

Universidad Nacional Autónoma de México
Instituto de Neurobiología

**PARTICIPACIÓN DEL ESTRIADO DORSOMEDIAL EN LA CONSOLIDACIÓN DE
LA MEMORIA Y LA SELECCIÓN DE ESTRATEGIAS DE NAVEGACIÓN**

Tesis que para obtener el grado de:
Maestro en Ciencias (Neurobiología)

Presenta:
Yavé Roberto Lozano Navarro

Directora de tesis:
Dra. Gina Lorena Quirarte

UNAM Campus Juriquilla, Querétaro, QRO
Noviembre, 2010



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

Los miembros del Comité Tutor certificamos que la tesis elaborada por Yavé Roberto Lozano Navarro, cuyo título es: “Participación del estriado dorsomedial en la consolidación de la memoria y la selección de estrategias de navegación” 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

Dra. Magda Giordano Noyola

Secretario (Tutor)

Dra. Gina Lorena Quirarte

Vocal

Dra. María Isabel Miranda

Suplente

Dra. Sara Cruz Morales

Suplente

Dr. Víctor Ramírez-Amaya

Aprobado por el comité académico

Dra. María Teresa Morales Guzmán

Resumen

Se sabe que múltiples sistemas de memoria en paralelo están involucrados en la adquisición y retención de varios tipos de aprendizaje, los cuales son utilizados por los sujetos para navegar eficientemente en un entorno. Diversos reportes han demostrado que el hipocampo participa en la consolidación de tareas de aprendizaje espacial y el estriado dorsal en la consolidación de tareas de aprendizaje de procedimiento. Las investigaciones previas se han enfocado principalmente en las deficiencias conductuales producidas al lesionar el estriado dorsolateral (DLSt) o dorsomedial (DMSt), pero pocos estudios han investigado la posible facilitación de la memoria a través de la administración de glucocorticoides (GCC) en el estriado. Estudios recientes han propuesto que debido a su conectividad con regiones hipocámpicas, el DMSt participa en procesos de navegación espacial por lo cual el presente estudio examina los efectos de la administración de corticosterona (CORT) en el DMSt sobre la consolidación y la selección de estrategias de navegación espacial y de procedimiento en el laberinto acuático de Morris (LAM). Se encontró que la administración de 5, 10 y 20 ng de CORT después del entrenamiento facilitó la consolidación de la memoria espacial y que la administración de 5 ng de CORT incrementó la selección de estrategias de navegación espacial en la prueba de competencia.

Summary

It is known that multiple parallel memory systems are involved in the acquisition and retention of various types of learning which are used by the subjects to navigate efficiently in their surroundings. Several reports have shown that the hippocampus participates in the consolidation of spatial learning tasks and the dorsal striatum in the consolidation of procedural learning tasks. Previous studies have focused primarily on the behavioral deficits produced after lesioning the dorsolateral or dorsomedial striatum but few studies have investigated the possible memory facilitation through the administration of glucocorticoids in the striatum. Recent studies have proposed that due to its connectivity with hippocampal regions, the dorsomedial striatum participates in spatial navigation processes and therefore the present study examines the effects of the administration of corticosterone in the dorsomedial striatum on the consolidation and the selection of spatial and procedural navigation strategies in the Morris water maze. It was found that the administration of 5, 10 and 20 ng of corticosterone after training facilitated the consolidation of spatial memory and the administration of 5 ng of corticosterone increased the selection of spatial navigation strategies in the competition test.

Agradecimientos

El continuar con mi educación superior ha sido un gran reto en mi vida el cual no habría logrado sin el apoyo de mis padres Roberto y Araceli y mi hermana Heidi quienes nunca han dejado de creer en mí y en mis ideales. De igual manera, muchos maestros a lo largo de mi educación han sido fuente de inspiración y ayuda a través de sus consejos y amistad. En especial al maestro Enrique Flores, la maestra Olivia Olivares, el maestro Fritz Newmann, el Dr. Ramón Díaz y la Dra. Kimberly Duff.

A mi comité tutorial, quienes tuvieron la paciencia de escucharme con atención y de brindarme consejos para mejorar mi proyecto de tesis. Les agradezco inmensamente por sus comentarios y discusiones en las cuales aprendí los valores que todo investigador debe de poseer: el ser autocrítico, y saber cómo analizar e interpretar los datos obtenidos, ya sean preliminares o finales. Gracias Dra. Sara Cruz, Dra. Thalía Fernández, Dr. Michael Jeziorski y Dra. Gina Quirarte por su gran apoyo.

A mis compañeros de laboratorio Miguel, Sinuhé y Sofía por estar presentes en los ensayos para los tutorales, congresos y por ayudarme a mejorar en muchos aspectos. Agradezco en especial a Jorge, un gran amigo con quien aprendí tanto en los aspectos académicos como en mi vida personal. También agradezco a mis compañeras de maestría, Mariana, Milene y Minerva por su amistad y perpetua sonrisa que brindan alegría aun en los momentos más sombríos.

Con un gran afecto a Norma, quien tuvo la enorme paciencia de trabajar con alguien tan impaciente. Su gran ayuda tanto en la parte experimental como en la edición del escrito ha hecho posible que se realizara este proyecto. De igual manera agradezco a Don Ángel por toda la ayuda que me brindó y quien ha sido como un padre durante el curso de la maestría. A mi primo Jorge Humberto Navarro Murataya quien me ayudó con el diseño de la portada y la edición de las figuras. Su perspectiva artística es algo que siempre valoraré.

Por sus revisiones y decisión de ser parte en la evaluación de este proyecto de investigación, les agradezco inmensamente a mis sinodales; a la Dra. Sara Cruz Morales, la Dra. Magda Giordano Noyola, la Dra. María Isabel Miranda, y al Dr. Víctor Ramírez-Amaya. Su

conocimiento en diversas ramas de neurobiología conductual aportaron una amplia perspectiva para la corrección y evaluación de este proyecto de investigación de maestría.

Agradezco a Gina y a Roberto por sus revisiones del escrito, recomendaciones, gran apoyo a través del curso de la maestría y sobre todo por su amistad. Gracias Gina y Roberto por ayudarme a salir adelante y poner calma en los momentos más difíciles para un estudiante que por primera vez en su vida trabajó en un laboratorio de investigación. Siempre apreciaré el valor de la perseverancia y la importancia de estar enfocado en una meta a la vez.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y al Instituto de Neurobiología, así como a todo el cuerpo académico a quienes admiro por su labor que realizan como investigadores y docentes.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo financiero con la beca 220972 y el apoyo de investigación (89807). Al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (Proyecto IN216708), UNAM.

A la Dirección General de Estudios de Posgrado de la UNAM, número de cuenta 509003319.

Al Dr. Rogelio Arellano por su revisión detallada del formato y redacción de la tesis, así como sus sugerencias para hacer más didáctico este escrito para el lector.

A la invaluable ayuda técnica y académica de la M.V.Z. Norma Serafín, el Sr. Ángel Méndez y la Dra. Andrea C. Medina.

A las unidades de apoyo:

-Biblioteca: Bib. Rafael Silva Cruz y Soledad Medina Malagón.

-Cómputo: Ing. Ramón Martínez Olvera.

-Bioterio: M.V.Z. Martín García Servín.

-Enseñanza: M. en C. Leonor Casanova Rico.

Dedicatorias

En memoria de Carl Sagan,
quien me inspiró a seguir el camino de la ciencia,
y a descubrir un mundo en un grano de arena.

Al gran amor de mi vida, Marisol, con quien he aprendido que la felicidad no es algo que se busca sino que se encuentra y solo luchando continuamente se puede conservar. Siempre recordaré que lo importante no es el tiempo, sino lo que pase en ese tiempo.

El anciano recordaba muchas cosas, alegres y tristes, de muchos años, desde que de niño había visto el cometa que ahora estaba allí otra vez. Recordó lo que había dicho su madre al ver la astillita de la vela, recordó las preciosas pompas de jabón; cada una era un año de vida, Y dijo entonces:

-¡Qué brillantes, qué llenas de color!

En ellas vio todo lo hermoso y alegre: los juegos de infancia, el placer de la juventud, todo el ancho mundo abierto a la luz del sol, ¡tenía que viajar! Eran pompas del futuro. Ya de anciano oía en las cuerdas del piano melodías de aquellos tiempos desaparecidos: pompas del recuerdo con los colores de la memoria. Sonaron las melodías del primer baile al que concurrió: un minué y una mazurca. Sonaron dulces notas melancólicas. Los ojos del anciano se llenaron de lágrimas. Tronó una marcha militar, un salmo, unas notas alegres, contenidas todas en una pompa tras otra como las que soplaba en el agua jabonosa cuando era niño.

Sus ojos estaban vueltos hacia la ventana. Una nube que había en el cielo desapareció, vio en el cielo claro el cometa con su deslumbrante núcleo y su brillante velo de niebla.

Era como si lo hubiera visto la noche anterior y, sin embargo, desde entonces hasta ahora había pasado una vida entera.

El cometa. Hans Christian Andersen, 1843.

ÍNDICE

Comité tutorial	II
Resumen en español	III
Resumen en inglés	IV
Agradecimientos	V
Dedicatorias	VII
1. La navegación	1
1.1 Mapas espaciales y estrategias de navegación en roedores.....	12
1.2 Método para estudiar las estrategias de navegación en roedores.....	15
2. El aprendizaje y la memoria	28
2.1 Múltiples sistemas de memoria.....	8
2.2 Neuroanatomía del estriado.....	38
2.2.1 Conectividad.....	38
2.2.2 Citoarquitectura y quimioarquitectura.....	41
2.3 Participación del hipocampo y el estriado dorsal en el aprendizaje y memoria.....	18
2.3.1 Participación del estriado dorsal en la memoria de procedimiento.....	20
2.3.2 Participación del estriado dorsomedial en la memoria espacial.....	23
2.4 Neuroquímica del aprendizaje y la memoria.....	25
2.4.1 Aprendizaje y memoria de procedimiento.....	26
2.4.2 Aprendizaje y memoria espacial.....	28
2.4.3 Papel de los glucocorticoides en la consolidación de la memoria.....	31
2.4.4 Regulación y mecanismos de acción de los glucocorticoides.....	33
3. Planteamiento del problema	
4. Hipótesis	44
5. Objetivo	44
5.1 Objetivos particulares.....	
6. Materiales y métodos	44
6.1 Sujetos.....	44
6.2 Cirugía.....	44
6.3 Adaptación de los sujetos a las condiciones experimentales.....	45

6.4 Grupos y tratamientos.....	47
6.4.1 Fármacos y preparación de soluciones.....	47
6.4.2. Administración de fármacos	48
6.5 Aparatos.....	48
6.6 Pruebas conductuales.....	49
6.6.1 Tarea de clave: Aprendizaje y memoria de procedimiento.....	49
6.6.2 Tarea de lugar: Aprendizaje y memoria espacial.....	50
6.6.3 Tarea de competencia: Estrategias de navegación en competencia.....	51
6.7 Histología.....	51
6.8 Análisis estadístico.....	52
7. Resultados.....	53
7.1 Verificación histológica.....	53
7.2 Efectos de CORT en la memoria de procedimiento y espacial.....	56
7.2.1 Entrenamiento tarea de clave y de lugar.....	56
7.2.2 Prueba tarea de clave y de lugar.....	57
7.2.3 Segundo entrenamiento tarea de lugar y de clave.....	58
7.2.4 Segunda prueba tarea de lugar y de clave.....	59
7.2.5 Prueba de competencia.....	61
7.3 Comparaciones entre las sesiones de entrenamiento y de prueba.....	68
8. Discusión.....	71
8.1 Aprendizaje, memoria y selección de estrategias de navegación.....	71
8.2 Histología y neuroanatomía.....	75
8.3 Metodología.....	76
9. Conclusiones.....	79
10. Referencias.....	82
11. Lista de abreviaturas.....	87

1. La navegación

Para sobrevivir y reproducirse, muchas especies de animales enfrentan la presión selectiva de viajar de una región a otra. Al trasladarse de una región a otra, tanto los vertebrados como los invertebrados viajan a través de un entorno, en el cual es fundamental resolver ciertos problemas que faciliten la navegación y optimicen la probabilidad de supervivencia. Estos problemas incluyen el determinar dónde se localiza el sitio de partida, establecer la relación entre el sitio de partida y el lugar a donde se viajará, determinar posibles rutas que se requieran para navegar eficientemente en un entorno, y además producir una ejecución motora que sea eficiente para trasladarse de un sitio a otro durante la búsqueda de alimento, de pareja y para evitar depredadores.

Existen varios mecanismos y adaptaciones que se han desarrollado a través del curso de la evolución que permiten a los animales navegar eficientemente en un entorno. Una de estas adaptaciones involucra circuitos neuronales que crean una representación interna que depende del conocimiento del entorno y que regulan la ejecución de conductas motoras durante la navegación. Esta habilidad para navegar a regiones próximas y distantes es común en muchas especies, algunas de las cuales realizan migraciones o desplazamientos periódicos a través de largas distancias de un hábitat a otro. Tanto la migración, como la navegación a zonas próximas, tienen como finalidad la supervivencia y reproducción del organismo la cual consiste en la búsqueda de alimento y de lugares adecuados para la reproducción, evitar sitios de depredadores, escapar periódicamente de episodios de climas desfavorables, y regresar a sitios de descanso nocturno o diurno (Papi, 2002).

La navegación animal plantea varias interrogantes cuyos sustratos neurobiológicos se han comenzado a estudiar recientemente por medio de la neurofisiología y la neuroetología. Algunas de las interrogantes que se han planteado los etólogos por mucho tiempo se relacionan con la manera mediante la cual los animales migratorios y no migratorios establecen el destino (una meta definida), la dirección de trayecto de un viaje, o cómo establecen, ajustan y mantienen esta dirección, y el mecanismo mediante el cual reconocen el momento en el que deben migrar (Fanjul de Moles y Oyarzabal, 2007). Existen muchos ejemplos de animales que migran de una región a otra durante ciertos periodos estacionales y de otros que navegan a regiones relativamente próximas en busca de alimento. Diversas especies como las ballenas (*Megaptera*

novaeangliae) y la mariposa monarca (*Danaeus plexippus*), migran hacia hábitats remotos durante los meses fríos del otoño y el invierno en busca de climas favorables para la alimentación y la reproducción. Las ballenas se desplazan de regiones árticas a regiones tropicales utilizando el campo magnético terrestre como brújula y su aparato vestibular para detectar los cambios de posición a partir de cambios de aceleración lineal y angular, mientras que las mariposas monarcas utilizan una brújula solar, orientándose a partir de la posición del sol y en días nublados infiriendo su posición mediante el uso de la luz ultravioleta y el ángulo de polarización de la luz emitida por el sol (Fanjul de Moles y Oyarzabal, 2007).

La navegación espacial se considera una conducta compleja que se caracteriza por el desarrollo de movimientos autocontrolados en el espacio dirigidos a la búsqueda de un lugar específico, no visible a partir de representaciones espaciales derivadas del entorno (Alyan y Jander, 1994). En comparación con especies que recorren largas distancias durante la migración, muchas especies navegan distancias relativamente cortas en búsqueda de alimento y pareja. Insectos como las abejas y las hormigas del desierto emplean mecanismos de navegación que hacen uso de la posición del sol como compás solar, luz ultravioleta, luz polarizada, claves visuales en el entorno, e incluso campos magnéticos para dirigirse a un lugar de manera eficiente (Gould, 2004). Las hormigas del desierto (*Cataglyphis bicolor*) recorren largas distancias en busca de comida y emplean estrategias de navegación que les permiten acortar distancias entre el lugar de partida (el cual puede ser el nido) y el lugar en donde se localiza el alimento durante el forrajeo (Figura 1A).

La estrategia de navegación empleada por las hormigas del desierto se lleva a cabo mediante la integración de cambios de distancia y de dirección durante el recorrido para internamente calcular un vector que es usado para guiar a la hormiga al lugar de partida de tal manera que a su regreso viaja una distancia mucho más corta (aproximadamente una línea recta) que la usada durante la exploración de una nueva región (Cheng, 2002). Varios experimentos han demostrado que la estrategia de integración de rutas en la hormiga del desierto puede ser usada sin el uso de señales visuales en el entorno o señales químicas como las feromonas. Esto llevó a que Wehner (1994) realizara experimentos en los cuales colocó a una hormiga del desierto dentro de una caja en cuya apertura se ubicaban varios filtros que modificaban la dirección, la onda y el ángulo de polarización de la luz vista por la hormiga a través de la

apertura de la caja (Figura 1B). Wehner (1994) encontró que la posición del sol produce un patrón específico de polarización el cual es detectado por fotorreceptores en los omatidios del ojo compuesto de la hormiga, que son sensibles a la luz polarizada proveniente de una dirección particular. Esta distribución espacial de vectores de luz polarizada le permite a la hormiga del desierto utilizar la polarización de la luz como un compás solar. Estos estudios mostraron lo complejo que son los mecanismos de navegación en los insectos, los cuales pueden utilizar distintas estrategias (integración de rutas y patrón de luz polarizada entre otras) para resolver un problema de navegación y ejecutar una conducta adaptativa.

La estrategia de navegación por integración de rutas es particularmente útil cuando no hay puntos de referencia en el terreno o cuando se explora un territorio nuevo y se comienzan a establecer las relaciones entre puntos de referencia a partir de señales geográficas que servirán como claves visuales durante la navegación. Estas estrategias de navegación que dependen de cambios en la dirección y distancia durante el recorrido son más propensas a errores que las estrategias que dependen de las asociaciones entre las claves visuales en el entorno, pero el hecho de que un mismo animal pueda utilizar múltiples estrategias de navegación muestra que los animales no necesariamente resuelven un problema de navegación de la forma más sencilla y que están equipados con múltiples sistemas de navegación que operan en paralelo para producir una respuesta eficaz durante la navegación.

Otra estrategia de navegación consiste en crear asociaciones entre las claves visuales que se localizan en el entorno y regiones donde se ubica la meta (la cual puede ser una zona de alimento o sitio de reproducción). Estudios realizados por Tinbergen (1951) demostraron que las avispas excavadoras utilizan claves visuales en el entorno para localizar su nido de tal forma que al trasladar las claves visuales que habían asociado con el nido a una región próxima, las avispas excavadoras regresan al lugar en donde se ubican las claves visuales y no en donde se ubica el nido (Figura 2).

Se desconoce si en los insectos dichas asociaciones representan un mapa espacial que les permita tener una representación tridimensional del entorno, o simplemente las claves visuales indican que acción debe ser tomada durante la navegación. En contraste, los mamíferos poseen un sistema de navegación espacial que les permite más flexibilidad ya que no dependen únicamente del aprendizaje de rutas para localizar la meta, ya que pueden utilizar esta estrategia

en conjunción de un mapa espacial para crear una representación tridimensional basada en las relaciones espaciales de las claves visuales y las rutas recorridas a través del entorno (Bennett, 1996). Tanto la navegación espacial a través de la asociación de claves visuales como la integración de rutas a través de cambios en la distancia y dirección, requieren de procesos de aprendizaje y memoria los cuales permiten que un animal acumule información del medio ambiente la cual es integrada de tal forma que pueda ser utilizada de manera eficiente durante la ejecución motora en la navegación.

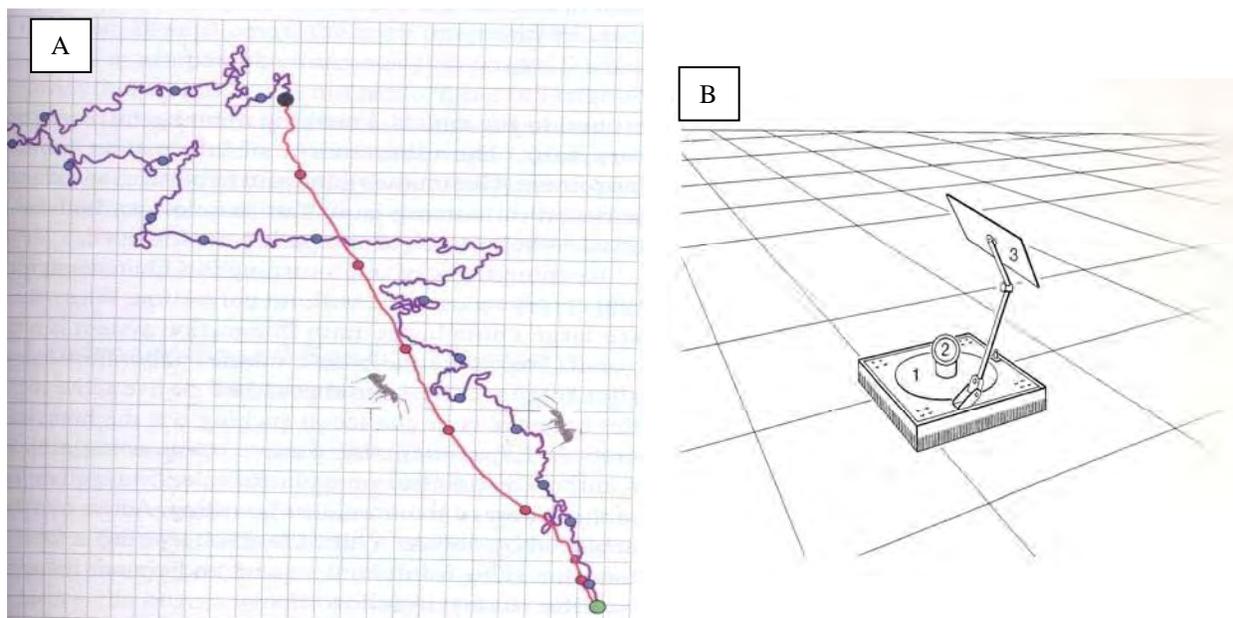


Figura 1. A. Estrategia de navegación utilizada por la hormiga del desierto en la cual realiza una integración de trayectorias recorridas y el uso de vectores de luz polarizada que le permiten navegar eficientemente desde el nido (punto verde) a un sitio de alimento (punto negro) y de regresar al nido. B. Instrumento utilizado para medir el movimiento de la hormiga el cual consiste de una caja con (1) apertura horizontal que controla la polarización en una dirección, (2) apertura pequeña para observar a la hormiga y (3) pantalla que previene que la hormiga vea la luz directa del sol. Tomado de Wehner (1994).

