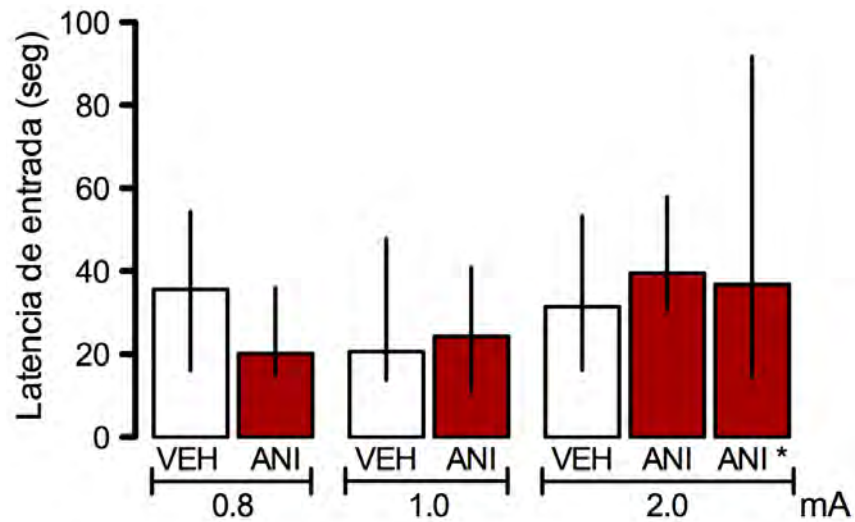


Figura 18. Latencias de entrada (expresadas en medianas y rangos intercuantiles), de los grupos que recibieron diferentes intensidades de choque (0.8, 1.0 y 2.0 mA) en el entrenamiento de la tarea de EI. Por cada intensidad de choque se tiene un grupo que se le administro ANI en el hipocampo dorsal (62.5 µg/0.5µl), y un grupo control (VEH). ANI* grupo que se le administro ANI con una dosis de 100 µg/0.5µl.

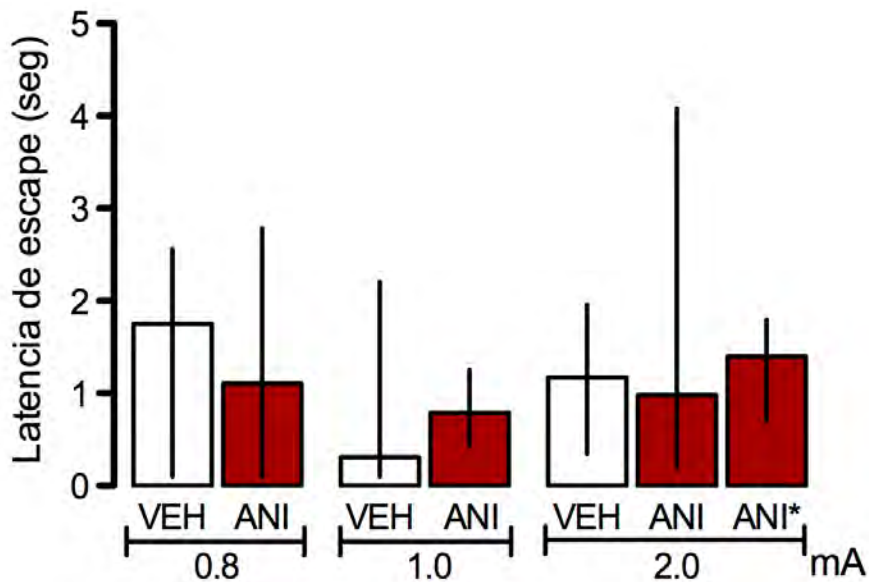


Figura 19. Latencias de escape (expresadas en medianas y rangos intercuantiles), de los grupos que recibieron diferentes intensidades de choque (0.8, 1.0 y 2.0 mA) en el entrenamiento de la tarea de EI. Por cada intensidad de choque se tiene un grupo que se le administro ANI en el hipocampo dorsal (62.5 µg/0.5µl), y un grupo control (VEH). ANI* grupo que se le administro ANI con una dosis de 100 µg/0.5µl.

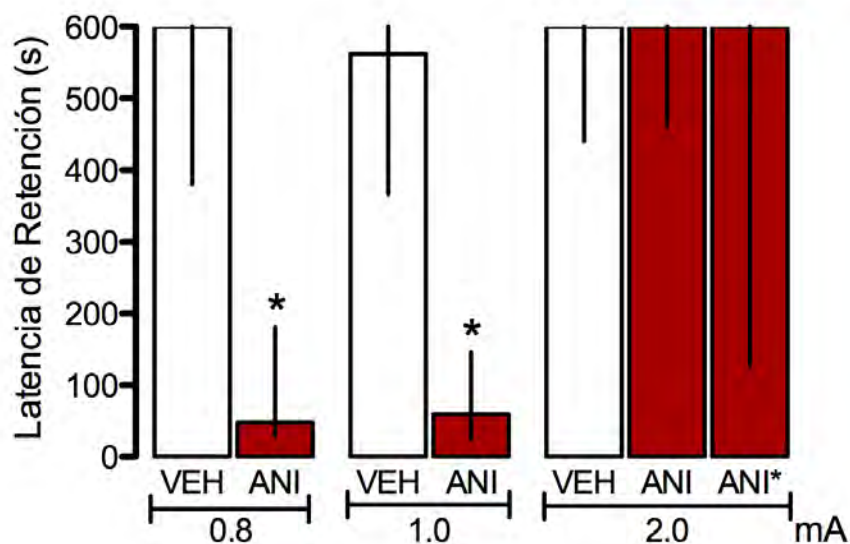


Figura 20. Latencias de retención (expresadas en medianas y rangos intercuartiles), de los grupos que recibieron diferentes intensidades de choque (0.8, 1.0 y 2.0 mA) en el entrenamiento de la tarea de EI. Por cada intensidad de choque se tiene un grupo que se le administro ANI en el hipocampo dorsal (62.5 μ g/0.5 μ l.), y un grupo control (VEH). ANI* grupo que se le administro ANI con una dosis de 100 μ g/0.5 μ l. *Diferencias significativas con respecto a su control ($p < 0.005$).

6.6 DISCUSIÓN EXPERIMENTO 2

Los resultados de este experimento muestran que la administración de ANI en el hipocampo dorsal no tiene efectos en las latencias de entrada y de escape en todas las intensidades de choque con que se entrenó EI, ya que no se encontraron diferencias significativas entre los grupos.