Algunas de las estrategias de navegación empleadas por insectos como las hormigas del desierto y las avispas excavadoras para llegar a una meta son similares a las usadas por mamíferos como las ratas, ya que ambos emplean integración de rutas y claves visuales en el entorno para explorar un terreno desconocido y regresar al nido. Estas dos estrategias no son mutuamente exclusivas ya que ambas pueden ser utilizadas dependiendo del organismo y del entorno en el que se encuentre. De esta manera, un roedor puede utilizar una estrategia de

integración de cambios de dirección y distancia para navegar durante la noche en ausencia de claves visuales y un mapa espacial dependiente de las asociaciones entre claves visuales para navegar durante el día.

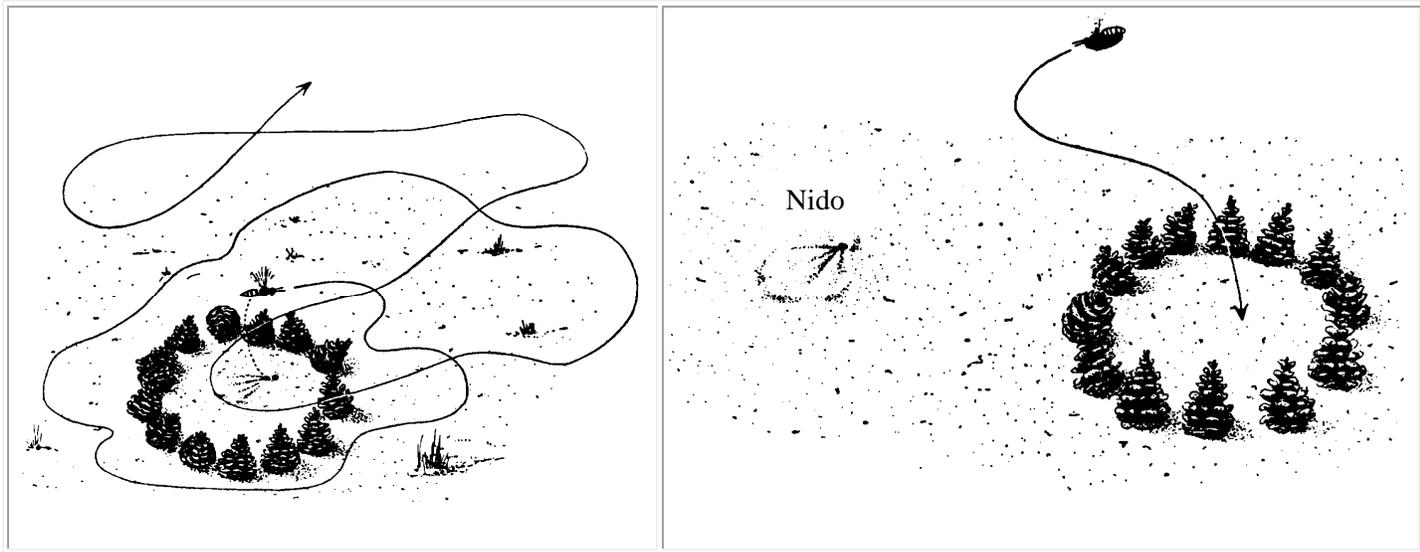


Figura 2. Los conos de pino son utilizados como claves visuales por la avispa excavadora para identificar la localización de su nido al regreso de la búsqueda de alimento. Modificado de Royal Holloway Universidad de Londres, Departamento de Psicología.

http://www.pc.rhul.ac.uk/staff/J.Zanker/old_web_stuff/teach_previous/PS3060/L2/Ps3060_2.htm

1.1 Mapas espaciales y estrategias de navegación en roedores

En mamíferos como la rata y el humano, el sentido de orientación y el desarrollo de un mapa cognitivo o espacial dependen del aprendizaje y la memoria. El término mapa cognitivo fue acuñado por el psicólogo Edward Tolman para describir la representación interna del espacio y trayectorias o rutas ligadas a él durante la navegación de un entorno que permiten la selección de respuestas óptimas al trasladarse de un lugar a otro (Tolman, 1948). En las ratas es extremadamente importante el desarrollo de un mapa cognitivo ya que deben recordar con gran precisión los lugares en donde obtuvieron agua y alimento. Además, para navegar eficientemente en un entorno, una rata debe reconocer los lugares que ha visitado, integrar las rutas viajadas a través de distintos lugares e identificar la ruta en la que se encuentra al momento de trasladarse, además debe identificar zonas de peligro, así como generar una expectativa de la posible recompensa que pueda encontrar al llegar a un sitio específico.

Al navegar en un entorno, se desarrolla un mapa cognitivo o también llamado mapa espacial el cual se adquiere a través de estrategias de navegación las cuales se integran de manera paralela. Utilizando características que consideraron importantes durante la navegación espacial en humanos y roedores, O'Keefe y Nadel (1978) clasificaron las estrategias de navegación en dos sistemas, proponiendo que de manera alterna al uso de un mapa cognitivo se puede navegar a través del uso de una ruta. En su modelo sugirieron que se puede llegar a la meta (punto al que se desea llegar) a través de una navegación de ruta mediante la cual se emplean las claves visuales localizadas a través del recorrido (trayectoria) para acortar significativamente la distancia entre el punto de partida y el de llegada. En un ambiente homogéneo o al trasladarse en la oscuridad, la navegación de ruta permite guiar al animal de tal manera que durante la navegación de una zona previamente explorada, la distancia de regreso al nido será mucho más corta que la distancia recorrida durante la exploración (Cheng, 2002). O'Keefe y Nadel (1978) argumentaron en su libro *The hippocampus as a cognitive map*, que un mapa cognitivo posee más información sobre el entorno que un mapa basado en una ruta y además que el viajar a través de una ruta es significativamente más rápido ya que el procesamiento de información es más simple que el procesamiento que ocurre durante la navegación a través de un mapa cognitivo. Además anticiparon la hipótesis de que distintas propiedades o sistemas de memoria están asociadas con la navegación por rutas o con la navegación por mapas cognitivos (O'Keefe y Nadel, 1978).

Sistema de Navegación	Tipo de Estrategia	Protocolo LAM	Tipo de Memoria
Egocéntrico	Procedimiento	Claves proximales	Procedimiento
Alocéntrico	Espacial	Claves distales	Espacial

Tabla 1. Sistema de clasificación de las estrategias de navegación y el tipo de memoria empleado por las ratas en tareas de navegación en el LAM. Modificado de O'Keefe y Nadel (1978).

En roedores, la navegación egocéntrica emplea información que se deriva a partir de los movimientos auto-dirigidos de la rata (información idiotética) creando una representación interna del espacio por medio de información adquirida a través de los movimientos de la cabeza y procesada por medio del aparato vestibular durante la ejecución del movimiento. En comparación, la navegación alocéntrica utiliza información que se deriva de diversos tipos de claves en el entorno (información alotética) y permiten que el roedor desarrolle una

representación espacial por medio de la cual determina y mantiene una trayectoria al trasladarse de un lugar a otro (Save y Poucet, 2005). La información alotética se adquiere a través de los sistemas somatosensoriales, por ejemplo el olfato es utilizado para guiarse a partir de un olor, el sonido si proviene de alguna región específica, información propioceptiva de la vibras del roedor, que son usadas para determinar la posición de objetos, detectar su distancia, tamaño e incluso textura (Save y Poucet, 2005). También se integra información del sistema visual que es utilizada para determinar las rutas que se han viajado en un entorno en base a la relación espacial de las claves visuales y la región en donde se encontró alimento o en donde se ubica el nido (Save y Poucet, 2005). Toda esta información egocéntrica y alotética es utilizada durante diversas condiciones de navegación (luz u oscuridad) y le permiten a un roedor trasladarse eficientemente y navegar rápidamente de un punto a otro durante la búsqueda de alimento, pareja o al huir de depredadores.

La navegación de ruta posee desventajas en comparación con un mapa espacial ya que genera una trayectoria poco flexible la cual requiere ser ejecutada en secuencia al no establecer rutas alternas que lleven a la meta. Además este tipo de navegación es más propicio a errores ya que si alguna clave visual cambiara o fuese eliminada en el recorrido se dificultaría significativamente el llegar a la meta. Por otra parte, el uso de un mapa espacial proporciona mucha más flexibilidad ya que le permite al sujeto el uso de múltiples orientaciones al utilizar una o la integración de varias trayectorias, aumentando la eficiencia de navegación que puede ser afectada significativamente por la topografía del lugar en el que se viaja.

1.2 Método para estudiar las estrategias de navegación en roedores

La capacidad de navegación de los roedores puede estudiarse experimentalmente mediante laberintos cuya solución requiere del uso de estrategias de navegación. Uno de los laberintos más utilizados en la actualidad para estudiar distintas estrategias de navegación y procesos de aprendizaje y memoria en roedores es el laberinto acuático de Morris (LAM). Fue diseñado por Richard Morris, quien describió en 1984 el protocolo experimental de una tarea que permite estudiar distintos aspectos de la memoria espacial. El LAM posee grandes ventajas sobre otros tipos de pruebas: no requiere de privación de alimento para motivar a los sujetos a ejecutar una conducta ya que las ratas evitan los espacios abiertos y la temperatura del agua

puede ser modificada para inducir un estado aversivo que motive a los sujetos a buscar la plataforma de escape. Además debido a la homogeneidad del tanque del LAM, los roedores solo pueden utilizar claves proximales o distales para escapar.

El LAM consiste de un tanque circular en la cual se coloca una plataforma de escape sumergida de 1 a 3 cm por debajo del nivel del agua en uno de los cuadrantes del tanque. El tanque es dividido en cuatro cuadrantes virtuales de áreas similares a partir de la intersección de los puntos cardinales localizados a 90° de arco en relación con los dos puntos cardinales adyacentes (Figura 3A). En la región central de uno de estos cuadrantes se ubica la plataforma de escape a la cual se le denomina zona blanco o zona de escape (Figura 3B).

La tarea consiste en dejar nadar a un roedor dentro del tanque desde un punto de partida definido (puntos cardinales) y medir varios parámetros que se pueden registrar a través de un programa computacional durante el tiempo que le toma al roedor en encontrar la plataforma de escape. En la tarea de lugar, el roedor se coloca en los distintos puntos cardinales del tanque, y éste utiliza la relación espacial entre las claves visibles distales localizadas en los muros del cuarto de experimentación (fotos, dibujos, lámparas, etc.) para encontrar la plataforma oculta por medio de una estrategia de navegación espacial (Figura 3B). En contraste, en la tarea de clave el cuarto de experimentación está desprovisto de claves visuales distales y se utiliza una plataforma de escape sobre la cual se ubica una clave visual proximal que es colocada en distintos cuadrantes del laberinto a través de la sesión de entrenamiento. En esta tarea la rata emplea una estrategia de navegación de procedimiento al relacionar el estímulo visual (clave proximal) con la respuesta de escape. Si se grafica la latencia de escape versus el número de ensayos realizados, se obtiene una curva de adquisición que es un índice de aprendizaje donde se observa que la latencia de escape disminuye conforme aumenta el número de ensayos hasta llegar a una asíntota (Figura 3A).

Después de cierto intervalo de tiempo (usualmente 24 o 48 hrs) posterior al entrenamiento de lugar, se realiza una prueba de retención en la cual se saca la plataforma del tanque y se le permite a la rata que nade libremente por 30-60 seg para medir la retención de la memoria espacial. Algunos parámetros que se analizan como índice de retención de la tarea son la latencia de llegada a la zona blanco, el tiempo en el que la rata pasa nadando en el cuadrante en donde estaba localizada la plataforma de escape durante el entrenamiento (cuadrante blanco)

y/o el número de veces que cruza la zona blanco (área en donde se ubicaba la plataforma) entre otros parámetros. La prueba de memoria de procedimiento se realiza al colocar la plataforma oculta con una clave visual proximal y se compara el desempeño entre la sesión de entrenamiento y la sesión de prueba.

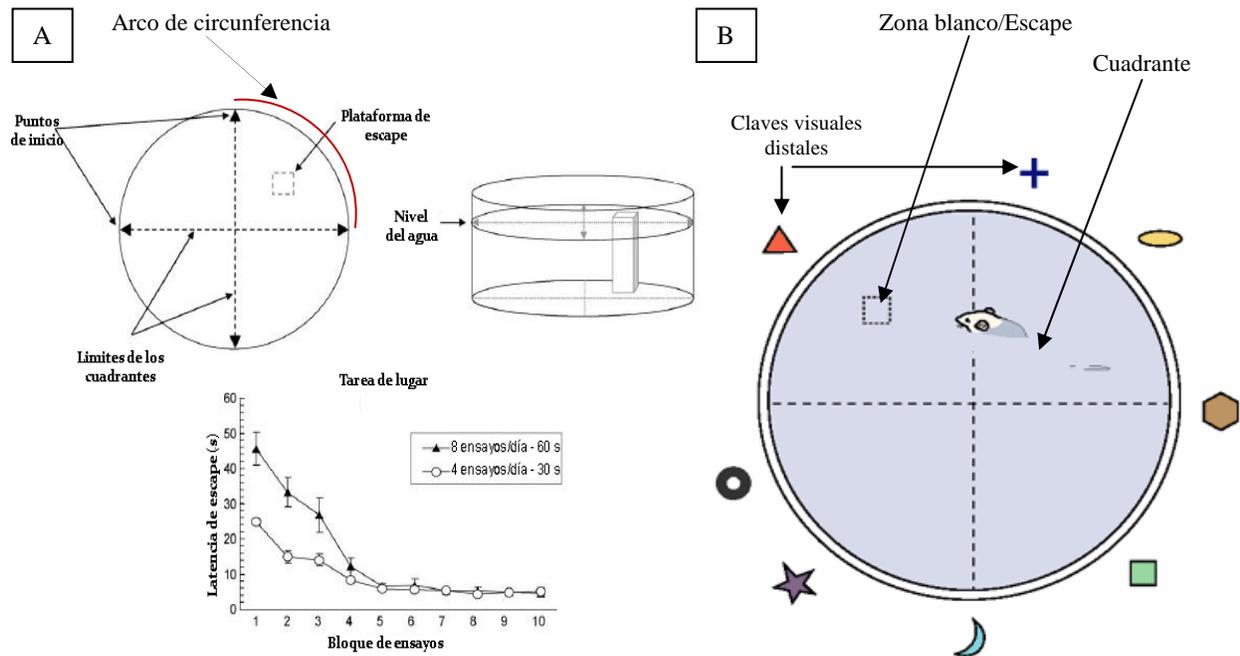


Figura 3. A. Diagrama del laberinto acuático en el que se muestran las divisiones y los puntos de inicio para el entrenamiento así como la curva de adquisición que se obtiene durante el aprendizaje de la tarea. B. Ilustración de la tarea de lugar en el LAM. Modificado de McDonald, Hong y Devan (2004).

Experimentalmente, dependiendo del protocolo del LAM que sea utilizado, ya sea con claves visuales distales o con una clave visual proximal, se le denomina tarea de lugar o tarea de clave respectivamente (Tabla 1). Conceptualmente, al aprendizaje adquirido por la rata durante la tarea de clave en el LAM se le denomina aprendizaje de procedimiento y al aprendizaje adquirido durante la tarea de lugar se le denomina aprendizaje espacial (Tabla 1). Por lo cual en el presente estudio al referirse al protocolo del LAM utilizado se le denominará tarea de clave o tarea de lugar y al describir lo que el sujeto adquiere o recuerda en el entrenamiento o prueba se le denominara aprendizaje o memoria de procedimiento o espacial respectivamente. En relación a la estrategia de navegación que utiliza el roedor durante la ejecución de la tarea de lugar se le denomina estrategia espacial ya que es dependiente de las asociaciones adquiridas durante el

aprendizaje espacial y a la estrategia de navegación que utiliza durante la ejecución de la tarea de clave se le denomina estrategia de procedimiento.

Estas estrategias de navegación se pueden estudiar de manera conjunta en lo que se le denomina prueba de competencia, en la cual ambas estrategias de navegación (procedimiento y espacial) compiten en su selección para la ejecución de una respuesta de escape. En la prueba de competencia, la rata que fue previamente entrenada en ambas tareas debe de elegir si escapa del LAM basándose en la clave visual proximal o basándose en la la relación entre las claves visuales distales ubicadas en las paredes del cuarto de experimentación y la plataforma de escape. (Figura 4).

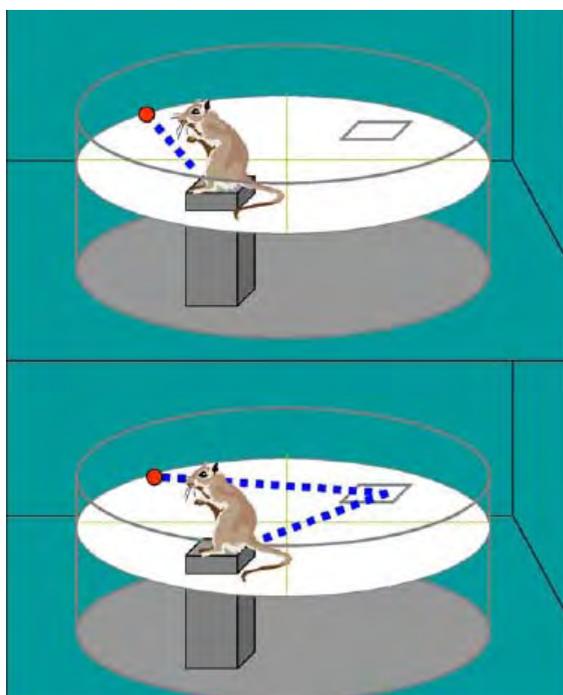


Figura 4. Protocolo para estudiar estrategias de navegación en competencia. La rata debe de elegir una estrategia de navegación (espacial o de procedimiento) para escapar del LAM basándose en la clave proximal o en claves distales. Modificado de McDonald et al. (2004).

Las variantes en el protocolo del LAM permiten disociar las estrategias de navegación y estudiar las estructuras cerebrales que participan en procesos de aprendizaje y memoria por medio de diversas técnicas experimentales. Cabe mencionar que las ratas pueden utilizar varias estrategias para resolver un problema de navegación en el LAM, por lo tanto el investigador debe de tomar en cuenta tanto el protocolo utilizado como el diseño experimental y la manipulación experimental que se realice (estudio de lesión, administración de agonistas o antagonistas o expresión de genes) para interpretar adecuadamente los datos obtenidos.

2. El aprendizaje y la memoria

Dado que el aprendizaje es fundamental para el desarrollo de cualquier conducta compleja como la navegación, un proceso de almacenamiento (memoria) es esencial para que la información adquirida en el aprendizaje pueda ser útil en el futuro y ser usada para producir una respuesta adaptativa. Entre mayor y más diversa sea la información almacenada en un organismo, más complejo será el rango de respuestas conductuales que el individuo pueda ejecutar. Tanto en vertebrados como en invertebrados, la memoria de largo plazo (MLP) de un evento puede ser mejorada o atenuada por eventos que ocurran minutos a horas después del evento inicial (Lovejoy, 2005). Esto sugiere que la formación de memorias de largo plazo requiere del paso del tiempo y es vulnerable a cambios durante un período de tiempo al cual se le denomina consolidación.

En un modelo cognitivo de aprendizaje y memoria, Atkinson y Shiffrin (1968) postularon que la formación de una memoria requiere de tres etapas: adquisición → almacenamiento → evocación. Estas tres etapas corresponden a los procesos de aprendizaje → consolidación → evocación, mediante los cuales ocurre la formación de la MLP. De esta manera, la formación de una memoria pasa a través de un proceso de adquisición o aprendizaje cuando un organismo es expuesto a una experiencia y ésta a su vez se almacena en la MLP a través de la consolidación. Una de las características de la MLP es que su almacenamiento puede durar días, semanas o la vida completa del organismo lo cual permite que el individuo tenga acceso a ésta información para ser evocada en un tiempo futuro. Si la experiencia no es almacenada en MLP, la duración o el mantenimiento de la información decae rápidamente en un proceso denominado memoria de corto plazo (MCP) y su evocación será mínima en un tiempo futuro. La MCP también puede ser evocada pero en comparación con la evocación de la MLP su duración es mucho más corta. Integrando estos procesos en forma de un diagrama de flujo lineal (MCP → Consolidación → MLP ↔ Evocación) se puede apreciar que la formación de una MLP pasa a través de un proceso que comienza con la adquisición de una experiencia la cual puede o no convertirse en MLP a través de la consolidación, y dependiendo del tiempo después de la consolidación tanto la MLP como la MCP pueden ser evocadas (Figura 5).

Recientemente se han postulado dos perspectivas sobre la consolidación, una en la que el almacenamiento de la información comienza y acaba en un ciclo, y otro modelo en el que la

consolidación ocurre en múltiples ocasiones cuando la información se activa durante la evocación y vuelve a ser lábil (Dudai, 2004). La modificación de una MLP al ser evocada puede ocurrir mediante la integración de nueva información o por medio de la reconsolidación, proceso donde la memoria que ha sido activada es modificada durante un nuevo ciclo de consolidación, de tal manera que la información almacenada previamente se vuelve indistinguible de la almacenada recientemente (Nader, Schafe, y LeDoux, 2000).

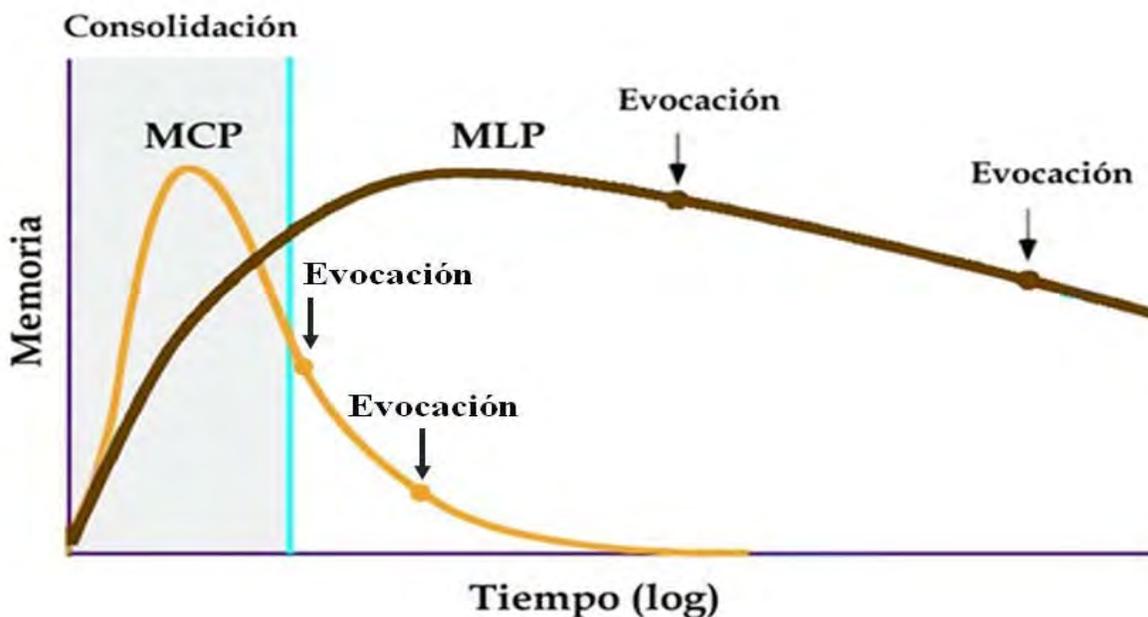


Figura 5. Curva en la que se muestran los procesos de aprendizaje y memoria (adquisición, consolidación y evocación) en relación a su temporalidad. Modificado de Dudai (2004).

Durante las últimas décadas en experimentos realizados en vertebrados e invertebrados se han establecido varios principios acerca de los mecanismos neurobiológicos que participan en el aprendizaje y la memoria. Algunos de ellos tendrán que ser modificados debido a los resultados experimentales obtenidos en los últimos años pero en general estos principios continúan siendo válidos (Byrne, 1987):

1. Existen múltiples sistemas de memoria en el cerebro.
2. El aprendizaje y la memoria involucran cambios en grupos de neuronas, modificando circuitos neuronales existentes.
3. Estos cambios pueden involucrar múltiples mecanismos celulares en neuronas individuales.

4. Los sistemas de segundos mensajeros tienen un papel fundamental en los cambios celulares.
5. Los cambios que ocurren en los receptores membranales (metabotrópicos o ionotrópicos) están correlacionados con el aprendizaje y la memoria.
6. La MLP requiere de la síntesis de proteínas mientras que la MCP no la requiere.

En las siguientes secciones se discutirán los resultados de varios estudios que apoyan estos principios sobre los mecanismos neurobiológicos del aprendizaje y la memoria.

2.1 Múltiples sistemas de memoria

En mamíferos, la representación de la información adquirida a través de los sistemas somatosensoriales se encuentra distribuida en regiones primarias, secundarias y de asociación en la corteza cerebral en forma de circuitos o ensambles neuronales cuya información es almacenada a través de mecanismos de plasticidad neuronal (Hebb, 1949). No existe un proceso único mediante el cual se adquiere, consolida y evoca la información durante el aprendizaje y la memoria. Además, las representaciones de distintos tipos de asociaciones: estímulo-estímulo (E-E), estímulo-respuesta (E-R), y estímulo-reforzador (E-R⁺) son procesadas en ensambles neuronales en los cuales participan diversas estructuras centrales (hipocampo, estriado, amígdala) que establecen una representación de la información adquirida en menor tiempo de exposición en relación con otras estructuras (White y McDonald, 2002) (Figura 6). Estos múltiples sistemas de memoria operan en paralelo y pueden colaborar o competir durante el aprendizaje y la ejecución de alguna conducta, por lo cual es fundamental el entender que estos circuitos neuronales que forman los sistemas de memoria integran información proveniente de varias regiones sub-corticales y corticales y frecuentemente operan en conjunto para producir alguna conducta que puede ser modificada por la experiencia (McDonald y White, 1993; Squire, 2004; White y McDonald, 2002). De esta manera la conducta es el producto final de varias interacciones que ocurren en el sistema nervioso central y periférico las cuales son guiadas por la información almacenada en múltiples circuitos de memoria (Figura 6).

Existe abundante evidencia experimental que ha llevado al desarrollo de varios postulados que intentan describir características generales de los múltiples sistemas de memoria. Obtenidos primordialmente de estudios realizados en ratas, muchos de estos postulados son válidos para el procesamiento de información en el cerebro humano (White y McDonald, 2002):

1. Existen al menos tres sistemas para el procesamiento y almacenamiento de información que influyen en la conducta y cada sistema puede funcionar independientemente del otro.
2. Cada sistema consiste de una estructura central y otras aferentes y eferentes a ella.
3. La información es procesada de manera paralela a través de cada sistema en donde es integrada con información almacenada en el sistema para producir respuestas específicas.
4. La estructura central de cada sistema es compatible con una forma específica de actividad neuronal producida por asociaciones entre distintos tipos de información.
5. La activación de un sistema por una situación compatible con su estilo de procesamiento produce actividad coherente en ese sistema teniendo como resultado una respuesta fuerte y coordinada.
6. Los sistemas interactúan de dos maneras: 1) Un sistema puede influir directamente al otro facilitando o retardando su procesamiento de información durante la adquisición, 2) la salida de los sistemas convergen produciendo una facilitación cooperativa o una facilitación competitiva.

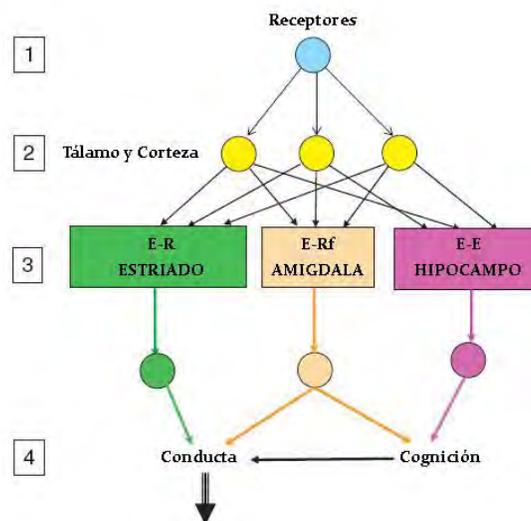


Figura 6. Múltiples sistemas de memoria y sus componentes: 1) Receptores sensoriales, 2) representación cortical y proyecciones aferentes a estructuras centrales, 3) estructuras centrales y estilo de procesamiento de cada estructura, y 4) convergencia de los sistemas múltiples de memoria para la cognición y ejecución de una respuesta motora. Modificado de White (2008).

Diversas estructuras encefálicas tienen una mayor o menor participación en diversos procesos de aprendizaje y memoria, de tal forma que una aproximación al estudio de los múltiples sistemas de memoria en roedores puede llevarse a cabo a través de experimentos de

doble o triple disociación mediante los cuales se lesiona una estructura central y se compara el desempeño con un grupo con lesión falsa y otro lesionado en otra estructura central durante el aprendizaje de tareas cuya ejecución depende de asociaciones de E-E, E-R o E-R⁺.

A través de distintas metodologías y sujetos de estudio (humanos, primates no humanos, roedores e invertebrados) se han creado diversas clasificaciones de los sistemas múltiples de memoria. Estas metodologías, principalmente estudios de lesión no pueden elucidar de manera estricta el tipo de información que se está procesando en estas estructuras y mucho menos cómo se integra dicha información ya que el nivel de análisis de los resultados obtenidos solo permite llegar a conclusiones a nivel de estructura o región de alguna estructura. Un ejemplo de una clasificación de la memoria basada en estudios en humanos, separa a la memoria en dos sistemas: uno declarativo o también denominado explícito, dependiente primordialmente del hipocampo versus uno no declarativo o implícito el cual es una colección heterogénea de estructuras entre las cuales se encuentra el estriado en el caso de ejecuciones de procedimiento como hábitos y destrezas motoras, el hipocampo, la amígdala y el cerebelo en el condicionamiento clásico e instrumental y la neocorteza en el priming (Squire, 1992) (Figura 7).



Figura 7. Sistema de clasificación de la memoria humana según Squire (1992) en la que se muestra varias estructuras que participan en la formación de circuitos neuronales para la ejecución de varias conductas.

Algunas conductas complejas como la navegación espacial o la navegación de procedimiento son difíciles de categorizar ya que involucran diversos circuitos neuronales en varias estructuras cerebrales dado que se integra información sensorial para crear una representación interna del entorno e información proveniente de los cambios de dirección, los cuales influyen en la ejecución motora y la selección de estrategias de navegación. Una estructura cerebral que tiene un papel fundamental en la integración de información sensorimotora es el estriado, por lo cual es fundamental entender su conectividad tanto aferente como eferente, así como los tipos de neuronas y los neurotransmisores que se encuentran.

2.2 Neuroanatomía del estriado

El estriado forma parte de los ganglios basales, los cuales constituyen un grupo de núcleos subcorticales interconectados que participan en el control del movimiento y en funciones cognitivas. Los núcleos que componen a los ganglios basales son: el estriado, el núcleo subtalámico, el globo pálido y la sustancia nigra (Figura 8A). Varios criterios neuroanatómicos y funcionales han sido utilizados para subdividir al estriado en una región dorsal y una región ventral. Un criterio para dividir el estriado se basa en regiones neuroanatómicas definidas, como el borde entre el núcleo accumbens y el complejo caudado-putamen y otro basado en la punta inferior del ventrículo lateral y su extensión con una línea recta a la parte medial de la cápsula externa (Figura 8B). Este criterio de división con base en puntos neuroanatómicos no está basado en diferencias histológicas o neuroquímicas por lo cual el borde entre la región dorsal y ventral del estriado no está claramente definido (Voorn et al., 2004). Otro criterio para dividir el estriado hace uso de su conectividad, definiendo al estriado dorsal como aquella región que posee conexiones con áreas sensorimotoras (zona púrpura), el estriado ventral como la región que está inervada por la corteza frontal y las regiones límbicas como el hipocampo y la amígdala (zona gris y naranja) (Figura 8B) (Voorn et al., 2004).

2.2.1 Conectividad

En relación a su conectividad, los ganglios basales forman un circuito que obtiene información de la corteza cerebral, procesa esta información y la proyecta de nuevo a la corteza a través de circuitos cortico-estriado-tálamo-corticales. Los ganglios basales no poseen eferencias

directas a la médula espinal, por lo cual su participación en la ejecución del movimiento se lleva a cabo principalmente a través del globo pálido interno (GPi) y en menor forma a través de la sustancia nigra pars reticulata (SNpr) a través del sistema motor extrapiramidal que proyecta al tallo cerebral y de ahí a la médula espinal a través de los tractos rubro-espinal, retículo-espinal y vestíbulo-espinal. El estriado también posee eferencias a través del GPi a los núcleos talámicos ventral anterior (VA), ventral lateral (VL) e intralaminares (IL) que proyectan a las áreas motoras, premotoras, motoras suplementarias y a la corteza prefrontal (Figura 9A). Además las eferencias estriatales de neuronas de proyección (neuronas medianas espinosas) viajan a través de dos vías: una vía directa del GPi y la SNpr, inhibitoria y que contiene GABA, sustancia P y dinorfina y una vía indirecta a través del globo pálido externo (GPe) que es inhibitoria y contiene GABA y encefalina y viaja a través del GPe-GPi-núcleos subtalámicos-GPi-SNpr (Figura 9A). Estas conexiones eferentes del estriado muestran que los ganglios basales no controlan directamente el movimiento sino que lo coordinan a través de inter-conexiones con áreas motoras, premotoras y prefrontales que participan en la planeación y ejecución del movimiento las cuales poseen eferencias motoras descendientes a través de la vía piramidal (cortico-espinal) y las vías extrapiramidales (rubro-espinal, retículo-espinal y vestíbulo-espinal) (Mink, 2008).

La principal aferencia a los ganglios basales se origina del estriado a través de proyecciones glutamatérgicas provenientes de áreas corticales sensoriales (visuales, auditivas, olfatorias y somatosensoriales) y de áreas corticales motoras, premotoras y prefrontales (White y McDonald, 2002). Además, el estriado recibe aferencias de los núcleos subtalámicos (STN), que poseen fibras glutamatérgicas provenientes de la corteza motora primaria, la corteza premotora y suplementaria y de los campos oculares frontales que hacen relevo en el GPe para enviar su proyección GABAérgica al estriado (Figura 9A) (Mink, 2008). Otra aferencia de gran importancia hacia el estriado es la proyección dopaminérgica proveniente de la sustancia nigra pars compacta (SNpc) que inerva al caudado-putamen y modula la actividad de los circuitos estriatales a través de receptores de la familia D1 que incrementan la respuesta glutamatérgica cortical y la familia de receptores D2 que la disminuyen (Mink, 2008). Finalmente el estriado recibe aferencias glutamatérgicas de los núcleos talámicos VA, VL e IL a través de fibras provenientes de diversas regiones de la corteza sensorial, motora, premotora, y frontal (Figura 9A).

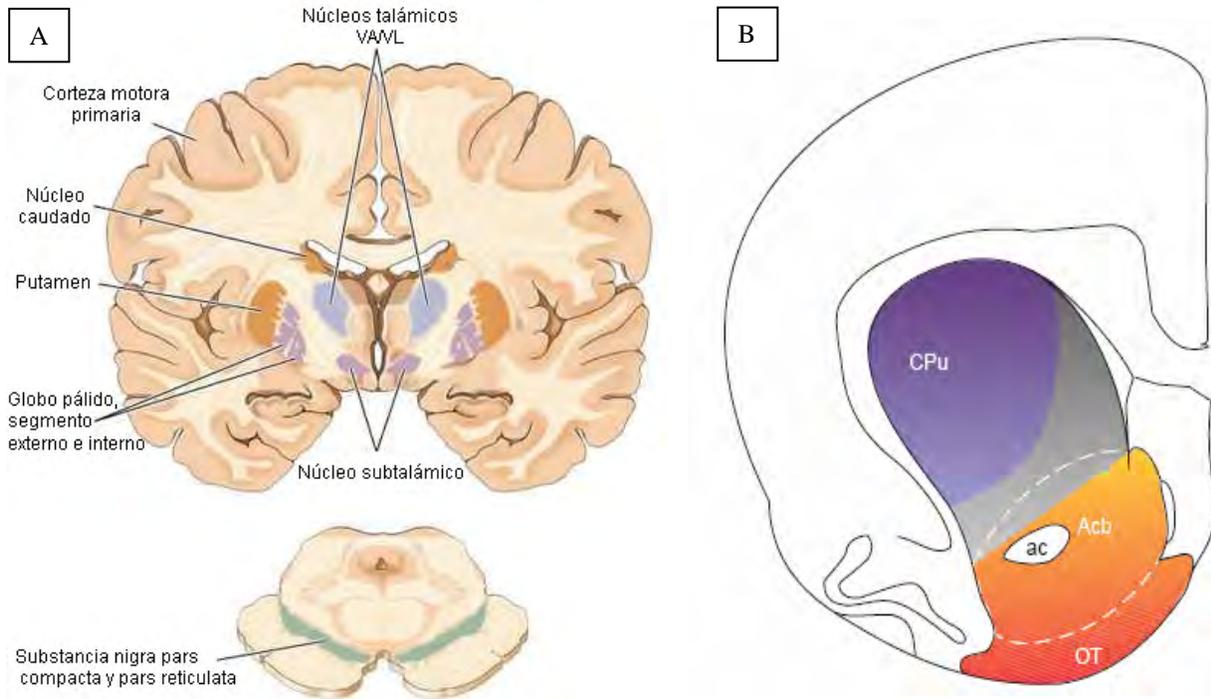


Figura 8. A. Sección coronal que muestra los núcleos que componen a los ganglios basales en el humano. Se muestra el estriado (núcleo caudado y putamen divididos por la cápsula interna), los núcleos subtalámicos, el globo pálido externo e interno y la sustancia nigra pars compacta y pars reticulata. B. Corte coronal del cerebro de la rata en el que se muestra la subdivisión del estriado basado en criterios neuroanatómicos; estriado dorsal (CPu) y estriado ventral (Acb y OT) divididos por la línea punteada o la línea entre la zona naranja y la zona gris. La subdivisión del estriado bajo un criterio de conectividad se muestra por las zonas con colores. La región dorsomedial del estriado constituye la zona gris. Nótese como no existe una separación entre el núcleo caudado y el putamen en el cerebro de la rata pero si en el cerebro del humano por la cápsula interna. Abreviaturas: ac, comisura anterior; Acb, núcleo accumbens; CPu, caudado-putamen; EC, cápsula externa; LV, ventrículo lateral; OT, tubérculo olfatorio. Modificado de Voorn et al. (2004).

Las aferencias cortico-estriatales, tálamo-estriatales y límbico-estriatales se encuentran organizadas topográficamente innervando grandes regiones del estriado. El EDL recibe información sensorimotora que está organizada somatotópicamente (verde), la región ventromedial recibe aferencias límbicas de diversos núcleos de la amígdala y aferencias de la formación hipocámpica provenientes del subículo y de la región CA1 (amarillo, rojo y rosa) y las regiones intermedias como el EDM reciben aferencias de áreas asociativas corticales a través de los núcleos intralaminares talámicos (azul y purpura) (Figura 9B). Como resultado de la conectividad del estriado con diversas regiones corticales y límbicas, se ha postulado que el estriado ejerce una función integradora por medio de la convergencia de información sensorial,

motora y límbica para la selección y ejecución de conductas motoras dependientes del aprendizaje asociativo de E-R (aprendizaje de procedimiento) mediadas por la región dorsolateral, de E-E como el aprendizaje espacial mediado por regiones dorsomediales y de E-Rf a través de conexiones dopaminérgicas provenientes del área ventral tegmental y de la SNpc con regiones ventrales del estriado (White y McDonald, 2002).