Los resultados de la latencia de retención, muestran que la ANI en el hipocampo dorsal interfiere con la consolidación de la memoria de EI cuando se entrenó con intensidades de choque de 0.8 y 1.0 mA, pero no cuando se entrenó con una intensidad de choque de 2.0 mA (Figura 20); es decir, se observó el efecto protector del sobrerreforzamiento ante tratamientos amnésicos como es la ANI, incluso en el grupo que recibió una dosis mayor de ANI (100 μ g/0.5 μ l). Estos resultados muestran que cuando se incrementa el aprendizaje la ISPs ya no interfiere con la consolidación, o bien ya no es necesario el hipocampo dorsal para esta tarea y otra estructura entra en relevo. Por tanto, estos resultados son consistentes con estudios previos del

laboratorio, ya que la administración sistémica de cicloheximida tiene un efecto amnésico en EI (Díaz-Trujillo et al., 2009) y en EA (Marin, et al., 2008), pero al aumentar el aprendizaje (sobrerreforzamiento), la amnesia inducida por la cicloheximida ya no se presenta. De tal forma, la ISPs ya sea local (en el hipocampo dorsal) o sistémica deja tener el efecto amnésico cuando hay un sobrerreforzamiento en esta tarea.

Como se mencionó antes, se ha puesto en duda que la consolidación depende de la síntesis de proteínas, ya que Canal, et al., (2007) reportaron que los efectos secundarios de la microinyección de ANI, son la causa del efecto amnésico, por tanto este experimento apoya esta propuesta.

Nuestros resultados no sólo apoyan la idea de que la síntesis de proteínas no es necesaria para la consolidación de la memoria, sino que en condiciones de sobrerreforzamiento, la amnesia no se presenta, a pesar de los efectos inespecíficos del ISPs (liberación masiva de neurotransmisores). Por lo tanto, el principal resultado de este experimento es, que cuando se incrementa la calidad del aprendizaje (sobrerreforzamiento) se presenta un efecto protector ante los efectos de la ANI.

6.7 EXPERIMENTO 3. MEMORIAS DE CORTO Y LARGO PLAZO

El propósito de este experimento fue estudiar si la administración de ANI en el hipocampo dorsal interfiere con la memoria de corto plazo (MCP) de la tarea de EI o únicamente interfiere con la memoria de largo plazo (MLP). Se emplearon dos grupos (ver tabla 4), un grupo de sujetos con administración de ANI (62.5 $\mu\text{g}/0.5\mu\text{l}$) y un grupo control (VEH), 15 minutos antes del entrenamiento de la tarea de EI (intensidad de choque fue de 0.8 mA). La prueba de MCP se realizó a los 30 minutos (MCP) y la prueba de MLP se realizó a las 48 horas. En la figura 21 se muestra el desarrollo del experimento.

Intensidad de Choque	0.8 mA	
Dosis ($\mu\text{g}/0.5 \mu\text{l}$)	VEH (n=9)	ANI 62.5 (n=9)

Tabla 5. Diseño experimental de grupos independientes. VEH: grupo control, ANI: grupo con administración de anisomicina (62.5 $\mu\text{g}/0.5\mu\text{l}$). La intensidad de choque en el entrenamiento de EI para ambos grupo fue de 0.8 mA. Entre paréntesis se indica el número de sujetos por grupo.

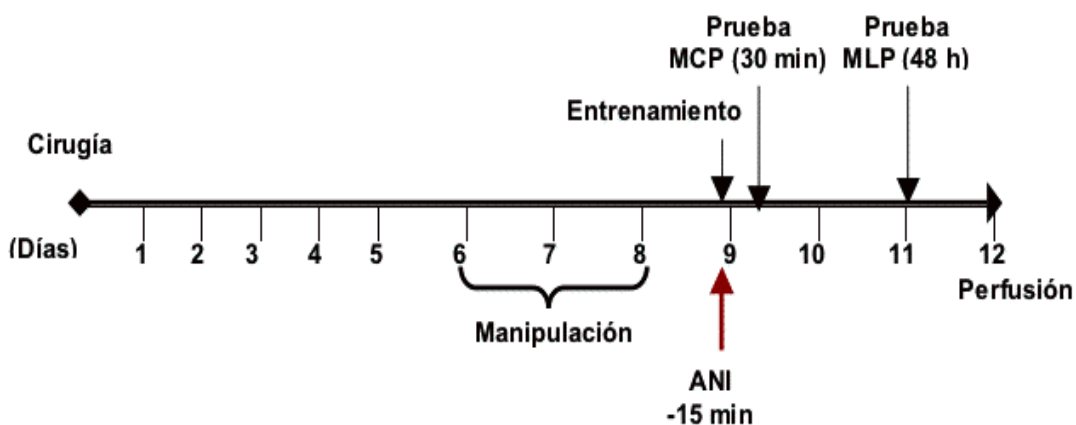


Figura 21. Desarrollo temporal del experimento 3. La flecha roja indica que la administración de ANI en el hipocampo dorsal fue 15 minutos antes del entrenamiento de EI, mientras las flechas negras indican el entrenamiento y la prueba de MCP a los 30 minutos y la prueba de MLP a las 48 horas.

6.8 RESULTADOS EXPERIMENTO 3

En el análisis estadístico de las latencias de entrada no se encontraron diferencias significativas entre el grupo que recibió ANI y su VEH (Figura 22). Además, en el análisis estadístico de las latencias de escape no se encontraron diferencias significativas entre los grupos (Figura 23).

En el análisis estadístico de las latencias de retención no se encontraron diferencias significativas entre la MCP entre ANI y su vehículo. Mientras que en la MLP se encontraron diferencias significativas entre ANI con su VEH ($U=12$, $p<0.016$), además que se encontraron diferencias significativas entre la MCP y la MLP del grupo que recibió ANI ($U=22$, $p<0.0009$).

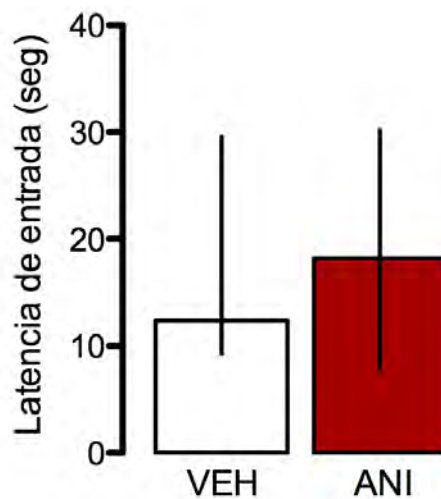


Figura 22. Latencias de entrada (expresadas en medianas y rangos intercuantiles), del grupo que se le administro anisomicina ($62.5 \mu\text{g}/0.5\mu\text{l}$) en el hipocampo dorsal (ANI, barra roja) y del grupo control (VEH, barra blanca).