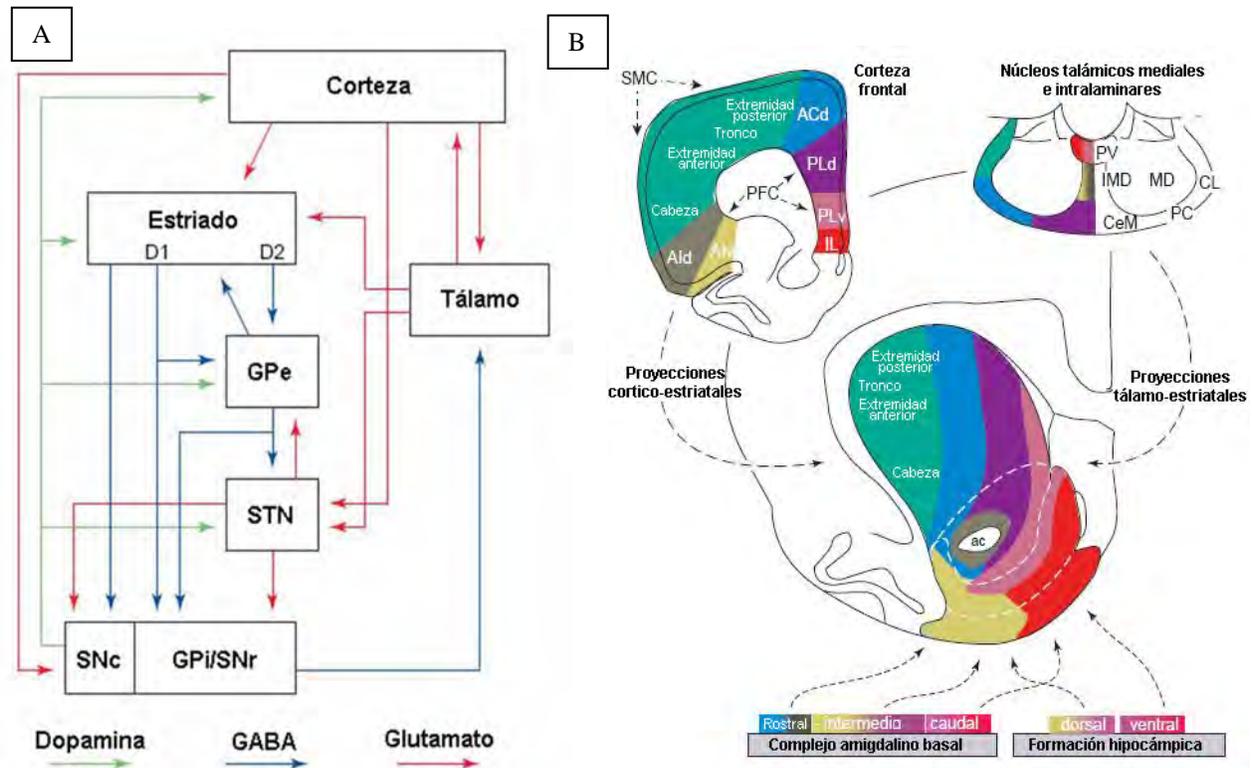


Figura 9. A. Conexiones de los núcleos que conforman a los ganglios basales. B. Corte coronal del estriado de la rata en el que se muestran las divisiones funcionales por criterios de conectividad. Abreviaturas: ac, comisura anterior; GPe, globo pálido externo; GPi, globo pálido interno; IL, núcleo intralaminar talámico; MD, núcleo mediodorsal talámico; MEA, área medial extrapiramidal (tallo cerebral); SNpc, substancia nigra pars compacta; SNpr, substancia nigra pars reticulata; STN, núcleo subtalámico; VA, núcleo ventral anterior talámico; VL, núcleo ventral lateral talámico. Modificado de: A. Gurney, Prescott, Wickens y Redgrave (2004); B. Voorn et al. (2004).

2.2.2 Citoarquitectura y quimioarquitectura

Histológicamente se han descrito cuatro tipos de neuronas en el estriado, de acuerdo al tamaño del soma y la presencia o ausencia de espinas dendríticas. Las más numerosas son las medianas espinosas o también conocidas como neuronas de proyección las cuales representan

entre el 80-95% de las neuronas estriatales. El otro 5% de las neuronas estriatales son interneuronas no espinosas grandes, medianas y pequeñas. La densidad y proporción de estos cuatro tipos de neuronas no difieren significativamente en las diversas regiones del estriado. Las neuronas medianas espinosas son morfológicamente homogéneas y químicamente heterogéneas ya que las que proyectan al GPe contienen encefalina y GABA mientras que las que proyectan al GPi y a la SNPr contienen GABA, sustancia P y dinorfina (Figura 10). Estas neuronas medianas espinosas poseen un alto grado de invasión de diversas fuentes. Reciben aferencias glutamatérgicas provenientes de varias regiones de la corteza que hacen sinapsis en las cabezas de las espinas dendríticas, entradas glutamatérgicas de los núcleos talámicos IL y VL, GABA, sustancia P y encefalina de neuronas medianas espinosas adyacentes, acetilcolina de neuronas

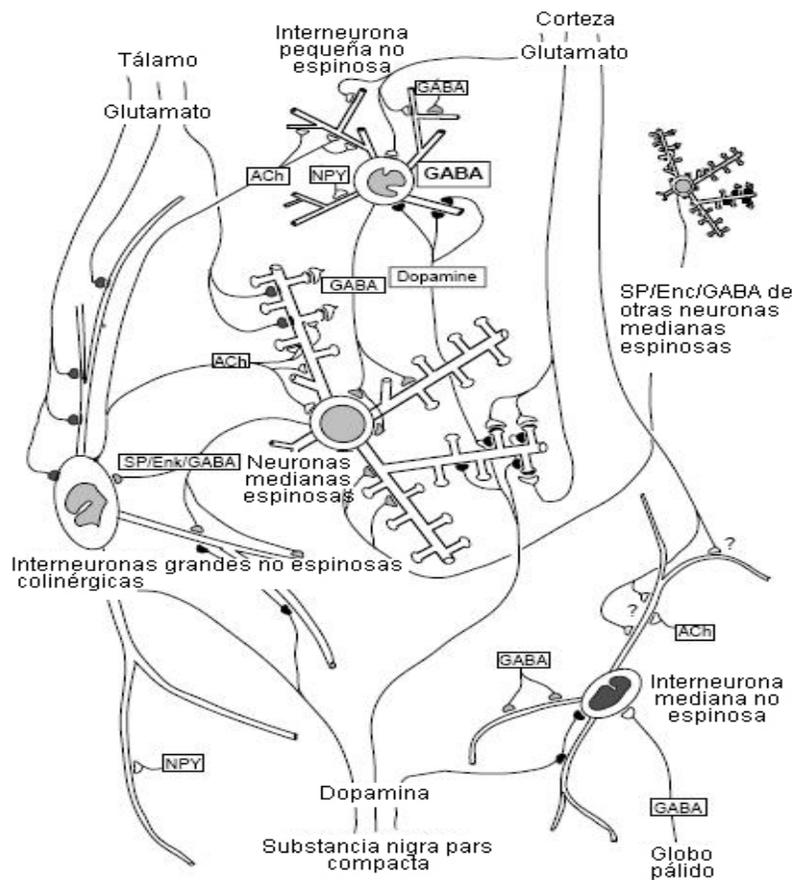


Figura 10. Conectividad y neurotransmisores/neuropéptidos de neuronas estriatales. Se observan las neuronas de proyección medianas espinosas en el centro de la figura, y las interneuronas; colinérgicas grandes, medianas y pequeñas no espinosas. Modificado de Gurney et al. (2004).

grandes no espinosas, terminaciones GABAérgicas de neuronas pequeñas no espinosas y aferencias dopaminérgicas de la SNpc en el tronco de las espinas dendríticas (Figura 10). Las interneuronas grandes no espinosas son colinérgicas y poseen colaterales axónicas largas que hacen sinapsis en neuronas medianas no espinosas y en neuronas pequeñas no espinosas. Reciben aferencias de los núcleos talámicos IL y VL, de neuronas medianas espinosas y de la SNpc. Las interneuronas medianas no espinosas contenedoras de somatostatina y neuropéptido Y reciben aferencias de la SNpc y del GPe. Finalmente las neuronas pequeñas no espinosas usan GABA como neurotransmisor y reciben aferencias de la corteza, de neuronas medianas espinosas y de la SNpc (Mink, 2008).

2.3 Participación del hipocampo y el estriado dorsal en el aprendizaje y memoria

Múltiples circuitos neuronales están involucrados en la adquisición y retención de varios tipos de aprendizaje, por lo cual a través de varias técnicas se ha investigado la participación de diversas estructuras en la navegación. Muchos estudios han encontrado que el aprendizaje y la memoria espacial y de procedimiento son mediados por varias estructuras entre las cuales el hipocampo y el estriado dorsal juegan un papel importante (Devan et al., 1996; Devan y White, 1999; McDonald y White, 1993, 1994, 1995; Packard y McGaugh, 1992, 1996). Varios estudios han demostrado que el hipocampo participa en la consolidación de tareas de aprendizaje espacial (Dillon et al., 2008; McDonald y White, 1994; Morris et al., 1982), mientras que el estriado dorsal es heterogéneo en su función ya que la región dorsolateral participa en la consolidación de asociaciones de estímulo-respuesta y la región dorsomedial modula la selección de estrategias de navegación dependientes del hipocampo (Devan et al., 1999; Featherstone y McDonald, 2004; McDonald y White, 1994, 1995; Whishaw et al., 1987).

Una primera aproximación sobre los mecanismos neurofisiológicos involucrados en la navegación espacial se llevó a cabo a través de implantes extracelulares de electrodos en el hipocampo dorsal mediante los cuales se registró la tasa de disparo de potenciales de acción cuando una rata exploraba un entorno en el cual se ubicaban claves visuales distales (O'Keefe, 1976; O'Keefe y Dostrovsky, 1971). Se encontró que las neuronas piramidales del hipocampo incrementaban la tasa de disparo cuando la rata se ubicaba en un lugar específico en relación con las claves visuales distales del entorno, por lo cual se les denominaron células de lugar,

permitiendo así que O'Keefe y Nadel propusieran en 1978 que la función del hipocampo es crear una representación neuronal que permite la navegación espacial. Actualmente a través de registros electrofisiológicos con arreglos de multielectrodos se han descrito células que codifican diversa información del espacio e información vestibular a través de la modificación en la tasa de disparo en varias áreas del hipocampo, la corteza entorrinal, y en el estriado (Mizumori et al., 2004). Estos estudios electrofisiológicos han permitido analizar de forma más precisa el tipo información que se procesa en estructuras como el hipocampo y el estriado.

Posteriormente, a través de estudios de lesión realizados por Morris et al. (1982) se encontró que lesiones en el hipocampo dorsal y ventral deterioran la adquisición y la consolidación de la memoria espacial en la tarea de lugar del LAM pero no en la tarea de clave (Figura 11). Esto indica que el hipocampo participa en la adquisición y consolidación de la memoria espacial pero no en la memoria de procedimiento. Curiosamente y no discutido por los autores, las latencias de escape en el grupo con lesión hipocámpica disminuyen conforme aumentan las sesiones de entrenamiento (Figura 11). Esto nos sugiere que en condiciones de sobre-entrenamiento, otras estructuras pueden crear asociaciones que le permiten mejorar en la ejecución de la tarea de lugar como pudiese ser por ejemplo el estriado, una estructura que puede crear una representación que permita establecer rutas de escape a partir de los puntos en los cuales la rata fue colocada al inicio de los ensayos.

En estudios recientes, Dillon et al. (2008) encontraron que la región CA1 del hipocampo tiene un papel fundamental en la adquisición y consolidación de la memoria espacial en relación con otras regiones del hipocampo como el giro dentado o el subículo. En el estudio se realizó una lesión excitotóxica en la región CA1 del hipocampo antes del entrenamiento, el cual se llevó a cabo en el laberinto radial utilizando el protocolo espacial. Durante la prueba de retención, el grupo con lesión en CA1 mostró más errores de referencia al visitar el brazo al que no se le había entrenado a visitar previamente en relación con una clave distal. Además durante la misma prueba, las ratas con lesión en CA1 exploraban el brazo del laberinto radial que se ubicaba más próximo (a 45°) al que habían visitado previamente, mostrando que no habían desarrollado un mapa espacial que les permitiera navegar eficientemente a los brazos del laberinto radial a los que previamente se les entrenó a encontrar alimento en relación con claves distales localizadas en las paredes del cuarto de experimentación.

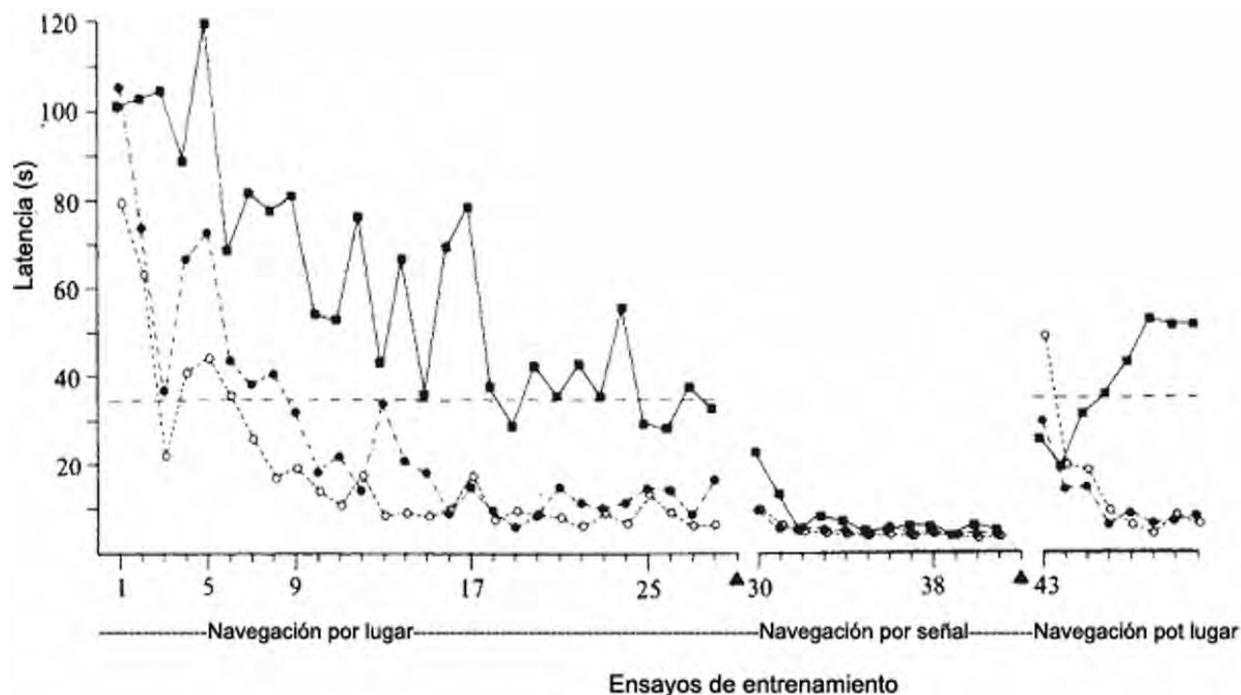


Figura 8. Deterioro en el aprendizaje de la tarea de lugar en el LAM en el grupo con lesión en el hipocampo (■) en comparación con el grupo con lesión cortical (●) y el grupo control (○). Modificado de Morris et al. (1982).

2.3.1 Participación del estriado dorsal en la memoria de procedimiento

Durante los primeros experimentos en los que se realizaron lesiones en el hipocampo afectando la memoria declarativa en monos y la memoria espacial en ratas se observó que permanecía intacta la adquisición y consolidación de tareas de procedimiento, lo cual apoyó la idea de los múltiples sistemas de memoria. En los estudios en los que se lesionaba el estriado dorsal, los hallazgos mostraban deterioro en el aprendizaje y la memoria de procedimiento por lo cual se postuló que el estriado dorsal participa en las asociaciones de E-R. Los resultados obtenidos en estos estudios fueron interpretados a partir de las conexiones neuroanatómicas del estriado, el cual como parte de los ganglios basales recibe información sensorial de varias regiones de la corteza y proyecta a la corteza motora modulando indirectamente la ejecución motora a través de vías descendentes que inervan la médula espinal (Parent y Hazrati, 1995). Por medio de estas conexiones neuroanatómicas se sugirió que el estriado puede formar asociaciones de varias modalidades sensoriales durante el aprendizaje de E-R, esenciales para la adquisición de tareas de aprendizaje de procedimiento.

Experimentos en los que se utilizaron protocolos de disociación han mostrado bastante evidencia que apoya la hipótesis de que el estriado dorsal participa en procesos de aprendizaje y memoria de procedimiento (McDonald y White, 1993; McDonald y White, 1994; Packard et al., 1989; Packard y McGaugh, 1992). La metodología de disociación permite estudiar la participación de una estructura cerebral en procesos de aprendizaje y memoria, además de discernir las asociaciones que se forman durante estas etapas. En estudios de doble disociación, dos estructuras o dos regiones de la misma estructura son lesionadas en grupos independientes y las ratas son entrenadas en tareas conductuales con características sensoriales, motoras y motivacionales similares. Las tareas conductuales solo difieren en las asociaciones requeridas para la correcta ejecución de la tarea, por lo cual las diferencias en los efectos de lesión son interpretadas como una participación de la estructura lesionada en la adquisición o consolidación de la tarea dependiendo de la temporalidad en la que se efectúa la lesión (pre o post-entrenamiento).

En un estudio de doble disociación realizado por Packard et al. (1989), se compararon grupos independientes con lesiones electrolíticas pre-entrenamiento en el estriado dorsal, la fimbria-fornix (haz de fibras que envía información del hipocampo a varias estructuras, entre ellas al estriado) y un grupo con lesión falsa como control. El entrenamiento se realizó en el laberinto radial de 8 brazos en el protocolo de procedimiento y en el protocolo espacial. La tarea de procedimiento consiste en poner a una rata privada de alimento en el centro del laberinto y dejar que entre a los brazos iluminados en cuya terminación se encuentra el alimento. En cada ensayo de la sesión de entrenamiento se seleccionan de manera aleatoria 4 brazos del laberinto para ser iluminados y la rata explora los brazos del laberinto, aprendiendo una asociación de estímulo-respuesta entre la luz y el entrar al brazo iluminado en donde se encuentra el alimento (Figura 12). Se registra el porcentaje de brazos iluminados seleccionados y se cuenta como error el número de veces que se selecciona un brazo no iluminado. Packard et al. (1989) encontraron que lesiones en el estriado dorsal deterioran el aprendizaje de la tarea de procedimiento y lesiones en la fimbria-fornix mejoran la adquisición de la tarea en comparación con el control (Figura 12). Además se encontró que lesiones en la fimbria-fornix deterioran la adquisición de la tarea espacial pero en contraste a los resultados previos, lesiones en el estriado dorsal no mejoran la adquisición de la tarea espacial.

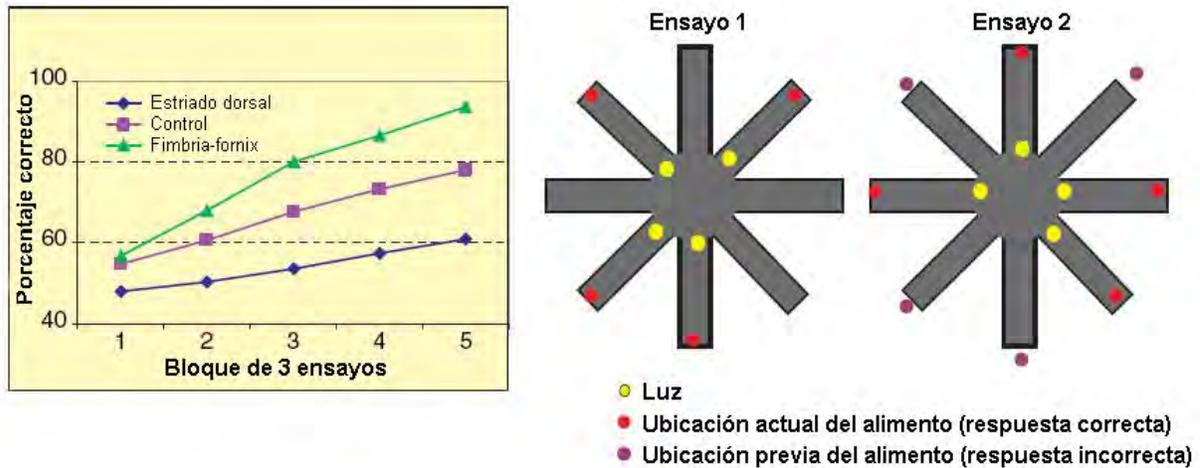


Figura 12. El estriado dorsal y la memoria de procedimiento. Lesiones en el estriado dorsal deterioran la adquisición de la tarea de procedimiento en el laberinto radial en comparación con un grupo control intacto, sustentando la hipótesis de que el estriado dorsal forma representaciones de E-R necesarias para la ejecución correcta de esta tarea. Además lesiones en la fimbria-fornix facilitan la adquisición de la tarea de procedimiento al disminuir el número de errores de referencia (visitar un brazo en el que previamente se encontraba alimento) como se observa en los puntos morados del ensayo 2. Modificado de Packard et al. (1989).

Estos resultados muestran que en algunos tipos de aprendizaje, como en la tarea de procedimiento del laberinto radial, la representación espacial de un entorno dependiente del hipocampo interfiere de manera competitiva con la representación de E-R dependiente del estriado dorsal. De esta forma estos dos sistemas de memoria generan conductas distintas en el mismo contexto. Por consecuencia durante la ejecución de una tarea cuya solución correcta requiere de una estrategia de procedimiento, la representación espacial del hipocampo genera una respuesta de navegación espacial que produce un error al visitar un brazo en el cual previamente se encontraba el alimento en relación con las claves visuales distales (Figura 12).

Otro estudio que apoyó la participación del estriado dorsal en el aprendizaje de procedimiento fue llevado a cabo por Packard y McGaugh en 1992. Los experimentos se realizaron en una versión del LAM que consiste en que las ratas deben aprender a nadar hacia una plataforma de escape sobre la cual se ubica una pelota de plástico con un patrón vertical de líneas y a discriminarla de una pelota con un patrón horizontal de líneas que no provee una plataforma de escape (Figura 13). Ambas pelotas se mueven a distintos cuadrantes del LAM a través de la sesión de entrenamiento por lo cual la rata debe de utilizar un aprendizaje asociativo

de E-R dependiente del estriado dorsal para resolver de manera correcta la tarea y llegar a la plataforma de escape.