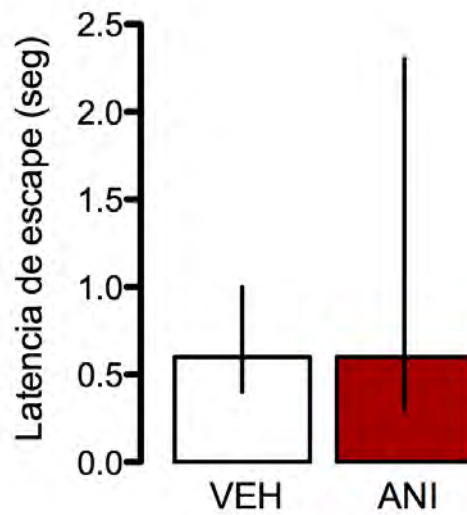


Figura 23. Latencias de escape (expresadas en medianas y rangos intercuantiles), del grupo que se le administro anisomicina (62.5 $\mu\text{g}/0.5\mu\text{l}$) en el hipocampo dorsal (ANI, barra roja) y del grupo control (VEH, barra blanca).

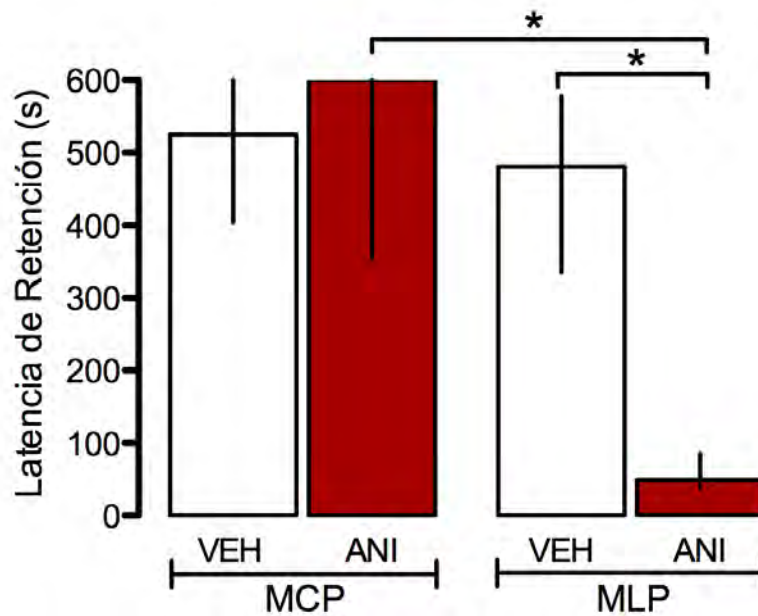


Figura 24. Latencias de retención (expresadas en medianas y rangos intercuantiles), del grupo que se le administro anisomicina (62.5 $\mu\text{g}/0.5\mu\text{l}$) en el hipocampo dorsal (ANI, barra roja) y el grupo control (VEH, barra blanca). En ambos grupos la prueba de MCP fue a los 30 minutos y posteriormente la prueba de MLP fue a las 48 horas. *Diferencias significativas con respecto a su control.

6.9 DISCUSIÓN EXPERIMENTO 3

Los resultados obtenidos nos indican que la administración de ANI en el hipocampo dorsal no bloquea la adquisición ni la MCP de EI, ya que no se encontraron diferencias significativas entre los grupos. Estos resultados son consistentes con la literatura al respecto, ya que se conoce que la administración de un ISPs no interfiere con la adquisición ni con la MCP (Barondes & Cohen, 1965; Davis & Squire, 1984), ya que no dependen de la síntesis de proteínas de *novο*, pero se ha mencionado que requiere de modificaciones post-traduccionales de proteínas existentes pero no de la síntesis de nuevas macromoléculas (Kandel, 2001).

Estos resultados nos permiten señalar que en los Experimentos 1 y 2 de esta tesis, los efectos amnésicos producidos por la administración de anisomicina en el hipocampo dorsal, utilizando intensidades de choque eléctrico relativamente bajas, se debieron a una interferencia con el proceso de consolidación de la memoria, y no a una interferencia con la capacidad de aprendizaje y con el almacenamiento de información en la memoria de corto plazo.

6.10 EXPERIMENTO 4. DEPENDENCIA DE ESTADO

En este experimento se administró la dosis de ANI de 62.5 $\mu\text{g}/0.5\mu\text{l}$ en el hipocampo, para determinar si la administración de la ANI previa al entrenamiento induce un aprendizaje por dependencia de estado. Para descartar esta posibilidad la ANI se administró tanto 15 minutos antes del entrenamiento como 15 minutos antes de la prueba de retención, además se estudió un grupo control al que se administró el vehículo de la ANI, también 15 minutos antes del entrenamiento como 15 minutos antes de la prueba de retención. En la figura 25, se muestra como fue el desarrollo en el tiempo este experimento; 15 minutos antes del entrenamiento y 15 minutos antes de la prueba de retención se administró la ANI. La prueba se realizó a las 48 horas.

Intensidad de Choque	0.8 mA	
Dosis ($\mu\text{g}/0.5 \mu\text{l}$)	VEH (n=9)	ANI 62.5 (n=8)

Tabla 6. Diseño experimental de grupos independientes. VEH: grupo control, ANI: grupo con administración de anisomicina (62.5 $\mu\text{g}/0.5\mu\text{l}$). La intensidad de choque en el entrenamiento de EI para ambos grupos fue de 0.8 mA. Entre paréntesis se indica el número de sujetos por grupo.

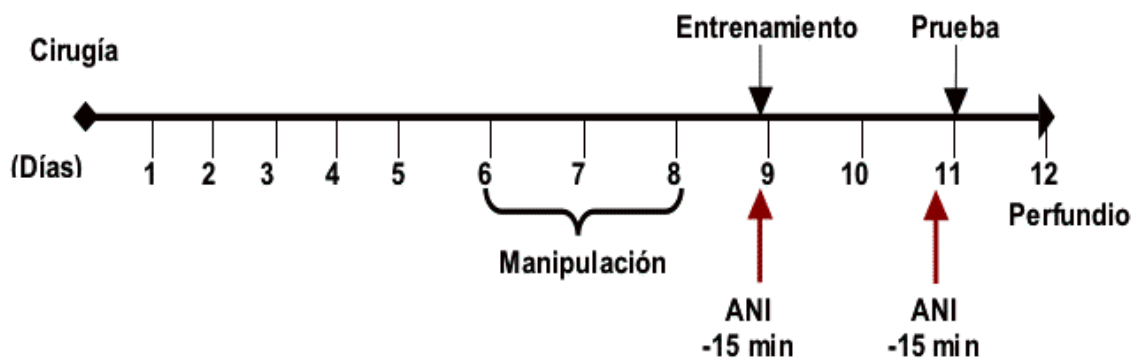


Figura 25. Desarrollo temporal del experimento 4. Las flechas rojas indican que la administración de ANI en el hipocampo dorsal fue 15 minutos antes del entrenamiento y 15 minutos antes de la prueba de EI; mientras las flechas negras indican el entrenamiento y la prueba de EI.

6.11 RESULTADOS EXPERIMENTO 4

El análisis estadístico de las latencias de entrada no mostró diferencias significativas entre el grupo que recibió ANI y con VEH (Figura 26). Además, en el análisis estadístico de las latencias de escape no se encontraron diferencias significativas entre los grupos (Figura 27).

En el análisis estadístico de las latencias de retención se encontraron diferencias significativas entre los grupos ($U=10$, $p<0.0023$) por lo tanto, el grupo que recibió la administración de ANI tiene diferencias significativas en relación al su grupo control (VEH) (ver Figura 28).

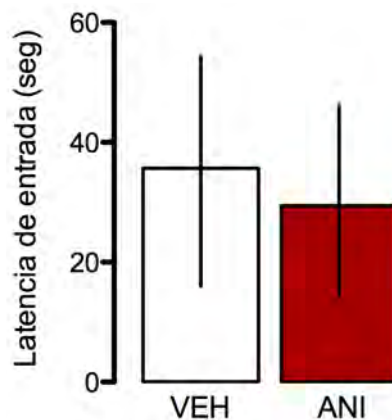


Figura 26. Latencias de entrada (expresadas en medianas y rangos intercuantiles), del grupo que se le administro anisomicina ($62.5 \mu\text{g}/0.5\mu\text{l}$) en el hipocampo dorsal (ANI, barra roja) y del grupo control (VEH, barra blanca).

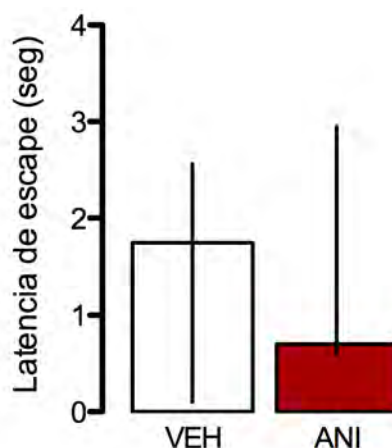


Figura 27. Latencias de escape (expresadas en medianas y rangos intercuantiles), del grupo que se le administro anisomicina ($62.5 \mu\text{g}/0.5\mu\text{l}$) en el hipocampo dorsal (ANI, barra roja) y del grupo control (VEH, barra blanca).

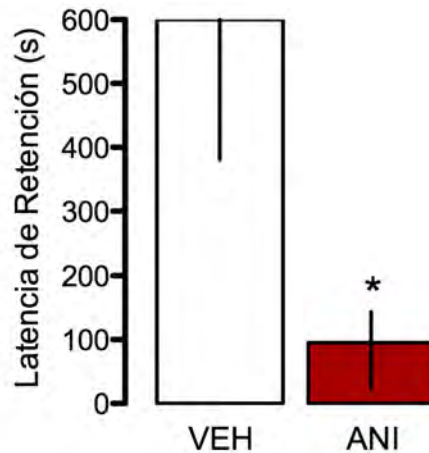


Figura 28. Latencias de retención (expresadas en medianas y rangos intercuartilares), del grupo que se le administro anisomicina (62.5 $\mu\text{g}/0.5\mu\text{l}$) en el hipocampo dorsal (ANI, barra roja) y del grupo control (VEH, barra blanca). *Diferencias significativas con respecto al grupo control ($p < 0.0023$).

6. 12 DISCUSIÓN EXPERIMENTO 4

Los resultados obtenidos en este experimento, nos muestran que cuando se administró ANI antes del entrenamiento y de la prueba, no se presentó un aprendizaje por dependencia de estado, ya que se observa nuevamente el efecto amnésico de la ANI en el hipocampo dorsal que se encontró en experimentos previos. Además, es consistente el efecto amnésico de la ANI cuando se administra previo al entrenamiento (Canal & Gold, 2007; Quevedo, et al., 2007).

Se descarta la posibilidad que se presente un aprendizaje dependiente de estado, al administrar la ANI antes del entrenamiento, ya que si se presentase un aprendizaje dependiente de estado, no se hubieran encontrado diferencias significativas en las latencias de retención de ambos grupos (el que recibió ANI y el que recibió VEH), por lo tanto, al volver a recibir ANI antes de la prueba, se hubiese observado una buena ejecución en su latencia de retención de forma similar al grupo control.

7. DISCUSIÓN GENERAL

La extensa evidencia experimental con que se cuenta hoy en día, nos indicaba que es necesaria la síntesis de proteínas de *novo* para la consolidación de la memoria, dado que al administrar un ISPs ésta se interfería, como se ha discutido extensamente en la literatura, y se ha aceptado, ya que se llegó al acuerdo que este procedimiento demostraba que era necesaria la síntesis de proteínas para la consolidación (Gold, 2008). Los reportes han sido consistentes ya que se ha observado este principio a través de distintas especies, bajo distintas tareas conductuales, y en el presente proyecto se corroboró como muestran los resultados del primer experimento, por tanto, el hipocampo dorsal participa en la consolidación de la tarea de EI y al administrar ANI ésta se interfiere, induciendo un efecto amnésico.

Sin embargo, son pocos los reportes que muestran que la administración de un ISPs no interfiere con la consolidación de la memoria. Flood et al, (1972b) reportan que la administra cicloheximida de forma sistémica, no interfiere con la consolidación de la memoria cuando se incrementa la intensidad de choque en la tarea de EI; en otro reporte del mismo grupo, la administración de ANI de forma sistémica no interfiere con la consolidación de la memoria de la tarea de EI, si se incrementa la intensidad de choque (Flood, et al 1978). En este sentido, Díaz-Trujillo, et al., (2009) reportan que la administración sistémica de cicloheximida antes o inmediatamente después del entrenamiento de EI interfiere con la consolidación cuando se entrenó con intensidades de choque relativamente bajas, pero al incrementar la intensidad de choque los efectos amnésicos de la cicloheximida ya no se presentan.