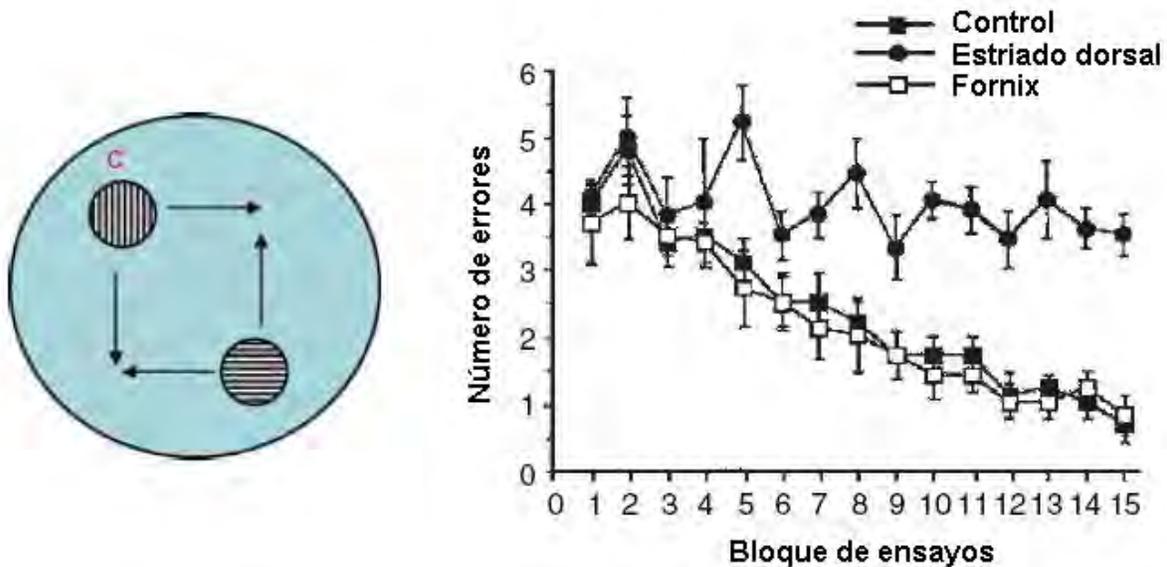


Figura 13. Tarea del LAM cuya adquisición depende de un aprendizaje de procedimiento. Para resolver la tarea la rata debe de seleccionar la clave visual correcta (C) bajo la cual se encuentra una plataforma de escape (C) e ignorar la clave visual (patrón horizontal) bajo la cual no se ubica una plataforma de escape. Ambas plataformas son alternadas en distintos cuadrantes a través del entrenamiento por lo cual la ejecución correcta requiere de una estrategia de procedimiento y discriminación de claves visuales. En la gráfica se muestra que en comparación con el grupo control, el grupo con lesión en el estriado dorsal tiene un mayor número de errores lo cual indica que el estriado dorsal participa en la formación de asociaciones de E-R. Modificado de Packard y McGaugh (1992).

Durante la sesión de entrenamiento se registra como error el número de veces que la rata selecciona la clave visual que no provee escape del LAM. Packard y McGaugh (1992) encontraron un deterioro en la adquisición de la tarea de procedimiento en el grupo con lesión en el estriado dorsal en comparación con el grupo control apoyando la hipótesis de que el estriado dorsal participa en el aprendizaje de procedimiento. No se encontraron diferencias entre el control y el grupo con lesión en el fornix lo cual muestra que en esta tarea no ocurre una competencia entre la representación de E-R mediada por el estriado dorsal y la representación espacial de E-E mediada por el sistema hipocámpico como se encontró en la tarea de procedimiento del laberinto radial (Packard et al., 1989). Esto se debe probablemente a que la plataforma de escape no guarda una relación fija con las claves visuales distales por lo cual el hipocampo no puede crear una representación estable de esta información en forma de mapa

espacial y por ello su lesión no mejora la adquisición de la tarea como ocurre en la tarea de procedimiento del laberinto radial (Figura 12 y 13).

2.3.2 Participación del estriado dorsomedial en la memoria espacial

Debido a que el estriado dorsal es heterogéneo en términos de su funcionalidad a través de sus conexiones neuroanatómicas, se ha reportado que la región dorsolateral del estriado (EDL) está involucrada en la adquisición de las asociaciones de E-R usadas en el aprendizaje de procedimiento y el estriado dorsomedial (EDM) está relacionado en la modulación de ciertos aspectos de la memoria espacial dependientes del hipocampo (Devan et al., 1999; Devan y White, 1999; Featherstone y McDonald, 2004, 2005; Holahan et al., 2005; McDonald y White, 1994; Whishaw et al., 1987).

Uno de los primeros estudios en los que se investigaron los efectos en el aprendizaje y la memoria espacial y de procedimiento al lesionar el EDM fueron descritos por Whishaw et al. (1987). En los experimentos se realizaron lesiones bilaterales en el EDM con ácido iboténico pre-entrenamiento y post-entrenamiento en grupos independientes los cuales fueron entrenados en la tarea de clave y de lugar en el LAM. Las ratas con lesiones en el EDM previas a la sesión de entrenamiento muestran un deterioro en la adquisición de la tarea de clave y de lugar durante los primeros bloques de entrenamiento en comparación con controles pero finalmente llegan a niveles de desempeño similares a los controles como resultado del sobre-entrenamiento. Estos resultados son distintos a los obtenidos por Morris et al. (1982) donde las ratas con lesiones en el hipocampo no llegaron a obtener los niveles de desempeño de los controles en la tarea de lugar del LAM lo cual apoya la hipótesis de que el hipocampo tiene un papel más importante que el estriado dorsomedial en la formación de asociaciones de E-E, fundamentales para la navegación espacial.

En el mismo estudio, al analizar las estrategias de navegación usadas por ratas control y ratas con lesión en el EDM, Whishaw et al. (1987) encontraron que en la prueba de retención en la tarea de lugar, el grupo control navegaba primero a la zona blanco (lugar donde previamente se encontraba la plataforma de escape), luego regresaba a regiones próximas a los puntos cardinales en los cuales se les había entrenado a buscar y después retomaban la ruta hacia la zona blanco. En comparación con el grupo control, esta conducta no disminuyó significativamente en

el grupo con lesión en el EDM. Los resultados de Wishaw et al. (1987) pusieron a prueba la hipótesis de que el estriado dorsal es funcionalmente heterogéneo ya que encontraron que la región dorsomedial participa tanto en el aprendizaje espacial como en el aprendizaje de procedimiento. Además en condiciones de sobre-entrenamiento las estrategias de navegación utilizadas por ratas lesionadas en el estriado dorsomedial en la tarea de lugar son similares a las utilizadas por ratas control, empleando la asociación de E-E entre las claves visuales distales y las rutas aprendidas para encontrar la plataforma de escape. Esto sugiere que en etapas tempranas del aprendizaje, el EDM puede crear una representación de E-E la cual toma menos importancia conforme se incrementan las sesiones de entrenamiento, probablemente como resultado de la formación de una representación estable de asociaciones de E-E dependientes del hipocampo.

Posteriormente McDonald y White (1994) encontraron que las lesiones en el EDL afectan la selección de estrategias de navegación de procedimiento en una prueba de competencia en ratas que fueron entrenadas bajo la tarea de clave y de lugar en el LAM. En la prueba de competencia, las ratas en el grupo con lesión en el EDL optaban por navegar a la zona en donde se ubicaba la plataforma en la tarea de lugar en vez de navegar a la plataforma con clave visible, mostrando un déficit en la selección de la estrategia de procedimiento. Estos resultados indican que el estriado dorsal participa en la representación de asociaciones de las cuales son dependientes las estrategias de navegación (E-E para la estrategia espacial y E-R para la estrategia de procedimiento), ocurre una competencia en forma paralela entre la región lateral y la región medial de tal forma que al lesionar la región dorsolateral del estriado se disminuye la estrategia de navegación de procedimiento y se incrementa la estrategia de navegación espacial.

La doble disociación funcional entre el EDL y el EDM fue descrito por Devan et al. (1999) en una prueba de competencia donde ratas con lesión en el EDM optaron por la estrategia de navegación de procedimiento, mientras que las ratas con lesión en el EDL mostraron un incremento no significativo en la selección de la estrategia espacial. Estos hallazgos demostraron la participación del EDM en la selección de estrategias de navegación espacial dependientes del hipocampo que compiten en forma paralela con las estrategias de navegación de procedimiento dependientes del EDL (Devan et al., 1999). En estudios recientes, Holahan et al. (2005) encontraron que el bloqueo de los receptores NMDA en el hipocampo dorsal y en el

EDM producen deterioro en la memoria de largo plazo en una tarea espacial del LAM lo cual apoya la participación del EDM en procesos de navegación espacial.

2.4 Neuroquímica del aprendizaje y la memoria

Al hablar de sistemas de neurotransmisión involucrados en el aprendizaje y la memoria es fundamental el entender que actualmente no se conoce cómo la diversa actividad de los neurotransmisores puede influir de manera distinta en el tipo de información adquirida en los múltiples sistemas de memoria. La modulación del aprendizaje y la memoria a través de la actividad de neurotransmisores, neuropéptidos y hormonas es dependiente de la región en donde ocurre el procesamiento de información y la etapa de este procesamiento. Es decir, el mismo neurotransmisor puede tener un efecto distinto durante la adquisición, consolidación o evocación. Como se discutirá a continuación, la caracterización de neurotransmisores involucrados en procesos de aprendizaje y memoria se ha llevado a cabo principalmente a través de dos metodologías: 1) lesiones farmacológicas o electrolíticas, 2) administración de agonistas o antagonistas. Para determinar que un neurotransmisor participa en procesos de aprendizaje y memoria es importante el descartar que el déficit conductual observado se deba a problemas motores, motivacionales, o somatosensoriales que se pueden identificar a través del análisis de varios parámetros obtenidos en el LAM.

2.4.1 Aprendizaje y memoria de procedimiento

El estriado dorsal contiene varios tipos de neurotransmisores y neuropéptidos. Actualmente se ha investigado la participación del sistema dopaminérgico, glutamatérgico y colinérgico en el aprendizaje y la memoria de procedimiento. Las proyecciones dopaminérgicas al estriado dorsal se originan en la sustancia nigra y proveen una señal reforzadora la cual es fundamental para las asociaciones de E-R (White et al., 1994). Las proyecciones cortico-estriatales son primordialmente glutamatérgicas y transmiten información sensorial de todas las modalidades que se asocian durante el aprendizaje dependiendo del contexto y de la relevancia de la modalidad sensorial para la ejecución de la tarea. La acetilcolina se localiza en una gran población de interneuronas en el estriado dorsal y puede interactuar con la transmisión dopaminérgica para modular la memoria de procedimiento (White, 1989; White et al., 1994).

Además la liberación diferencial de acetilcolina en el hipocampo y el estriado dorsal modula la selección de estrategias de navegación dependientes de cada estructura (Gold, 2004).

En la tarea de clave en el LAM la administración post-entrenamiento de anfetamina (bloquea la recaptura de dopamina y actúa como agonista indirecto) en el estriado dorsal facilita la consolidación de la memoria de procedimiento (Packard y McGaugh, 1994). De forma opuesta, la administración post-entrenamiento del antagonista dopaminérgico cis-flupentixol en el estriado dorsal deteriora la consolidación de la memoria de la tarea de procedimiento del laberinto radial (Legault et al., 2006). Estos estudios son consistentes con la hipótesis que postula a la dopamina como un neurotransmisor que actúa como señal reforzadora que une la asociación de E-R en el estriado dorsal y de E-R⁺ en el estriado ventral, en particular en el núcleo accumbens (Setlow, 1997).

En relación al glutamato, se ha encontrado que su administración en el estriado dorsal facilita la consolidación de la tarea de clave en el LAM (Packard, 1999) mientras que la administración del ácido 2-amino-fosfonoalérgico, conocido como APV o AP5 (antagonista a receptores NMDA) en el estriado dorsal después del entrenamiento en la misma tarea deteriora la consolidación de la memoria de procedimiento (Packard y Teather, 1997). Al administrar AP5 en el EDL, se produce un deterioro en el aprendizaje de procedimiento en la tarea de laberinto en T el cual no se observa al administrar AP5 en el EDM (Palencia y Ragozzino, 2005). Durante la prueba en la tarea de laberinto en T las ratas pueden resolver la tarea a través de dos estrategias: una estrategia de lugar dependiente de la memoria espacial o de respuesta dependiente de la memoria de procedimiento. Durante los primeros días de entrenamiento las ratas optan por la estrategia espacial dependiente del hipocampo y conforme se incrementan las sesiones de entrenamiento las ratas cambian de estrategia, utilizando una respuesta de procedimiento dependiente del estriado dorsal. De esta forma durante la sesión de prueba en el laberinto en T, la inactivación del hipocampo dorsal con lidocaína disminuye la expresión de la respuesta espacial e incrementa la expresión de la respuesta de procedimiento y la inactivación del estriado dorsal produce resultados opuestos (disminución en la respuesta de procedimiento e incremento en la respuesta espacial) (Packard y McGaugh, 1996).

Curiosamente la administración de glutamato en el EDL durante las primeras sesiones de entrenamiento en la tarea de laberinto en T facilitan la selección de respuestas de procedimiento

y la administración de glutamato en el hipocampo disminuye la selección de estrategias de procedimiento e incrementan la selección de estrategias espaciales (Palencia y Ragozzino, 2005). Esto indica que la activación diferencial glutamatérgica en el EDL y en el hipocampo modula la selección de estrategias de navegación dependientes de esas estructuras de tal forma que modifican la expresión temporal de la respuesta de procedimiento o espacial.

La activación colinérgica también participa en la consolidación del aprendizaje de procedimiento el cual se ha investigado primordialmente a través de la administración de agonistas (oxotremorina, colina) o antagonistas (atropina, escopolamina) colinérgicos en tareas asociativas de evitación (Packard et al., 1996; Prado-Alcalá y Cobos-Zapíaín, 1977, 1979; Prado-Alcalá et al., 1981). Además se ha encontrado que la liberación de acetilcolina en el EDL y en el hipocampo afecta la selección de estrategias espaciales o de procedimiento en la tarea de laberinto en T de tal forma que las ratas que eligen una estrategia de procedimiento tienen una mayor liberación de acetilcolina en el EDL en relación con el hipocampo, y, por otra parte el patrón opuesto se observa al elegir una respuesta espacial, es decir menor liberación en el EDL y mayor liberación de acetilcolina en el hipocampo (McIntyre et al., 2003).

2.4.2 Aprendizaje y memoria espacial

El aprendizaje y la memoria espacial dependen de la acción coordinada de distintas regiones cerebrales y de sistemas de neurotransmisión que interactúan de forma compleja para inducir cambios plásticos en las redes neuronales que subyacen la formación de memorias a largo plazo. En un artículo de revisión, McNamara y Skelton (1993) compilaron lo que hasta el momento se había encontrado en relación a los neurotransmisores y neuropéptidos involucrados en la memoria espacial en el LAM. Sugirieron que solo el sistema glutamatérgico, colinérgico y algunos neuropéptidos se requieren para este tipo de aprendizaje y que el incremento en la actividad del sistema GABAérgico deteriora la adquisición de la tarea de lugar en el LAM (McNamara y Skelton, 1993).

Los sistemas glutamatérgico y colinérgico han sido investigados en mayor detalle que otros neurotransmisores y neuropéptidos por lo que existe bastante evidencia que avala su participación en procesos de aprendizaje y memoria espacial. El primer estudio en sugerir que la formación de una memoria espacial depende de la activación de los receptores glutamatérgicos

NMDA fue llevado a cabo por Morris et al. (1986). En ese estudio se encontró que la administración del antagonista a receptores NMDA AP5 en los ventrículos de la rata produce deterioro en la adquisición de la tarea de lugar en el LAM y previene la inducción de potenciación a largo plazo o LTP en el giro dentado del hipocampo (Morris et al., 1986). Otro estudio que apoyó la participación de los receptores NMDA en la formación de memorias espaciales se realizó a través de un ratón knockout en el cual se eliminó selectivamente una de las subunidades del receptor NMDA y se encontró un deterioro en la adquisición de la tarea de lugar en el LAM (Tsien et al., 1996). El deterioro en la memoria espacial por la administración de antagonistas al receptor NMDA o eliminación de una de sus subunidades es el resultado de la interrupción en la entrada de calcio y la inhibición de cambios de plasticidad sináptica como el incremento en el número de receptores AMPA y la formación de espinas dendríticas, eventos correlacionados con la formación de memorias a largo plazo.

En relación al sistema colinérgico, existe mucha evidencia que avala la participación de la acetilcolina en el aprendizaje espacial ya que el bloqueo de receptores muscarínicos con antagonistas como la atropina o la escopolamina deterioran la adquisición pero no la evocación de la tarea de lugar en el LAM lo cual indica que sus efectos son sobre la formación de la memoria y no el resultado de alteraciones sensoriales o motoras que afecten la ejecución de la tarea (McNamara y Skelton, 1993). Otros estudios han encontrado que la administración sistémica o intrahipocámpica de agonistas dopaminérgicos a receptores D1 incrementan la liberación de acetilcolina y facilitan la memoria espacial mientras que el incremento en la actividad de los receptores GABA_A y GABA_B deterioran el aprendizaje espacial y la administración de norepinefrina en la amígdala basolateral mejora la adquisición y consolidación de la tarea de lugar en el LAM (D'Hooge y de Deyn, 2001; Hatfield y McGaugh, 1999; Hersi et al., 1995; McNamara et al., 1993; McNamara y Skelton, 1996).

Un punto importante a discutir es que con las mismas técnicas de investigación (farmacológicas, de lesión y manipulaciones genéticas) se han encontrado resultados distintos y en ocasiones contradictorios a los reportados tanto en los estudios discutidos previamente de disociación funcional, como en la contribución de diversos neurotransmisores y neuropéptidos en la memoria de procedimiento y espacial. Un ejemplo en particular ocurre con la contribución de los receptores NMDA para la formación de la memoria espacial que se ha reportado en un gran

número de artículos en diversas revistas de investigación, resultados que han sido cuestionados por otros que han reportado que se pueden formar memorias espaciales aún bajo la administración de altas dosis de antagonistas a los receptores NMDA (Keith y Rudy, 1990; Niewoehner et al., 2007; Saucier y Cain, 1995). En el estudio realizado por Saucier y Cain en 1995 reportaron que si las ratas son expuestas a nadar libremente en el LAM, el bloqueo de receptores NMDA en el giro dentado no afecta la adquisición de la tarea de lugar en el LAM, sugiriendo que otros factores, como el incremento en la tigmotaxia, pueden ser interpretados como un deterioro en la adquisición de la memoria espacial dependientes de receptores NMDA. Por ello, dado que cualquier manipulación cerebral puede afectar el desempeño de una tarea conductual a través de procesos que no están relacionados directamente con mecanismos de consolidación de memorias (procesos motores, sensoriales o motivacionales), es de suma importancia el evaluar y descartar estos factores antes de concluir su participación en la formación de memorias.

Tomando en cuenta estos resultados, Rudy (2008) sugiere que cuando un componente del cerebro es inactivado o destruido y no se observa un efecto conductual en la memoria, no se puede concluir que dicho componente (región cerebral, célula o molécula) no está involucrado en la formación de memorias ya que el cerebro posee redundancia de procesamiento y mecanismos que pueden compensar el déficit inducido. Por ello, la ausencia de un efecto inducido por una manipulación experimental farmacológica o genética primordialmente indica lo que el cerebro puede hacer sin la presencia de ese componente y no lo que el componente hace en un cerebro normal. En relación a experimentos conductuales sobre el aprendizaje o la memoria con manipulaciones conductuales o genéticas Rudy (2008) concluye lo siguiente: 1) Las manipulaciones pueden modificar la conducta sin afectar directamente el aprendizaje y la memoria, 2) estas manipulaciones pueden tener múltiples efectos, de tal forma que aun si el ligando, receptor o gen tiene algún efecto sobre la memoria, estos también pueden estar involucrados en otros procesos que influyen en la conducta y que no están directamente relacionados con mecanismos de almacenamiento de información, y 3) varios mecanismos pueden producir memorias aun cuando los receptores NMDA u otros receptores no se encuentran funcionalmente activos.

Todos estos ejemplos muestran la alta complejidad de los procesos involucrados en la formación de memorias asociativas como la memoria de procedimiento o la memoria espacial, ya que los mecanismos moleculares que subyacen el procesamiento y almacenamiento de información dependen de interacciones altamente complejas y probabilísticas de varias moléculas, redes neuronales y sistemas de memoria dependientes de un gran número de estructuras cerebrales.

2.4.3 Papel de los glucocorticoides en la consolidación de la memoria

Además de los varios sistemas de neurotransmisión involucrados en el aprendizaje y la memoria, durante una experiencia emotiva inducida por una situación de estrés se liberan hormonas adrenales (catecolaminas y glucocorticoides), que ejercen efectos de modulación sobre la memoria. Estas neurohormonas interactúan a través de receptores membranales y receptores intracelulares en el caso de los glucocorticoides (GCC) e inducen cambios de plasticidad sináptica a través de la expresión de genes en varias estructuras cerebrales, entre ellas la amígdala, el hipocampo y el estriado. Estos mecanismos de modulación de la memoria, en particular la facilitación en la consolidación de la información adquirida durante experiencias emotivas, brindan una ventaja adaptativa para un animal que enfrenta situaciones de peligro que debe recordar para incrementar su probabilidad de supervivencia.