Los resultados del segundo experimento demuestran que cuando se administra ANI en el hipocampo dorsal y se entrena con intensidades bajas de choque (0.8 y 1.0 mA) en la tarea de EI se presenta el efecto amnésico de la ANI, pero cuando se incrementa la intensidad de choque a 2.0 mA la ANI ya no interfiere con la consolidación de la memoria. Si consideramos la posibilidad

que cuando se entrenó con una intensidad alta se haya presentado una aceleración de la consolidación, el procedimiento experimental contempla que la administración de la ANI en el hipocampo dorsal antes del entrenamiento, permite que se alcance una inhibición proteínica máxima al momento del entrenamiento, ya que se conoce que la ANI tiene efectos a partir de los 15 minutos con una inhibición entre un 90 y 95 % que se mantiene durante 6 horas, y pierde su efecto hasta las 9 y 12 horas (Wanisch & Wotjak, 2008). De tal forma, al menos la participación de síntesis de proteínas de *novo* en el hipocampo dorsal estaba bloqueada por la ANI al momento del entrenamiento, y bajo estas condiciones es difícil asegurar que se presentó una aceleración de la consolidación, ya que el engrama molecular estaba desactivado. O bien cuando se incrementó la intensidad de choque (sobrerreforzamiento), la consolidación no necesariamente requiere de la síntesis de proteínas de *novo*, pero entonces ¿cual sería el mecanismo por el cual se consolida la memoria bajo estas condiciones de sobrerreforzamiento? Al respecto se ha propuesto por Prado-Alcalá (1995) que las estructuras involucradas cambian su configuración, al pasar de circuito en serie a un circuito conectado funcionalmente en paralelo, de tal forma que cuando ocurre alguna interferencia en una o varias de las estructuras, la información derivada de la experiencia de aprendizaje sigue su curso hacia el resto de los elementos del sistema para que se produzca la consolidación de la memoria.

Ya que se ha empleado una técnica farmacológica (la administración sistémica o local de un ISPs), para estudiar y demostrar que la consolidación de la memoria requiere de la síntesis de proteínas de *novo*, también se ha discutido los posibles efectos de la ISPs, (Gold, 2008; Routternberg & Rekart, 2005). Pareciera ser que la teoría aceptada de la consolidación de la memoria se necesita revisar, ya que recientemente se ha reportado (Canal, Chang & Gold, 2007) que el efecto que tiene la ANI en primera instancia es la ISPs, pero también se ha demostrado que tiene un efecto secundario al incrementar la liberación masiva de neurotransmisores (dopamina, noradrenalina y serotonina), con este reporte se evidencio que el efecto amnésico de la ANI se debe más al efecto secundario que desencadena que a la ISPs. Por tanto, se

ha puesto en duda si la consolidación de la memoria depende de la síntesis de proteínas, ya que se cuenta con la evidencia experimental de estudios previos del laboratorio (Díaz-Trujillo, et al., 2009) como la presente tesis, que no se requiere de la síntesis de proteínas de *novο* para la consolidación. O bien, no necesariamente se requiere de la síntesis de proteínas de *novο* para la consolidación de la memoria, mas bien, pudiesen ser las modificaciones post-traduccionales de proteínas que ya se encuentran en las sinapsis podrían ser el engrama molecular de la MLP (Routtenberg & Rekart, 2005). Sin embargo, hace falta mas evidencia experimental de los mecanismos moleculares que subyacen de consolidación de la memoria, para poder conocer si es o no necesaria la síntesis de proteínas de *novο* para la consolidación de la memoria.

Por otra parte, en una revisión de los mecanismos de la consolidación recientemente publicada por Medina, et al., (2008) mencionan que las principales preguntas en la investigación de la consolidación de la memoria han sido: 1) ¿Cual es el curso temporal de la consolidación? 2) ¿Es la consolidación es un proceso unitario? 3) ¿Cuáles son las regiones cerebrales que participan en la consolidación? 4) ¿Cómo forma el cerebro los recuerdos persistentes? 5) ¿Cómo la información del hipocampo se transfiere a una consolidación final a la corteza cerebral? Estas preguntas se han abordado bajo distintas metodologías para poder conocer los sustratos neuroanatómicos, neurofisiológicos, neuroquímicos y moleculares bajo los cuales opera la consolidación de la memoria. En particular, en el presente estudio se empleó una técnica farmacológica para demostrar que la consolidación de la memoria no se interfiere por la administración ANI en el hipocampo dorsal cuando se incrementa la intensidad de choque en la prueba de EI; y es consistente con la hipótesis que el aprendizaje incrementado (sobrerreforzamiento) protege la formación de la memoria de tratamientos amnésicos.

8. CONCLUSIONES.

- La administración de ANI en el hipocampo dorsal interfiere con la consolidación de la memoria de EI, cuando se emplean intensidades de choque relativamente bajas (0.8 y 1.0 mA).
- Cuando se entrena con una alta intensidad de choque (2.0 mA) en EI, el la administración de ANI en el Hipocampo dorsal ya no interfiere con la consolidación de la memoria.
- Hay un efecto protector del sobrerreforzamiento ante tratamientos amnésicos como la administración de ANI en el hipocampo dorsal.
- La administración de ANI en el hipocampo dorsal no tiene efectos en la adquisición ni en la MCP, pero interfiere con la consolidación y la MLP de EI.
- No se presente un aprendizaje por dependencia de estado, por la administración de ANI previa al entrenamiento.

9. BIBLIOGRAFIA

- Agranoff, B. W., Davis, R. E., & Brink, J. J. (1965). Memory fixation in the goldfish. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 54: 788-793.
- Almaguer-Melian, W., Vallejo, A., Ramírez, M., Capdevila, V., Rosillo-Martí, J.C. & Bergado-Rosado J.A. (2003). Estudio comparativo de la lesión bilateral de corteza entorrinal y de la fimbria-fórnix. *Revista de Neurología*, 37: 619-622.
- Amaral, D., Scharfman, H. E. & Lavenex, P. (2007). The dentate gyrus fundamental neuroanatomical organization (dentate gyrus for dummies). *Progress in Brain Research*, 163.
- Anderson, J. (2001). *Aprendizaje y Memoria. Una enfoque integral*. McGraw-Hill, México.
- Bain, A. (1872). *Mind and body: The theories of their relation*. London: Henry King.
- Bammer G. (1982). Pharmacological Investigations of Neurotransmitter Involvement in Passive Avoidance Responding: A Review and Some New Results. *Neuroscience and Biobehavioral Review*, 6: 247-297.
- Barondes, S. H. & Jarvik, M. E. (1964). The influence of actinomycin D on brain RNA síntesis and on memory. *Journal of Neurochemistry*, 11: 187-195.
- Barondes S. H. & Cohen, H. D. (1967a). Delayed and sustained effect of acetoxycycloheximide on memory in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 58: 157-164.
- Barondes S. H. & Cohen, H. D. (1967b). Comparative effect of cycloheximide and puromycin on cerebral protein synthesis and consolidation of memory. *Brain Research*, 4: 44-51
- Bermúdez-Rattoni, F., Quirarte, G. & Prado-Alcalá, R. A. (2001). Los perros de Pavlov. En Bermúdez-Rattoni, F. & Prado-Alcalá, R. (Eds.) *Memoria: donde reside y como se forma*. México: Trillas.
- Cammarota, M., Bevilaqua, L. R. M., Rossato, J. I. Ramirez, M., Medina, J. H. & Izquierdo, I. (2005). Relationship between short- and long-term