Existe abundante evidencia que apoya la hipótesis de la modulación de la consolidación de la memoria a través de los GCC. Dicha evidencia se ha obtenido por medio de técnicas experimentales que incrementan o disminuyen los niveles de GCC, entre ellas la exposición a situaciones estresantes, la adrenalectomía, tratamientos farmacológicos que inhiben la síntesis de corticosterona (CORT), la administración de agonistas y antagonistas a los receptores a GCC y manipulaciones genéticas como la administración de oligonucleótidos anti-sentido que previenen la síntesis del receptor glucocorticoide (GR) y ratones knockout de genes que codifican para el receptor GR (Roozendaal, 2002).

Varios estudios han demostrado que en tareas aversivas, tareas de procedimiento y tareas espaciales dependientes de estructuras como la amígdala, el estriado, y el hipocampo, la administración sistémica o intracerebral de GCC después del entrenamiento facilitan la consolidación de la memoria (Abrari et al., 2008; de Kloet et al., 1999; Quirarte et al., 2009;

Roozendaal y McGaugh, 1997). En tareas de aprendizaje espacial como la tarea de lugar del LAM y la tarea de condicionamiento de miedo al contexto la administración de CORT o de agonistas a los GR vía sistémica o intracerebroventricular facilitan la consolidación de asociaciones espaciales o de contexto (Abrari et al., 2008; Cordero y Sandi, 1998). En contraste, la administración del antagonista a GR (RU 38486) en el hipocampo previo al entrenamiento de la tarea de lugar del LAM deterioran la memoria espacial en ratas a las cuales se les lesionó la amígdala basolateral (BLA), mostrando la participación de los GR y la BLA en la modulación de la memoria (Roozendaal y McGaugh, 1997). El deterioro en la memoria no es el resultado de un efecto sobre la adquisición ya que las lesiones en la BLA no afectan el desempeño durante el aprendizaje de la tarea de lugar del LAM (Roozendaal y McGaugh, 1997).

La facilitación de la memoria mediada por los GCC en tareas espaciales puede ocurrir al administrar CORT u otro agonista a los GR después del entrenamiento o también puede ocurrir de manera endógena al manipular el nivel de estrés al que las ratas son expuestas. Este estudio se llevó a cabo por Sandi, Loscertales y Guaza (1997) quienes encontraron que las ratas entrenadas en la tarea de lugar del LAM en agua fría (19°C) mostraban una mejor adquisición de la tarea que las ratas entrenadas en agua caliente (25°C) y sus niveles de CORT después del entrenamiento fueron más altos que las entrenadas a 25°C. En el mismo estudio, la administración sistémica de CORT en ratas entrenadas a 25°C pero no a 19°C mejoraron la memoria espacial, por lo cual se concluyó que el factor crítico para la facilitación de la memoria espacial a través de los GCC está determinado por los niveles circulantes de CORT inducidos por una experiencia estresante (Sandi, Loscertales y Guaza, 1997). Estos efectos son el resultado de la baja afinidad de los receptores GR por la CORT los cuales se activan en condiciones de estrés moderado e inducen cambios en la expresión de genes que inducen plasticidad sináptica (de Kloet et al., 1999).

En relación a los receptores involucrados en la modulación de la memoria por los GCC, se ha encontrado que actúan a través del receptor GR y no por el receptor mineralocorticoide (MR) ya que la administración post-entrenamiento de antagonistas al receptor GR deterioran la consolidación de la memoria y la administración de agonistas al receptor GR post-entrenamiento facilitan la consolidación de la tarea de lugar en el LAM (Figura 14) (de Kloet et al., 1999). En contraste, la administración de antagonistas al receptor MR pre-entrenamiento y previo a la

prueba de memoria alteran la búsqueda de la zona de escape en la tarea de lugar en el LAM mientras que la administración después del entrenamiento no altera la consolidación de la tarea de lugar. Esto muestra que los receptores MR participan en procesos de integración sensorial e integración motora (selección de respuestas) y no en procesos de aprendizaje y memoria (de Kloet et al., 1999).

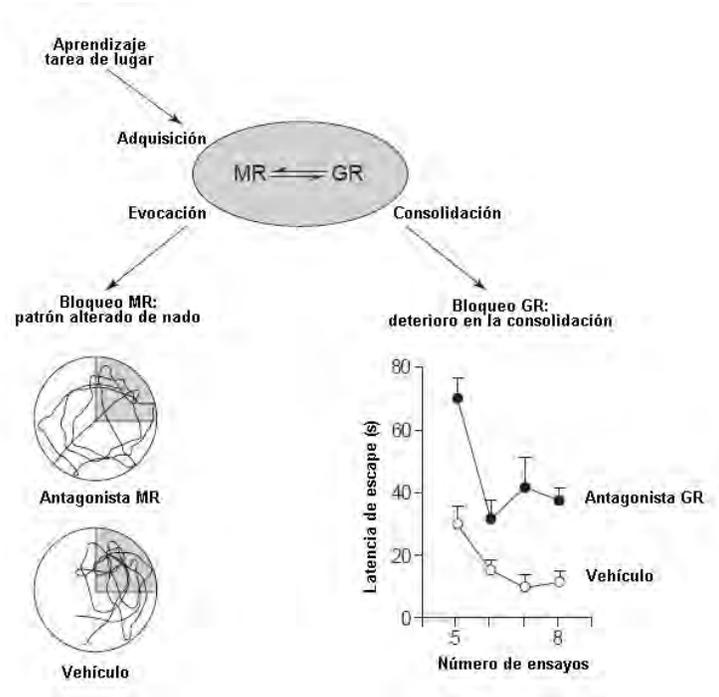


Figura 14. Participación de los receptores GR en la consolidación de la memoria espacial en el LAM. El bloqueo de receptores MR 30-45 minutos previo a la evocación alteran el patrón de búsqueda por la zona blanca y el bloqueo de receptores GR post-entrenamiento deterioran la consolidación de la memoria espacial al realizar una sesión de entrenamiento 24 horas después. Modificado de: de Kloet et al. (1999).

La participación de los GCC en la modulación de la memoria se ha investigado principalmente en estructuras como el hipocampo y la amígdala en un gran número de tareas conductuales de aprendizaje, pero poco se ha explorado sobre la posible modulación de la memoria de procedimiento dependiente de GCC en el estriado, estructura que como se discutió previamente participa tanto en la memoria de procedimiento como en la memoria espacial. En un estudio realizado recientemente, se entrenaron grupos independientes de ratas en la tarea de clave y en la tarea de lugar en el LAM a las que se les administraron diferentes dosis de CORT (2, 5, o 10 ng) post-entrenamiento en la región anterior del estriado dorsal (Quirarte et al., 2009). Encontrándose una facilitación en la consolidación de la memoria de procedimiento en el grupo

de 5 ng de CORT pero no sobre la consolidación de la memoria espacial. Debido a que la administración de CORT se realizó en la región anterior del estriado y en particular en la región dorsolateral, no se pudo descartar la posible participación del EDM en procesos de modulación de memoria espacial, por lo cual solo se puede concluir que la región antero-dorsolateral del estriado participa en la modulación de la memoria de procedimiento dependiente de GCC.

Otro resultado de gran importancia que se ha reportado sobre la modulación de la memoria por medio de los GCC es un efecto dosis-dependiente de CORT sobre la memoria, en el cual niveles intermedios de CORT, ya sean inducidos por una situación de estrés o administrados, facilitan la consolidación de la memoria, mientras que niveles altos de CORT deterioran la memoria (Sandi, 2003). Se ha encontrado que este efecto farmacológico en forma de U invertida está relacionado con la facilitación en la potenciación sináptica a largo plazo (LTP) en el hipocampo induciendo cambios de plasticidad sináptica a través de los receptores AMPA (Abrari et al., 2008; Conboy y Sandi, 2009).

2.4.4 Regulación y mecanismos de acción de los glucocorticoides

La síntesis y regulación de los GCC se lleva a cabo a través del eje hipotalámico-hipofisiario-adrenal (o eje H-H-A) el cual es esencial para la regulación de la respuesta al estrés (Figura 15A). El hipotálamo, estructura que actúa como un centro de integración y regulación de varias funciones fisiológicas, es fundamental para mantener la homeostasis del organismo. Esta estructura participa en la regulación de varios sistemas neuroendócrinos que poseen un eje hipotálamo-hipófisis-órgano blanco, como el eje H-H-A.

La respuesta al estrés es el resultado de estímulos que pueden afectar directamente la homeostasis del organismo a través de cambios fisiológicos causados por factores como el frío, la falta de alimento, escapar de depredadores, o enfermedad, entre otros. Además en algunas especies de mamíferos y particularmente en primates, situaciones que requieren de procesamiento cognitivo a través de una evaluación, anticipación o evocación de información relacionada a un evento emotivo pueden generar una respuesta de estrés, como por ejemplo la evaluación del estatus social en una jerarquía social de primates.

La regulación del eje H-H-A comienza en la región parvocelular del núcleo paraventricular del hipotálamo (PVN), donde se ubican los somas de las neuronas que sintetizan

la hormona liberadora de corticotropina (CRH) cuyos axones proyectan a la capa externa de la eminencia media en donde se libera la CRH que es transportada por la vasculatura portal capilar a la adenohipófisis (Figura 15B). Dentro de la adenohipófisis se sintetiza y libera la hormona adrenocorticotropa (ACTH) a través de la unión de CRH con los receptores CRH-R1 y CRH-R2. La ACTH ingresa a los vasos sanguíneos viajando a través de la circulación y activa receptores en la corteza adrenal para estimular la síntesis y liberación de mineralocorticoides (aldosterona) y GCC. Los niveles circulantes de GCC son regulados a través de asas de retroalimentación positivas (producción) y negativas (inhibición) que actúan en la corteza de las glándulas adrenales, en los corticotropos hipofisarios y en las neuronas CRH del PVN.

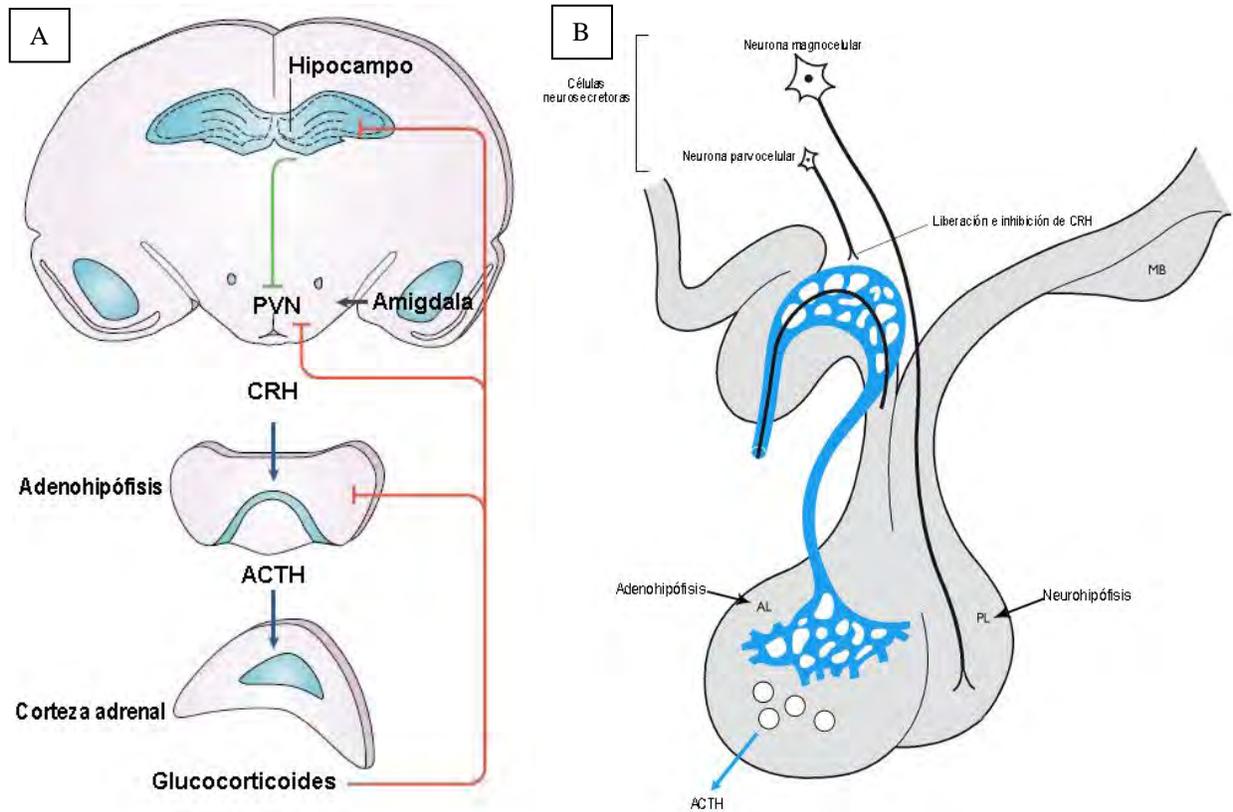


Figura 15. A. Eje hipotálamo-hipófisis-adrenal en el que se muestran las estructuras que participan en la regulación de la secreción de GCC por la corteza adrenal. B. Síntesis y liberación de los precursores de los GCC por neuronas en el PVN y en la adenohipófisis. Abreviaciones: ACTH, hormona adrenocorticotropa; CRH, hormona liberadora de corticotropina; PVN, núcleo paraventricular hipotalámico. Modificado de Sandi (2004).

Debido a su naturaleza lipofílica, los GCC cruzan fácilmente la barrera hemato-encefálica y la membrana celular para ejercer diversas acciones en el cerebro a través de la activación de dos receptores intracelulares: el GR y el MR. Los GCC ejercen varias acciones en diversas regiones del organismo entre las que se encuentran la regulación de los niveles de glucosa, el ritmo cardiaco, la presión sanguínea y la respuesta inmunológica las cuales requieren ser reguladas en situaciones de estrés. A través de técnicas de biología molecular como la inmunohistoquímica e hibridación in situ, se ha observado que el GR se encuentra ampliamente distribuido en el cerebro de la rata adulta con una densidad alta en la corteza frontal, el PVN, el núcleo central de la amígdala, las células piramidales de la capa CA1 y CA2, y las células granulares del giro dentado de la formación hipocámpica (Figura 16A) (Morimoto et al., 1996). En el estriado se encuentra una densidad moderada de GR, aproximadamente 4 veces menor que la de la capa CA1, CA2 y el giro dentado del hipocampo (Figura 16B) (Aronsson et al., 1988). En relación a su ubicación, los MR tienen una menor distribución en el cerebro y frecuentemente se encuentran co-localizados en regiones de alta densidad de GR, con excepción del estriado el cual está prácticamente desprovisto de MR (Joëls y Baram, 2009; Morimoto et al., 1996).

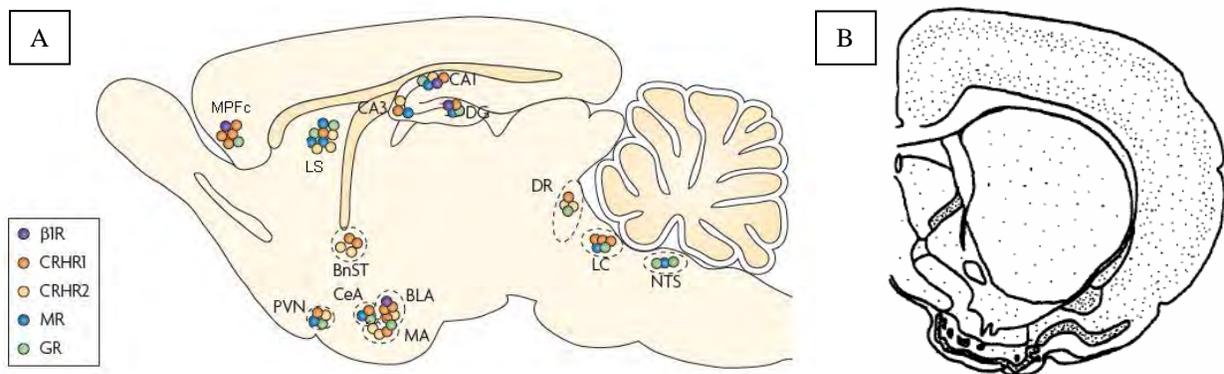


Figura 16. A. Corte sagital del cerebro de la rata en el que se muestran regiones de alta distribución de MR y GR en estructuras que modulan al PVN. B. Corte coronal del estriado de la rata que muestra una densidad intermedia de receptores GR. Abreviaciones: BLA, amígdala basolateral; BnST, lecho del núcleo de la stria terminalis; CeA, amígdala central; DG, giro dentado; DR, núcleo dorsal del Rafé; LC, locus ceruleus; LS, septum lateral; MA, amígdala medial; MPFc, corteza medial prefrontal; NTS, núcleo del tracto solitario; PVN, núcleo paraventricular hipotalámico. Modificado de: A. Joëls y Baram (2009); B. Morimoto et al, (1996).

Además de su densidad en diversas estructuras, los MR y GR difieren en su afinidad por distintos ligandos. La afinidad de los MR para unir CORT es 10 veces mayor que la afinidad de los GR por lo cual mientras que los MR se mantienen ampliamente ocupados (70-80%) en condiciones en las que los niveles circulantes de corticosteroides son bajos, los GR solo tienen una baja ocupación de aproximadamente 10% (Reul y de Kloet, 1985). Al incrementar los niveles de corticosteroides durante episodios de estrés, aumenta la activación de los GR los cuales como se discutió previamente, participan en la consolidación de la memoria.

Durante una experiencia estresante, la CORT ejerce sus efectos de modulación de la memoria por medio de proteínas membranales e intranucleares cuyos mecanismos de acción ocurren a distintas ventanas temporales. Los efectos de acción rápida ocurren a través de procesos no genómicos como la interacción con receptores a neurotransmisores y los efectos de acción lenta ocurren a través de mecanismos genómicos que involucran la interacción con receptores nucleares y la expresión de genes (Figura 17A). Los efectos no genómicos de los GCC sobre la consolidación de la memoria se han descrito en receptores acoplados a proteínas G, principalmente a través de la interacción con los receptores β -adrenérgicos (Roozendaal, 2000). Estos receptores están acoplados a la adenilato ciclasa (AC), que activa al segundo mensajero adenosín monofosfato cíclico (AMPC) y a su vez la vía de señalización de la proteína cinasa A la cual puede fosforilar a proteínas como CREB (elemento de respuesta a AMPC) que actúan como factor de transcripción induciendo la expresión de genes y la síntesis de nuevas proteínas, muchas de las cuales participan en cambios sinápticos críticos para el mantenimiento de la memoria (Figura 17B).

Otro mecanismo de acción a través del cual los GCC pueden influir en la consolidación de la memoria es por medio de efectos genómicos inducidos por la interacción con receptores nucleares como el GR. Al unirse el ligando (CORT) al GR ubicado en el citoplasma ocurre un cambio conformacional que le permite al complejo ligando-receptor la translocación al núcleo y la facilitación o inhibición de la transcripción de genes a través de dos mecanismos independientes. Uno directo a través de la interacción del complejo ligando-receptor GR con secuencias específicas de ADN denominadas elementos de respuesta a glucocorticoides o GRE en la región promotora del gen y un mecanismo indirecto a través de la interacción del GR activado con otros factores de transcripción como CREB, c-jun, o TFIID entre otros (Figura 17b)

(Sandi, 2004). Ambos mecanismos tienen como finalidad facilitar o inhibir la síntesis de un amplio número de proteínas que son críticas para producir cambios estructurales de plasticidad sináptica que subyacen el almacenamiento de información.