- memory and short- and long-term extinction. *Neurobiology of Learning and Memory*, 84: 25-32.
- Cammarota M., Bevilaqua L. R. M., Medina J. H., Izquierdo I. (2007). Retrieval does not induce reconsolidation of inhibitory avoidance memory. *Learning & Memory*, 11: 572-578.
- Canal, C. E., Chang, Q. & Gold, P. E. (2007). Amnesia produced by altered release of neurotransmitters after intra amygdala injections of a protein synthesis inhibitor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104: 12500–12505.
- Canal, C. E. & Gold, P. E. (2007). Different temporal profiles of amnesia after intra-hippocampus and intra-amygdala infusions of anisomycin. *Behavioral Neuroscience*, 121: 732–741.
- Chapouthier, G. (1983). Protein Síntesis and Memory. In Deutsch, J. A. (Ed). *The Physiological Basis of Memory*. USA: Academia Press.
- Cobos-Zapiain, G. G., Salado-Castillo, R., Sanchez-Alavez, M., Quirarte, G. L., Roldan-Roldan, G., Díaz del Guante, M. A., & Prado-Alcalá, R. A. (1996). High Level of Footshock during Inhibitory Avoidance Training Prevents Amnesia Induced by Intranigral Injection of GABA Antagonists. *Neurobiology of Learning and Memory*, 65: 202-206.
- Cohen, H. D. & Barondes, S. H. (1966). Further studies of learning and memory after intracerebral actinomycin D. *Journal of Neurochemistry*, 13: 207-211.
- Correa, M. (2007). Neuroanatomía funcional de los aprendizajes implícitos: asociativos, motores y de hábito. *Revista de Neurología*, 44: 234-242.
- Cruz-Morales, S. E., Duran-Arévalo, M., Díaz Del Guante, M. A., Quirarte, G., & Prado-Alcalá, R. A. (1992). A threshold for the protective effect of over-reinforced passive avoidance against scopolamine-induced amnesia. *Behavioral and Neural Biology*, 57: 256-9.
- Cruz-Morales, S. E., Reyes-Cervantes, G., Gómez-Romero, J. López, Y., y Secundino, I. (1999) “La escopolamina produce amnesia anterógrada en evitación inhibitoria entrenada con diferentes magnitudes de reforzamiento. *Revista Mexicana de Psicología*, 16: 195-202.

- Cruz-Morales, S.E. & Prado-Alcalá, R.A. (2002). Efectos de la administración de escopolamina en evitación inhibitoria: estudio paramétrico. En Arriaga, R. P., Hernández, P. M. & López, R. F. (Eds.). *Perspectivas de la Psicología Experimental en México I*. México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Davis, H. P. & Squire, L. R. (1984). Protein synthesis and memory: a review. *Psychological Bulletin*, 96: 518-59.
- D'Hooge, R. & De Deyn, P. P. (2001). Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. *Brain Research Reviews*, 36: 60–90.
- Díaz del Guante, M. A., Rivas-Arancibia, S., Quirarte, G., & Prado-Alcalá, R. A. (1990). Over-reinforcement protects against memory deficits induced by muscarinic blockade of the *striatum*. *Boletín de Estudios Médicos y Biológicos*, 38: 49-53.
- Díaz-Trujillo, A., Contreras, J., Medina, A. C., Silveyra-Leon, G. A., Quirarte, G. L. and Prado-Alcalá, R. A. (2009). Enhanced inhibitory avoidance learning prevents the long-term memory-impairing effects of cycloheximide, a protein synthesis inhibitor. *Neurobiology of Learning and Memory*, 91: 310-314.
- Duran-Arévalo, M., Cruz-Morales, S. E., & Prado-Alcalá, R. A. (1990). Is acetylcholine involved in memory consolidation of over-reinforced learning? *Brain Research Bulletin* 24: 725-7.
- Dudai, Y. (2002). Molecular bases of long-term memories: a question of persistence. *Current Opinion in Neurobiology*, 12: 211-216.
- Dudai, Y. (2004). The neurobiology of consolidations, or, how stable is the engram? *Annual Review of Psychology*, 55: 51–86.
- Dingman, W. & Sport, M. B. (1964). Molecular theories of memory. *Science*, 144: 26-29.
- Duncan, C. P. (1949). The retroactive effect of electroshock on learning. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 42: 32–44.
- Eichenbaum H. (2003). *Neurociencia Cognitiva de la Memoria. Una introducción*. España: Ariel.

- Flexner L. B., Flexner J. B. & Stellar E. (1963). Memory in mice as affected by intracerebral puromycin. *Science*, 141: 57-59.
- Flexner L. B., Flexner J. B. & Roberts, R. B. (1967). Stages of memory in mice treated with acetoxycycloheximide before or immediately after learning. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 56: 730-735.
- Flood J. F., Bennett E. L., Rosenzweig M. R. & Orme A. E. (1972a). The influence of duration of protein synthesis inhibition on memory. *Psychology and Behavior*, 10: 555-562.
- Flood, J F, Bennett, E L, Rosenzweig, M R, Orme, A E. (1972b). Influence of training strength on amnesia induced by pretraining injections of cycloheximide. *Psychology and Behavior*, 9 (4): 589-600.
- Flood J. F., Bennett E. L., Orme A. E. & Rosenzweig M. R. (1975). Effects of protein synthesis inhibition on memory for active avoidance training. *Psychology and Behavior*, 14: 177-184.
- Flood, J F, Bennett, E L, Orme, A E, Rosenzweig, M R, Jarvik, M E. (1978). Memory: modification of anisomycin-induced amnesia by stimulants and depressants. *Science*, 199: 324-326.
- Flood, J. F., Smith, G. E. & Jarvik, M. E. (1980). A comparison of the effects of localized brain administration of catecholamine and protein synthesis inhibitors on memory processing. *Brain Research*, 197: 153-165.
- Garrett, H. (1975). *Las grandes realizaciones en la psicología experimental*. México: Fondo de Cultura Económica.
- Giordano, M., & Prado-Alcalá, R. A. (1986). Retrograde amnesia induced by post-trial injection of atropine into the caudate-putamen. Protective effect of the negative reinforcer. *Pharmacology Biochemistry & Behavioral* 24: 905-9.
- Gold, P. E. (1986). The use of avoidance training in studies of modulation of memory storage. *Behavioral and Neural Biology*, 46: 87-98.
- Gold, P. E. (2008). Protein synthesis inhibition and memory: formation vs amnesia. *Neurobiology of Learning and Memory* 89: 201–211.