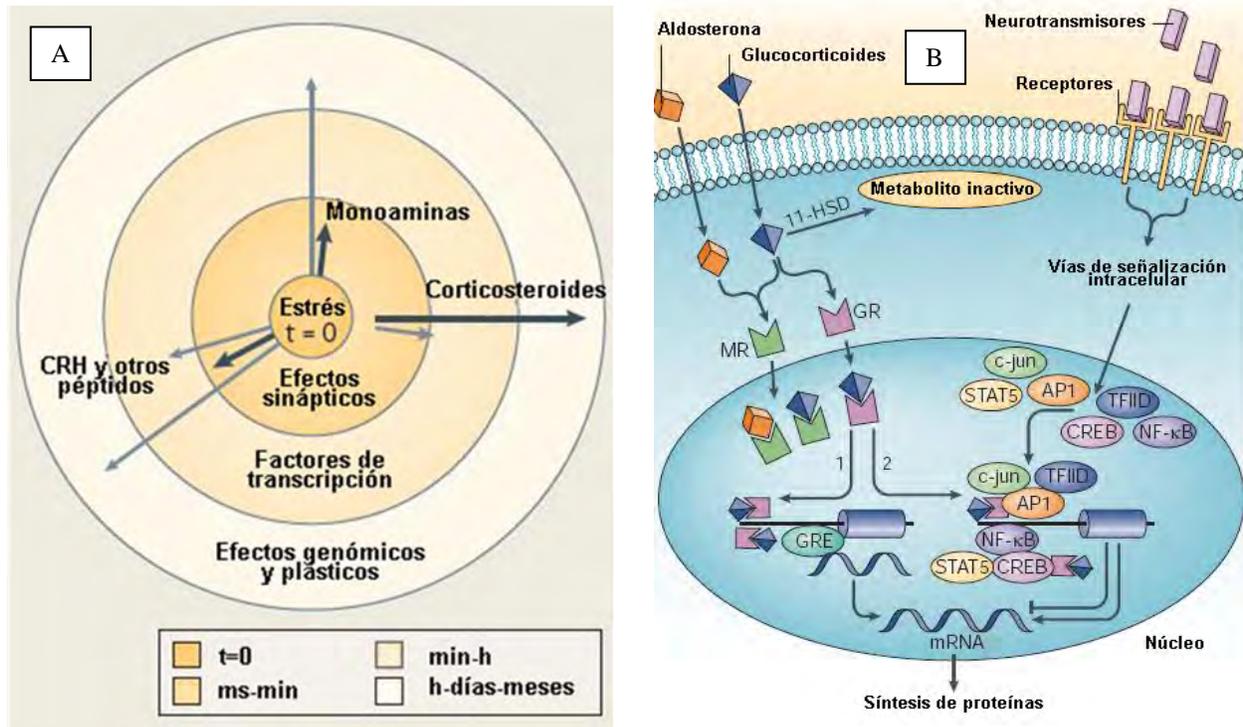


Figura 17. A. Diversos efectos mediados por los corticosteroides, las monoaminas y otros péptidos iniciados desde la presentación del estímulo estresante en t=0. En los círculos concéntricos se describen los diversos efectos a distintos intervalos temporales. Los vectores negros indican el mecanismo preferencial de acción y los vectores grises vías moleculares y celulares alternas de acción. En el caso de los corticosteroides, los mecanismos preferenciales son genómicos e inducen cambios estructurales y los alternos ejercen efectos sinápticos como los descritos a través de receptores a neurotransmisores. Además el tamaño del vector corresponde al inicio y tiempo de acción. En comparación con las monoaminas, el inicio de la acción de los corticosteroides no es inmediato ya que requieren ser transportados desde las adrenales al cerebro. B. Mecanismos de acción de los GCC a través de vías de señalización intracelulares dependientes de receptores membranales (receptores adrenérgicos) y receptores intracelulares (MR y GR). Se ilustran los dos mecanismos independientes de acción sobre la transcripción de genes: (1) acción directa a través de los GR y (2) a través de la interacción con factores de transcripción como c-jun, AP1 y TFIID entre otros. Abreviaciones: AP1, proteína activadora 1; CREB, elementos de respuesta a cAMP; GRE, elementos de respuesta a glucocorticoides; NF-κB, factor nuclear kappa B; STAT5, transductor de señales y activador transcripcional 5A; TFIID, factor de transcripción IID. Modificado de: A. Joëls y Baram (2009); B. Sandi (2004).

3. Planteamiento del problema

Basado en los antecedentes anteriores en los que se discutieron las estrategias de navegación y sistemas de memoria utilizados por roedores, la modulación de la memoria a través de los GCC y la funcionalidad heterogénea del estriado dorsal, nos preguntamos si la activación de los GR en el DMSt participarán en la consolidación de la memoria espacial, de procedimiento y la selección de estrategias de navegación.

4. Hipótesis

H1: La administración de CORT en el EDM después del entrenamiento de la tarea de clave en el LAM facilitará la consolidación de la memoria de procedimiento.

H2: La administración de CORT en el EDM después del entrenamiento de la tarea de lugar en el LAM facilitará la consolidación de la memoria espacial.

H3: La administración de CORT en el EDM después del entrenamiento de la tarea de clave y de lugar en el LAM facilitará la selección de estrategias de navegación espacial.

5. Objetivos

Evaluar la contribución del EDM sobre la consolidación de la memoria espacial, la memoria de procedimiento y la selección de estrategias de navegación en competencia en el LAM después de la administración de CORT.

5.1 Objetivos particulares

1. Evaluar el efecto de la administración de CORT en el EDM sobre la consolidación de la memoria de procedimiento.
2. Evaluar el efecto facilitador de la administración de diferentes dosis de CORT sobre la consolidación de la memoria de procedimiento en la primera sesión de prueba en el orden de entrenamiento tarea de clave-tarea de lugar.

3. Evaluar el efecto de la administración de CORT en EDM sobre la consolidación de la memoria espacial.
4. Evaluar el efecto facilitador de la administración de diferentes dosis de CORT sobre la consolidación de la memoria espacial en la primera sesión de prueba en el orden de entrenamiento tarea de lugar-tarea de clave.
5. Evaluar el efecto de la administración de CORT en EDM sobre la selección de la memoria espacial.

6. Materiales y métodos

El protocolo experimental de la presente tesis fue aprobado por el Comité de Bioética del Instituto de Neurobiología, UNAM para el uso de animales experimentales acorde a las normas estipuladas en la “Guide for care and use of Laboratory animals” del NIH (ILAR, 1996).

6.1 Sujetos

Se emplearon 48 ratas macho de la cepa Wistar obtenidas de la colonia del Instituto de Neurobiología de la Universidad Nacional Autónoma de México se alojaron individualmente en cajas de acrílico transparente (24 cm x 21 cm x 45 cm), con cama de aserrín y con agua y alimento (Purina chow) *ad libitum*. Se mantuvieron en el bioterio del laboratorio con un ciclo de luz-oscuridad de 12 h iniciando el periodo de luz a las 7:00 hr. Las ratas ingresaron al bioterio del laboratorio una semana antes de ser sometidas a la cirugía con la finalidad de que se adaptaran a las condiciones ambientales. El peso de las ratas al ser sometidas a la cirugía fue de 250-350 g, correspondiente a una edad adulta.

6.2 Cirugía

Previo a la cirugía se utilizó como anestésico pentobarbital sódico (50 mg/kg) y atropina para incrementar la frecuencia cardiaca (0.4 mg/kg); ambos fármacos administrados intraperitonealmente (i.p.). Una vez anestesiada la rata, se rasuró la piel que cubre el cráneo y se le administró 3 ml de solución salina vía intramuscular para facilitar la degradación del

pentobarbital sódico y prevenir deshidratación. Posteriormente se fijó la rata en un aparato estereotáxico (Stoelting Company, Illinois) para la implantación de las cánulas. Una vez montada la rata en el aparato estereotáxico se le administró un anestésico local (xilocaína) sobre la piel que cubre el cráneo e inmediatamente después se realizó una incisión. La incisión se llevó a cabo en la piel a nivel de la línea media del cráneo en una longitud aproximada de 1.5 cm y se cortó el tejido perióstico. Usando un taladro fino, se trepanaron 4 orificios pequeños en la región parietal del cráneo cuidando de no lesionar la duramadre. En dos orificios se introdujo una cánula guía (15 mm; calibre 23), una en cada hemisferio cerebral en el EDM. Los otros dos orificios se utilizaron para colocar un tornillo en cada uno de ellos con la finalidad de fijar y adherir las cánulas a los tornillos utilizando cemento dental. Al terminar la cirugía, se colocó en cada cánula un tapón-estilete de 15 mm de longitud el cual podía ser retirado durante la administración de las drogas. Las coordenadas utilizadas para la implantación de las cánulas fueron tomadas del atlas de Paxinos y Watson (1998) de acuerdo con los estudios de Featherstone y McDonald (2005) en el cual se estudiaron los efectos conductuales al lesionar el EDM y el EDL.

Las coordenadas fueron tomadas a partir de bregma, fijando la barra de la nariz del estereotáxico a -3.3 mm de la línea interaural. Las coordenadas del EDM fueron las siguientes: Antero-posterior, +0.7 mm; mediolateral, ± 2.6 mm y dorsoventral -4.4 mm.

6.3 Adaptación de los sujetos a las condiciones experimentales

La Figura 18 muestra el diseño experimental del presente estudio desde la cirugía hasta la verificación histológica que será descrito a más detalle en las siguientes secciones. Durante el periodo de recuperación (10 días post-operación), las ratas se manipularon por tres días no consecutivos. Antes de comenzar la manipulación, entrenamiento o prueba, las ratas fueron colocadas fuera del cuarto donde se encuentra el laberinto acuático por un periodo de una hora. La manipulación consistió en tomar a la rata suavemente con una toalla, remover los tapones que cubren las cánulas y acariciar la nuca y el lomo por 3 minutos utilizando guantes de látex a los usados durante el entrenamiento y prueba. Además se registró en una hoja el peso y observaciones sobre la condición de la rata y de los tapones. Aquellas ratas que no se encontraban en buena condición física o cuyas cánulas estaban tapadas o dañadas fueron

excluidas del experimento. El día previo al entrenamiento se introdujo un inyector falso dentro de las cánulas de longitud similar a la que se usó durante las microinyecciones y se dejó por un minuto al igual que cuando se administró el fármaco. La función de la última manipulación es habituar a la rata al procedimiento de infusión y de esta manera disminuir el estrés producido al mantener a la rata envuelta en una toalla con mínima movilización por 2 minutos.

6.4 Grupos y tratamientos

Se estudiaron cuatro grupos independientes, a tres de los cuales se les administró una dosis distinta de CORT en el EDM bajo las dos tareas de entrenamiento. Es decir se administró una dosis al terminar el entrenamiento en la tarea de clave y la misma dosis en el mismo sujeto al terminar el entrenamiento en la tarea de lugar. Los cuatro grupos fueron los siguientes: 1) 0.5 μ l vehículo, 2) 5 ng/0.5 μ l CORT, 3) 10 ng/0.5 μ l CORT y 4) 20 ng/0.5 μ l CORT. La manipulación y entrenamiento, así como la administración y prueba se realizó entre las 8:00-15:00 horas. El horario de trabajo corresponde al periodo de tiempo en el que se encuentran los niveles endógenos más bajos de CORT en el ciclo circadiano de la rata, lo cual es fundamental para un estudio de facilitación de la memoria (Luna et al., 1995).

6.4.1 Fármacos y preparación de soluciones

Se prepararon soluciones de almacenamiento de CORT y vehículo cada vez que se realizó un experimento y se mantuvieron en refrigeración. Previo al entrenamiento se prepararon las dosis a usarse de la solución de almacenamiento (5, 10, o, 20 ng CORT) a partir de la dosis de 30 ng y la solución vehículo. La solución de almacenamiento, el vehículo y las varias dosis se prepararon de la siguiente manera: 1) Solución de almacenamiento: 5 mg de CORT + 3.33 ml de etanol absoluto. 2) Vehículo: Para 10 ml: 9,800 μ l de salina + 200 μ l de etanol. 3) Dosis 30 ng/ml: Para 10mL: 200 μ l de solución de almacenamiento + 9,800 μ l de salina. 3) Dosis 20 ng/ml: Para 3 mL: 2,000 μ l de dosis 30 ng + 1,000 μ l de vehículo. 4) Dosis 10 ng/ml: Para 3 mL: 1,000 μ l de dosis 30 ng + 2,000 μ l de vehículo. 5) Dosis 5 ng/ml: Para 5 mL: 1,000 μ l de dosis 30 ng + 5,000 μ l de vehículo.

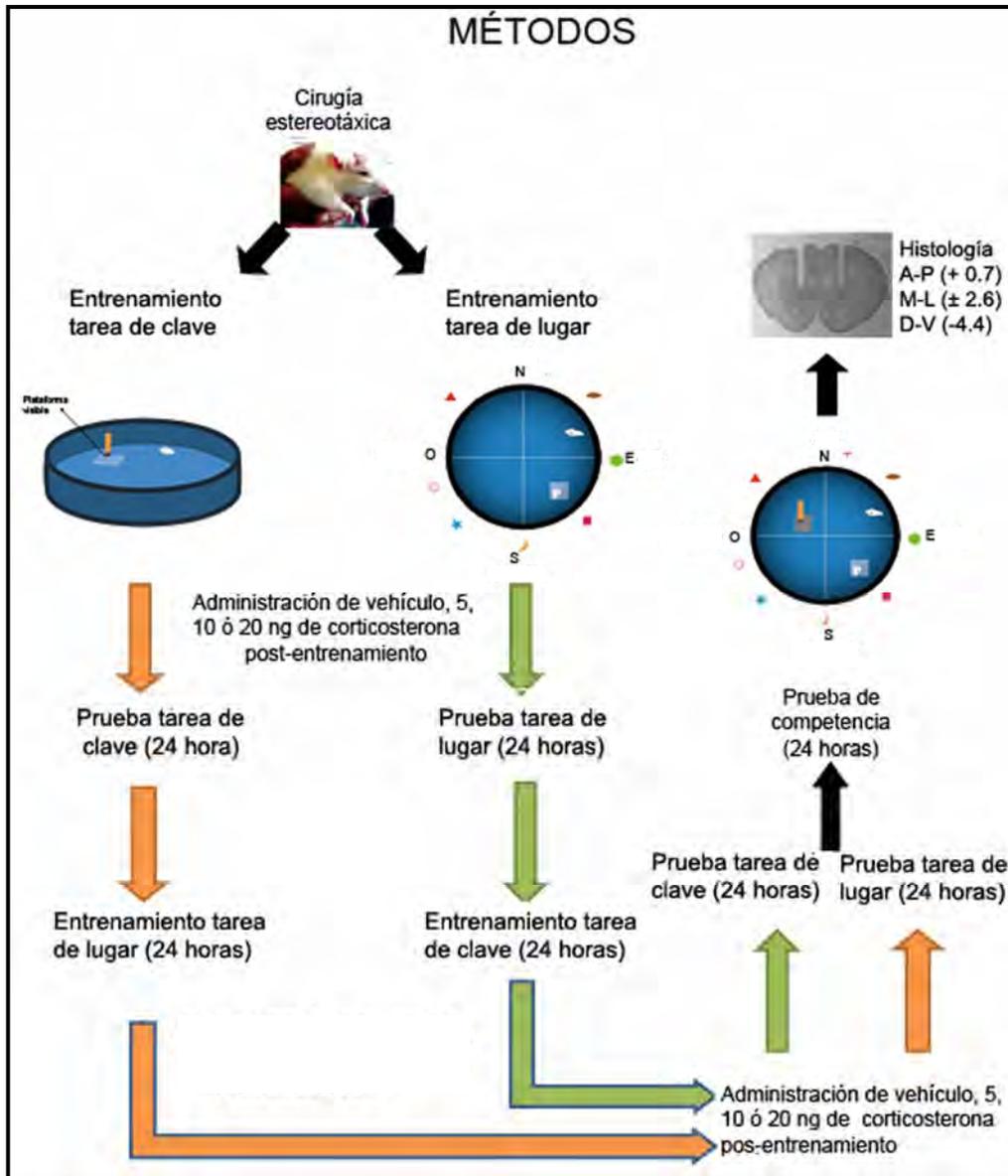


Figura 18. Diseño experimental del presente estudio.

6.4.2 Administración de fármacos

Se realizaron microinyecciones bilaterales a través de un inyector de 16 mm, fabricado con tubos de agujas hipodérmicas de acero inoxidable de calibre 30 conectadas a través de un tubo de polietileno de calibre PE-20 a una jeringa Hamilton de 10 μ l acoplada a una bomba de infusión lenta (WPI modelo sp200i). La punta del inyector proyectaba a 1 mm más de distancia que la punta de la cánula lo cual se tomó en cuenta para las coordenadas dorsoventrales de

Featherstone y McDonald (2005). Se administró 0.5 μ l de vehículo o CORT a una velocidad de 0.5 μ l/minuto, al terminar la administración se dejó el inyector por un minuto adicional para permitir la difusión. La administración se realizó al terminar el último ensayo de cada sesión de entrenamiento.

6.5 Aparatos

El entrenamiento y prueba se llevaron a cabo en el LAM, que consiste de un tanque circular negro de plástico con diámetro de 154 cm y altura de 60 cm, colocado sobre una base de metal que lo sostiene a una altura de 58 cm (Figura 19). El tanque se llena con agua hasta una altura de 1.5 cm por arriba de la plataforma cuadrada a una profundidad de 22 cm, a una temperatura de $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ para evitar la hipotermia que se adquiere al nadar y además porque estudios realizados por Sandi et al. (1997) encontraron que las ratas entrenadas a 25°C pero no a 19°C mostraron facilitación en la memoria espacial al administrar CORT intraperitonealmente después de cada sesión de entrenamiento. Esto ocurre ya que la liberación endógena de CORT en las ratas es mayor en situaciones de estrés como ocurren al estar en contacto con el agua a una temperatura de 19°C en comparación con 25°C (Sandi et al., 1997). Además el tanque está dividido funcionalmente en cuatro puntos cardinales Norte, Sur, Este y Oeste los cuales marcan la división del tanque en cuatro cuadrantes similares. Se utilizaron dos tipos de plataforma de escape: una plataforma cuadrada negra de acrílico (11.8 cm x 11.8 cm) la cual se coloca en uno de los cuadrantes del tanque y otra plataforma con las mismas dimensiones sobre la cual se ubica un clave visible de 12 cm de altura. El nivel del agua durante el uso de la plataforma con clave visible es el mismo que el usado durante el uso de la plataforma oculta.

El cuarto en el que se encuentra el tanque tiene una dimensión de 236 cm x 225 cm x 242 cm, es sonoamortiguado, está pintado de blanco y en sus paredes se encuentran carteles como claves visuales. En cada esquina superior del cuarto de experimentación se ubica una lámpara con un foco de 60 W, las cuales iluminan indirectamente el LAM y permiten reflejar la luz sobre la rata para que se pueda observar a través de la cámara. En el techo del tanque se ubica una cámara, la cual graba la trayectoria del nado de la rata. Dicha cámara está conectada a una computadora la cual registra varios parámetros obtenidos durante las sesiones de entrenamiento y prueba por medio del sistema computacional Smart de San Diego Instruments Inc.

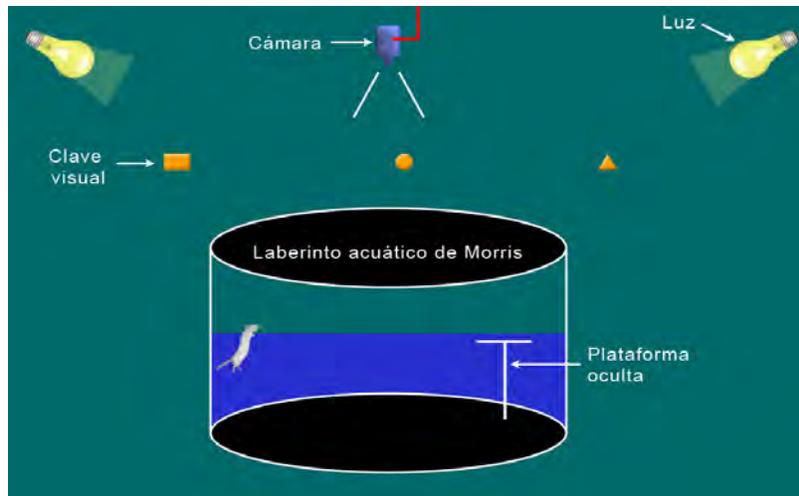


Figura 19. Esquema del laberinto acuático de Morris

6.6 Pruebas conductuales

6.6.1 Tarea de clave: Aprendizaje y memoria de procedimiento

El entrenamiento de clave se llevó a cabo utilizando una plataforma de escape al costado de la cual se ubica una clave visual proximal y no se utilizaron claves visuales distales en las paredes del cuarto de experimentación. Las ratas recibieron 8 ensayos a partir de puntos aleatorizados ubicados en los cuatro puntos cardinales. En cada ensayo la rata se colocó mirando hacia la pared del LAM y previo a cada ensayo, la plataforma visible se cambió aleatoriamente a uno de los cuatro cuadrantes del LAM de tal manera que en cada ensayo la plataforma se encontraba en un cuadrante distinto al ensayo previo. De esta forma se utilizaron los cuatro cuadrantes del LAM de manera no consecutiva. Cada ensayo tiene una latencia máxima de 60 seg y un intervalo de 1 min entre ensayos. El minuto entre ensayos está dividido en 30 seg en la plataforma y 30 seg en una jaula bajo una lámpara de luz roja que emite calor y reduce la hipotermia.

Sólo en el primer ensayo, si la rata no encontraba la plataforma, era guiada y colocada manualmente por el experimentador en la plataforma de escape y permaneció allí por 30 seg. Al no encontrar la plataforma de escape en los ensayos 2-8, la rata fue tomada por el experimentador y colocada en la jaula con luz roja. Cuando encontró la plataforma por sí misma, la rata fue dejada en la plataforma por el mismo intervalo de tiempo (30 seg) y después colocada en la jaula de luz roja (30 seg). En situaciones en las cuales la rata subió a la plataforma y no

permaneció en ella por 30 seg, inmediatamente se inició el registro del siguiente ensayo aunque la plataforma no se haya cambiado de cuadrante. Al acontecer este evento, en el próximo ensayo la plataforma fue colocada en el cuadrante correspondiente a ese ensayo y no al previo. De esta manera se registró la latencia de llegada a la plataforma visible a través de la sesión de entrenamiento.

La prueba de memoria de la tarea de clave se llevó a cabo 24 hr después del entrenamiento en la plataforma visible y consistió de dos ensayos de 60 seg por ensayo y 60 seg entre ensayos en el cual la rata tenía que encontrar la plataforma de escape localizada en uno de los cuatro cuadrantes del LAM. De la misma manera en la que fue entrenada, la rata fue colocada mirando hacia la pared del tanque en los ensayos de prueba. En el primer ensayo de prueba, la plataforma visible se encontraba en el cuadrante Noreste y la rata fue soltada de un punto equidistante a la zona blanco y a la zona opuesta. En el segundo ensayo la plataforma visible se localizaba en el cuadrante Suroeste y la rata fue soltada del punto Oeste. El ensayo terminó cuando la rata encuentra la plataforma visible o en caso de no encontrarla, al minuto de ser colocada en el tanque.