- Grecksch, G & Matthies, H. (1980). Two sensitive periods for the amnesic effect of anisomycin. *Pharmacology Biochemistry & Behavioral*, 12: 663-665.
- Gutiérrez Guzmán, B. E., González Burgos, I., Guevara Pérez, M. A. & Olvera Cortés, M. E. (2007). Modulación serotoninérgica de la actividad theta hipocámpal. En Guevara Pérez, M. A., Hernández-González, M., Arteaga Silva, M. & Olvera Cortés, M. E. (Eds). *Aproximaciones al estudio de la funcionalidad cerebral y el comportamiento*. México: Universidad de Guadalajara.
- Hannesson, D. K., Mohapel, P. & Corcoran, M. E. (2001). Dorsal Hippocampal Kindling Selectively Impairs Spatial Learning/Short-Term Memory. *Hippocampus*, 11: 275-286.
- Hebb, D. (1949). The organization of behavior. *New York: Wiley*
- Hernandez, P. & Abel, T. (2008). The role of protein synthesis in memory consolidation: Progress amid decades of debate. *Neurobiology of Learning and Memory* 89: 293–311.
- Hilgard E. R. & Bower G.H. (1975). *Teorías del aprendizaje*. México: Trillas.
- Huchin, T. C. (2007). Efectos sobre la consolidación de la memoria producidos por el bloqueo de la síntesis de proteínas en la corteza insular. Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias (Neurobiología). Instituto de Neurobiología, UNAM.
- James, W. Principles of psychology. New York: Holt, 1890.
- Judge, M. E. & Quartermain, D. (1982). Allevation of anisomycin-induced amnesia by pre-test treatment with lysine-vasopressin. *Pharmacology Biochemistry & Behavioral*, 16: 463-466.
- Kameyama, T., Nabeshima, T & Kozama, T. (1986). The antagonistic effects of naloxone on cycloheximide and anisomycin-induced amnesia. *Pharmacology Biochemistry & Behavioral*, 25: 567-572.
- Kandel E. (2002). *Neurociencia y conducta*. España: Prentice Hall.
- Kandel ER. (2001). The molecular biology of memory storage: a dialog between genes and synapses. *Science*, 294: 1030-1038.
- Lechner, H. A., Squire, L. R. & Byrne, J. H. (1999). 100 Years of Consolidation-Remembering Müller and Pilzecker. *Learning & Memory*, 6:77-87.

- Lorente de Nó, R. (1938). Analysis of the activity of the chains of internuncial neurons. *Journal of Neurophysiology* 1:207-244.
- Malin, E. L. & McGaugh J. L. (2006). Differential involvement of the hippocampus, anterior cingulate cortex, and basolateral amygdala in memory for context and footshock. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103:1959–1963
- Marin, V.; Medina, A.C.; Quirarte G.L. y Prado-Alcalá, R.A. (2008). ¿Produce efectos amnésicos la inhibición de la síntesis de proteínas en ratas entrenadas en la tarea de evitación activa sobrerreforzada? Jornadas del Instituto de Neurobiología, UNAM.
- Martínez, I., Quitarte, G., Díaz-Cintra, S., Quiroz, C. & Prado-Alcalá, R. A. (2002). Effects of lesions of hippocampal fields CA1 and CA3 on acquisition of inhibitory avoidance. *Neuropsychobiology*, 46:97-103.
- McGaugh J. L. (1966). Time-dependent processes in memory storage. *Science*, 153: 1351-1358.
- McGaugh J. L. (2000). The perseration-consolidation hypothesis: Mueller and Pilzecker, 1900. *Science*, 287: 248-251.
- Medina, J., Bekinschtein, P., Cammarota, M., Izquierdo, I. (2008). Do memories consolidate to persist or do they persist to consolidate. *Behavioural Brain Research*, 192 (1): 61-69
- Meiri N. & Rosenblum K. (1997). Lateral ventricle injection of the protein synthesis inhibitor anisomycin impairs long-term memory in a spatial memory task. *Brain Research*, 789: 48-55.
- Mendoza, G. M. (2002). Aprendizaje. En Téllez, L. A. (Ed.). *Atención, Aprendizaje y Memoria. Aspectos Psicobiológicos*. México: Trillas.
- Moser, M. & Moser, E. I. (1998). Functional Differentiation in the Hippocampus. *Hippocampus*, 8: 608-619.
- Morgado, I. (2005). Psicobiología del aprendizaje y la memoria: fundamentos y avances recientes. *Revista de Neurología*, 40: 289-297.
- Naghdi, N., Majlessi, N. & Bozorgmehr, T. (2003). The effects of the anisomycin (a protein síntesis inhibitor) on spatial learning and memory in CA1 region of rats hippocampus. *Behavioural Brain Research*. 139: 69-73.

- Pérez-Ruíz, C., & Prado-Alcalá, R. A. (1989). Retrograde amnesia induced by lidocaine injection into the striatum: Protective effect of the negative reinforcer. *Brain Research Bulletin*, 22: 599-603.
- Pérez-Vega, M.I., Morales-Villagran, A., Feria-Velasco, A. & González-Burgos, I. (2004). Participación de la transmisión serotoninérgica prefrontocortical en la regulación de la memoria a corto plazo en la rata. En Guevara-Pérez, M., Hernández-González, M. & Durán, H. P. (Eds.) *Aproximaciones al estudio de la corteza prefrontal*. México: Universidad de Guadalajara.
- Prado-Alcalá, R. A., Kaufmann, P., & Moscona, R. (1980). Scopolamine and KCl injections into the caudate nucleus. Overtraining-induced protection against deficits of learning. *Pharmacology Biochemistry & Behavioral* 12: 249-53.
- Prado-Alcalá, R.A. (1995). *Serial and parallel processing during memory consolidation*. En: Plasticity in the Central Nervous System. Learning and Memory. Editado por J. L. McGaugh, F. Bermúdez-Rattoni, y R. A. Prado-Alcalá, Lawrence Erlbaum Publishers, Mahawah: New Jersey.
- Prado-Alcalá R. A., Cruz-Morales S. E., García M., Quirarte G., Roldan-Roldan G., & Solana-Figueroa R. (1998). Aportaciones al estudio de la localización del engrama de la memoria. En Alcaraz R. V. & Bouzas R. A. (Eds.). *Las aportaciones mexicanas a la Psicología*. México: Facultad de Psicología, Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Neurociencia Universidad de Guadalajara.
- Prado-Alcalá R. A. (1999). De la memoria y el cerebro. En De la Fuente R. & Álvarez Leefmas J. (Eds.). *Biología de la mente*. México: Fondo de Cultura Económica.
- Prado-Alcalá R. A., Quiroz C. R., Garín M. E., Díaz-Trujillo A., Díaz del Guante M. A., Galindo L. E., Martínez I. & Quirarte G. L. (2004). Memoria: consolidación y experiencia. En Velázquez-Moctezuma, J. (Ed). *Temas selectos de neurociencias III*. UAM: México.
- Prado-Alcalá, R.A., Salado-Castillo, R., Quiroz, C., Garín-Aguilar, M.E., Díaz, A., Rivas-Arancibia, S. and Quirarte, G.L. (2007). *Enhanced learning*

- protects the brain against the effects of amnesic treatments.* En *Neural Plasticity and Memory: From genes to brain imaging.* Edited by F. Bermudez-Rattoni, Taylor and Francis Ltd: London. 175-191.
- Paxinos G & Watson, C. (1998). *The rat brain in stereotaxic coordinates.* San Diego California: Academia.
- Quevedo, J., Vianna, M., Fernanda de-Paris, R. R., Izquierdo, I. & Rose, S. R. (2007). Two time windows of anisomycin-induced amnesia for inhibitory avoidance training in rats: protection from amnesia by pretraining but not pre-exposure to the task apparatus. *Learning & Memory*, 6: 600–607.
- Quirarte, G., Cruz-Morales, S. E., Díaz del Guante, M. A. Prado-Alcalá, R. A. (1993). "Protective effect of under-reinforcement of passive avoidance against scopolamine induced amnesia. *Brain Research Bulletin*, 32: 521-524.
- Quiroz, C., Martinez, I., Quirarte, G. L., Morales, T., Diaz-Cintra, S., & Prado-Alcala, R. A. (2003). Enhanced inhibitory avoidance learning prevents the memory-impairing effects of post-training hippocampal inactivation. *Experimental Brain Research*, 153: 400-2.
- Rainbow, T. C., Hoffman, P. L. & Flexner, L. B. (1980). Studies of memory: a reevaluation in mice of the effects of inhibitors on the rate of synthesis of cerebral proteins as related to amnesia. *Pharmacology Biochemistry & Behavioral*, 12: 79-84.
- Ramón y Cajal, S. (1899). *Textura del sistema nervioso del hombre y de los vertebrados.* Madrid: Moya
- Ramos, J. M. (2002). ¿Es necesario el hipocampo para el aprendizaje especial? *Revista de Neurología*, 34: 1142-1151.
- Rudy J. W., Biedenkapp J. C., Moineau J. & Bolding K. (2007). Anisomycin and reconsolidation hypothesis. *Learning & Memory*, 13: 1-3.
- Routtenberg, A., & Rekart, J. L. (2005). Post-translational protein modification as the substrate for long-lasting memory. *Trends In Neurosciences*, 28: 12-19.
- Sandi, C. (2001). *Estrés, memoria y trastornos asociados.* España: Ariel.

- Sandi, C. (2003). Implicación de los glucocorticoides en la consolidación de la memoria. *Revista de Neurología*, 37 (9): 843-844.
- Santín, L. J., Rubio, S., Begega, A., Miranda, R. & Arias, J. L. (2000). Aprendizaje espacial e hipocampo. *Revista de Neurología*, 31: 455-462.
- Serota, R. G. (1971). Acacetoxycycloheximide and transient amnesia in the rat. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 68: 1249-1250.
- Scoville, W. B. & Milner B. (1957). Loss of recent memory alter bilateral hippocampal lesions. *The Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry* 20:11-21.
- Sidman, (1980). *Conducta de evitación*. En Honig, W. K. (Ed.). *Conducta Operante*. México: Trillas.
- Solana-Figueroa, R., Salado-Castillo, R., Quirarte, G. L., Galindo, L. E., & Prado-Alcalá, R. A. (2002). Enhanced inhibitory avoidance training protects against the amnesic effect of p-chloroamphetamine. *Life sciences*, 71: 391-9.
- Sutton M. A. & Schuman E. M. (2006). Dendritic protein synthesis, synaptic plasticity, and memory. *Cell*, 127:49-58.
- Sweatt, D. (2005). *Mechanisms of Memory*. USA: El Sevier Academic Press.
- Vianna R. M., Szapiro G., McGaugh J. L., Medina J. H. & Izquierdo I. (2001). Retrieval of memory for fear-motivated training initiates extinction requiring protein synthesis in the rat hippocampus. *Neurobiology*, 98: 12251-12254.
- Tarpy, (2000). *Aprendizaje. Teorías e investigación contemporánea*. México: Harla.
- Thompson, R. (1977). *Introducción a la Psicología Fisiológica*. México: Harla.
- Wanisch, K. & Wotjak, C. T. (2008). Time course and efficiency of protein synthesis inhibition following intracerebral and systemic treatment. *Neurobiology of Learning and Memory*, 90: 485-494.

10. TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1.	22 pp.
Tabla 2.	41 pp.
Tabla 3.	42 pp.
Tabla 4.	47 pp.
Tabla 5.	52 pp.
Tabla 6.	56 pp.

Figura 1.	15 pp.
Figura 2.	17 pp.
Figura 3.	24 pp.
Figura 4.	26 pp.
Figura 5.	29 pp.
Figura 6.	30 pp.
Figura 7.	30 pp.
Figura 8.	31 pp.
Figura 9.	37 pp.
Figura 10.	38 pp.
Figura 11.	39 pp.
Figura 12.	41 pp.
Figura 13.	43 pp.
Figura 14.	44 pp.
Figura 15.	44 pp.
Figura 16.	45 pp.
Figura 17.	48 pp.
Figura 18.	49 pp.
Figura 19.	49 pp.
Figura 20.	50 pp.
Figura 21.	52 pp.
Figura 22.	53 pp.
Figura 23.	54 pp.

Figura 24.	_____	54 pp.
Figura 25.	_____	56 pp.
Figura 26.	_____	57 pp.
Figura 27.	_____	58 pp.
Figura 28.	_____	58 pp.