6.6.2 Tarea de lugar: Aprendizaje y memoria espacial

El entrenamiento en la tarea de lugar sigue el mismo protocolo experimental que el entrenamiento en la tarea de clave con la diferencia de que la plataforma de escape no consta de una clave proximal y en las paredes del cuarto de experimentación se ubican claves visuales que permanecen en la misma posición durante la sesión de entrenamiento y de prueba. Durante el entrenamiento la plataforma de escape permanece en el cuadrante Noreste en todos los ensayos y los puntos de salida para el entrenamiento de la rata son los mismos que los utilizados en la tarea de clave.

En la prueba de memoria de la tarea de lugar, también conocida como prueba de transferencia llevada a cabo 24 hr después de la sesión de entrenamiento, se quitó la plataforma de escape del LAM y se dejó que la rata nadara libremente durante los dos ensayos de prueba. Cada ensayo fue de 60 seg y se dejó a la rata en la jaula con luz roja por 60 seg entre ensayos.

6.6.3 Prueba de competencia: Estrategias de navegación en competencia

La prueba de competencia se realizó 24 hr después de la última sesión de prueba. En esta prueba de competencia se llevaron a cabo 3 ensayos de 60 seg por ensayo y se dejó a la rata 60 seg entre ensayos en la jaula de luz roja. Se utilizaron las dos plataformas de escape usadas durante la sesión de entrenamiento de tal forma que la plataforma oculta se mantuvo en el cuadrante en donde previamente se le entrenó a la rata a encontrar escape (cuadrante Noreste) y la plataforma con clave proximal se colocó en uno de los 3 cuadrantes restantes del tanque. El punto de inicio fue una región equidistante a ambas plataformas de escape. La prueba consistió en que la rata eligiera una de dos estrategias de navegación para escapar del LAM, seleccionando ya sea una estrategia de procedimiento (montándose a la plataforma con clave proximal) o una estrategia espacial (montándose a la plataforma oculta basándose en la relación espacial entre las claves distales). En el primer ensayo de prueba, la plataforma con clave proximal se ubicaba en el cuadrante Suroeste, en el segundo ensayo en el cuadrante Noroeste y en el tercer ensayo en el cuadrante Sureste. Cada ensayo finalizaba cuando la rata se montaba a una de las dos plataformas de escape o al terminar los 60 seg del ensayo.

6.7 Histología

Las ratas se sacrificaron con una sobredosis de pentobarbital sódico y después fueron perfundidas con una solución de salina isotónica seguida de formaldehído al 10%. Una vez terminada la perfusión se extrajeron los cerebros y se colocaron en un frasco con formaldehído al 10%. Posteriormente se realizaron aproximadamente de 10 a 12 cortes coronales de 50 µm de grosor con un criostato (Leica CM1850) a una temperatura de -22°C y se montaron los cortes en laminillas previamente gelatinizadas, las cuales fueron teñidas con la técnica de violeta de cresilo (tinción de Nissl) la cual es comúnmente usada para identificar las áreas afectadas por una lesión electrolítica o neuroquímica o para verificar la ubicación de un electrodo o una cánula. La tinción de Nissl permite visualizar a través de un microscopio los núcleos de diversas estructuras cerebrales ya que se tiñe el retículo endoplásmico que contienen los cuerpos celulares de las neuronas y las células gliales. En los cortes obtenidos, el análisis histológico consistió en verificar la ubicación de las cánulas y realizar un mapeo de las puntas de las cánulas utilizando el atlas estereotáxico de Paxinos y Watson (1998). De esta forma se determinó si las cánulas se

encontraban en el DMSt y no se incluyeron en el análisis final los datos obtenidos de ratas cuyas cánulas no se encontraban en la región deseada.

6.8 Análisis estadístico

Para las sesiones de entrenamiento se llevaron a cabo análisis de varianza de medidas repetidas (ANOVA) de dos factores para comparar las latencias de escape a través de la adquisición de la tarea y un posible efecto de tratamiento durante la segunda sesión de entrenamiento así como una interacción entre los dos factores. Para evaluar la retención se realizaron ANOVAs de una vía para analizar el efecto del tratamiento y pruebas post-hoc de Dunnett para determinar los grupos que fueron significativamente diferentes del vehículo. El análisis de la prueba de competencia se realizó por medio de un análisis de contingencia de 2 vías utilizando la prueba de ji-cuadrada (χ^2) y pruebas post-hoc para determinar qué grupos fueron significativamente distintos del vehículo. Además se calculó la tasa de aprendizaje (el cambio en la adquisición de una tarea a través de la sesión de entrenamiento) en la primera sesión de entrenamiento en ambos protocolos agrupando los datos para cada tarea y realizando regresiones lineales para comparar las pendientes y analizar si el aprendizaje de procedimiento difiere del aprendizaje espacial en el LAM. Se efectuaron los mismos análisis para comparar la tasa de aprendizaje en el grupo vehículo entre la primera sesión y la segunda sesión de entrenamiento para cada protocolo.

7. Resultados

7.1 Verificación histológica

Los resultados obtenidos del análisis histológico al realizar un mapeo de las puntas de las cánulas se muestran en la Figura 20. Los diagramas de mapeo se dividieron en los dos protocolos utilizados y las siguientes figuras muestran cortes coronales tomados del atlas de Paxinos y Watson (1998) los cuales se organizaron en un gradiente antero-posterior a las coordenadas blanco. Las coordenadas blanco del estriado dorsomedial fueron: Antero-posterior, +0.7 mm; mediolateral, ± 2.6 mm y dorsoventral -4.4 mm. Por lo que en comparación con las

coordenadas blanco, la distribución de las puntas de las cánulas se ubicaron en un rango de [1.20-0.20 mm] antero-posterior, [2.6-1.2 mm] mediolateral y [3.6-5.2 mm] dorsoventral.

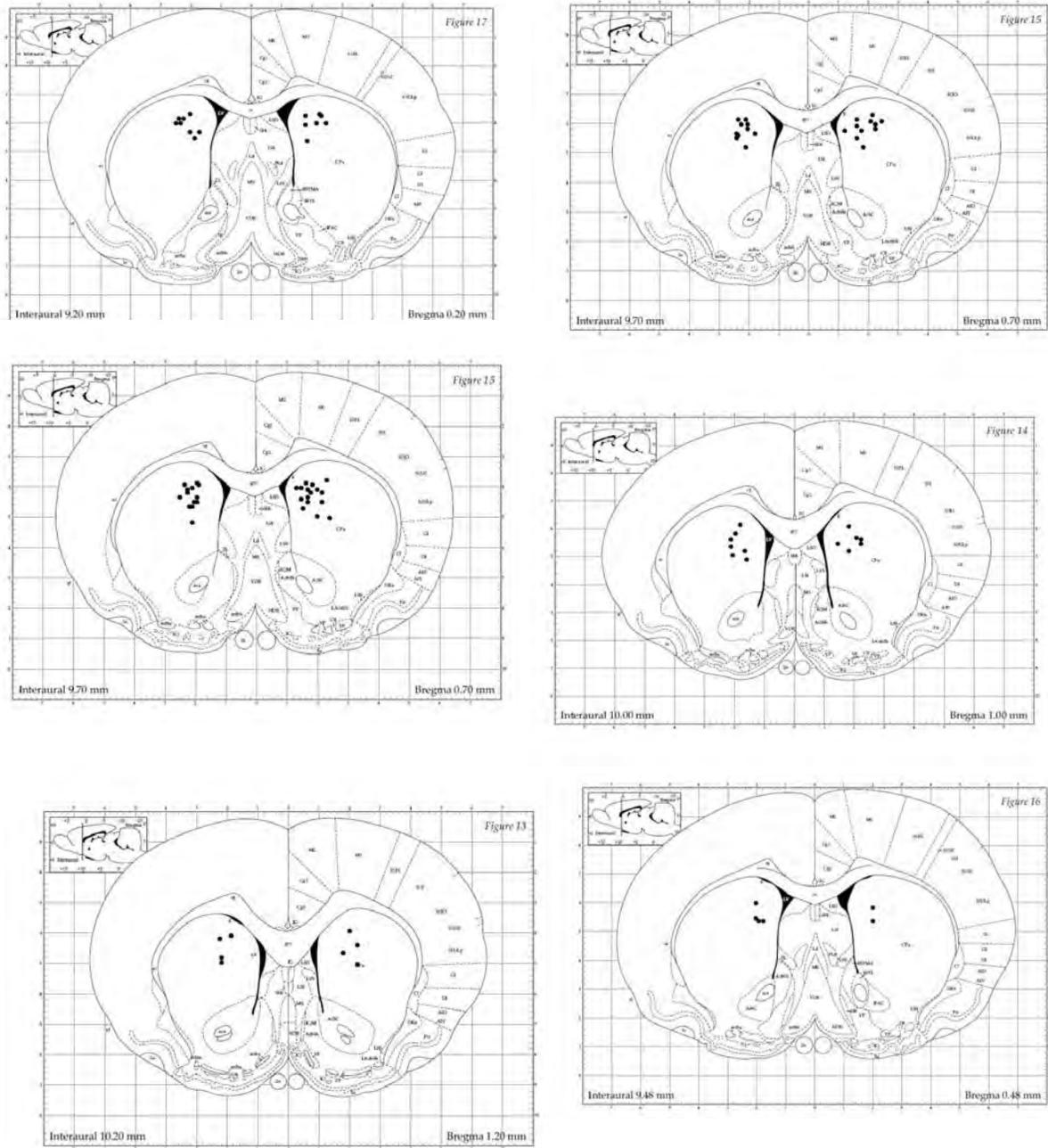


Figura 20. Representación esquemática de cortes coronales en los que se observa la zona en donde se ubicaron bilateralmente las puntas de las cánulas en la región dorsomedial del estriado. Las primeras tres imágenes corresponden al protocolo 1 (entrenamiento tarea de clave-tarea de lugar) con coordenadas de 1.20, 0.70 y 0.20 mm a partir de Bregma. Las tres imágenes restantes corresponden al protocolo 2

(entrenamiento tarea de lugar-tarea de clave) con coordenadas de 1.00, 0.70 y 0.48 mm a partir de Bregma. Modificado de Paxinos y Watson (1998).

7.2 Efectos de CORT en la memoria de procedimiento y espacial

7.2.1 Entrenamiento tarea de clave y de lugar

El desempeño en la tarea de clave se evaluó mediante la comparación de latencias de escape a la plataforma oculta con clave proximal a través de los 8 ensayos de entrenamiento en los 4 grupos a los que se les administró vehículo o CORT post-entrenamiento: vehículo (n=6), 5 ng CORT (n=6), 10 ng CORT (n=6), 20 ng CORT (n=6). Se llevó a cabo una prueba ANOVA de medidas repetidas de dos factores: grupo (tratamiento) vs. ensayos. Se encontraron diferencias significativas a través de la sesión de entrenamiento (efecto de ensayos), $F(7,161)=16.88$, $p < 0.0001$, pero no entre los grupos (efecto de tratamiento), $F(3,23)=0.46$, $p > 0.05$ y no se encontró interacción entre los factores, $F(21,161)=0.82$, (Figura 21A).

En el entrenamiento de la tarea de lugar al analizar las curvas de aprendizaje por medio de la ANOVA de medidas repetidas de dos factores, se encontró un efecto de ensayos, $F(7,161)=14.23$, $p < 0.0001$, pero no un efecto de tratamiento, $F(3,23)=0.60$, $p > 0.05$, y no se encontró interacción entre los factores, $F(21,161)=1.00$, (Figura 21B).

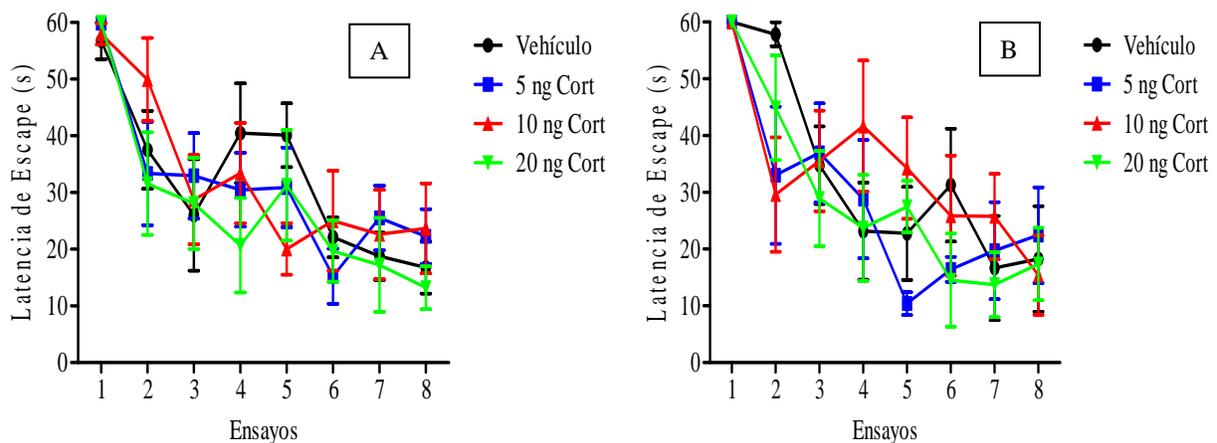


Figura 21. A. Curvas de adquisición de la tarea de clave, representadas por el promedio de la latencia de escape. Diferencias significativas en el desempeño de la tarea a través de la sesión de entrenamiento. ANOVA de dos vías de medidas repetidas (factor ensayos), $p < 0.0001$. B. Curvas de adquisición de la tarea de lugar, representadas por el promedio de la latencia de escape. Se encontraron diferencias significativas en el desempeño de la tarea a través de la sesión de entrenamiento utilizando un ANOVA de dos vías de medidas repetidas (factor ensayos), $p < 0.0001$.

7.2.2 Prueba tarea de clave y de lugar

Para evaluar la retención de la tarea de clave en el grupo vehículo se comparó la media del entrenamiento con la media del primer ensayo de prueba a través de una prueba t. Se encontró una diferencia significativa $t(2.03)$, $p < 0.05$ entre el entrenamiento y la prueba lo cual indica que el grupo vehículo recordó la tarea. Independientemente, el efecto de la CORT sobre la consolidación de la memoria de procedimiento se analizó por medio de una ANOVA de una vía evaluando como factor la media de la latencia de escape en el primer ensayo de prueba para todos los tratamientos. No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, $F(3,20)=0.73$, $p > 0.05$ por lo que no se realizaron pruebas post-hoc (Figura 22A).

En el análisis de la retención de la tarea de lugar a través de una ANOVA de una vía evaluando la latencia de llegada a la zona blanco se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, $F(3,20)=9.20$, $p < 0.001$, por lo que se realizaron pruebas post-hoc de Dunnett para establecer que tratamientos son distintos del vehículo y así evaluar el efecto de la droga sobre la consolidación de la memoria espacial. Las pruebas post-hoc de Dunnett mostraron que los 3 grupos independientes a los que se les administraron distintas dosis de CORT (5 ng, 10 ng y 20 ng CORT) son significativamente diferentes del vehículo (Figura 22B). Adicionalmente se realizó una ANOVA de una vía tomando como parámetro el tiempo de permanencia en el cuadrante blanco. Se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, $F(3,20)=4.56$, $p < 0.05$ y las pruebas post-hoc de Dunnett mostraron que el grupo de 5 ng CORT y 20 ng CORT son significativamente diferentes del vehículo (Figura 23A). Otro parámetro que se analizó entre los grupos para corroborar los efectos de facilitación en la consolidación de la memoria espacial fue la frecuencia de entradas a la zona blanco y a la zona opuesta a través de un análisis de contingencia de 2 vías utilizando la prueba de χ^2 . Se encontró que el tratamiento y la búsqueda de la zona blanco/zona opuesta están significativamente relacionadas, $\chi^2(3,8)=16.62$, $p < 0.001$. Las prueba post-hoc mostraron diferencias significativas entre el grupo vehículo vs. 5 ng CORT, $\chi^2=6.91$, $p < 0.01$, y vehículo vs. 20 ng CORT $\chi^2=15.88$, $p < 0.0001$ (Figura 23B).

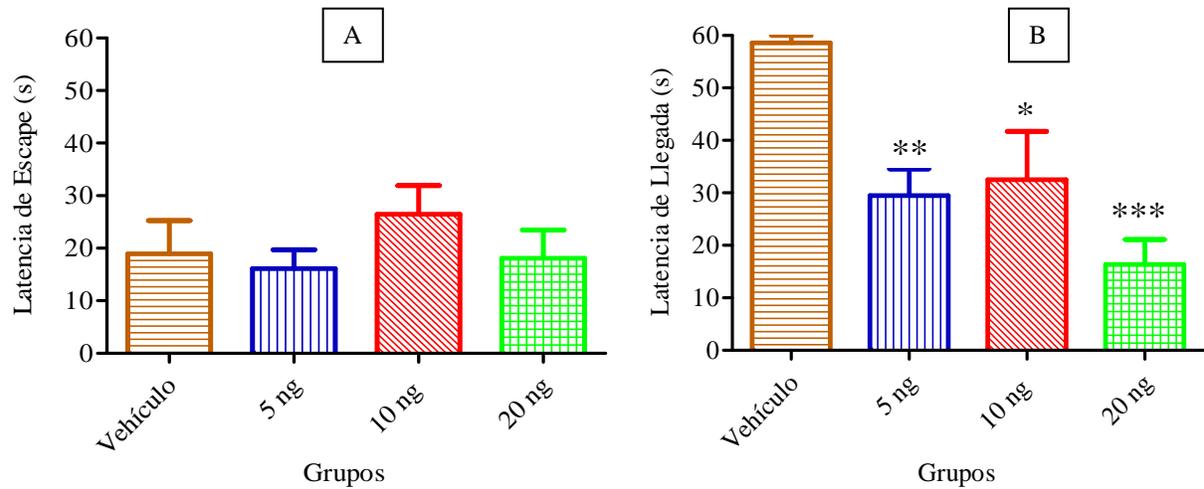


Figura 22. A. Retención de la tarea de clave. Se representa el promedio de la latencia de escape de cada grupo. Se comparó el ensayo 1 de prueba a través de una ANOVA de una vía. No se encontraron diferencias significativas en la sesión de prueba en la tarea de clave. B. Retención de la tarea de lugar llevada a cabo comparando la latencia media de llegada a la zona blanco en el primer ensayo de prueba a través de una ANOVA de una vía. Se encontraron diferencias significativas entre los grupos, $p < 0.001$ y un efecto facilitador de CORT en la consolidación de la tarea de lugar en el grupo de 5 ng, 10 ng y 20 ng CORT. Pruebas post-hoc de Dunnett comparando el vehículo vs. tratamientos CORT, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

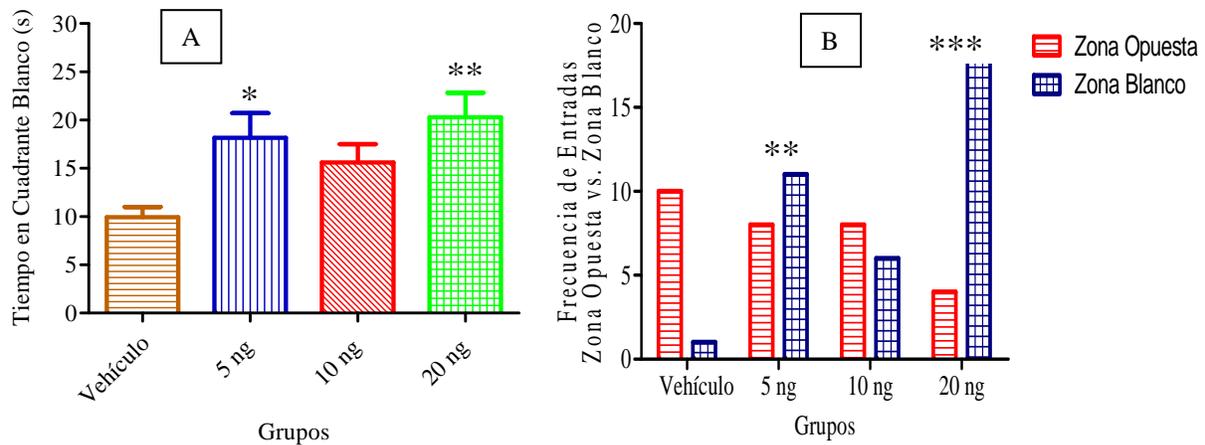


Figura 23. A. Retención de la tarea de lugar llevada a cabo comparando la latencia media de permanencia en el cuadrante blanco en el primer ensayo de prueba a través de una ANOVA de una vía. Se encontraron diferencias significativas entre los grupos, $p < 0.05$ y un efecto facilitador de CORT en la consolidación de la memoria espacial en el grupo de 5 ng y 20 ng CORT, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$. B. Estrategia de navegación espacial basada en la búsqueda por la zona blanco en comparación con la zona opuesta para los 4 grupos. Se encontró que el tratamiento y la búsqueda por la zona blanco y la zona opuesta están significativamente relacionados, prueba χ^2 , $p < 0.001$. Las pruebas post-hoc revelaron que el grupo vehículo es significativamente distinto del grupo de 5 ng CORT, y 20 ng CORT, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

7.2.3 Segundo entrenamiento tarea de lugar y de clave

De igual manera que el entrenamiento por clave, el análisis de aprendizaje en la tarea de lugar se realizó mediante la comparación de latencias de escape a la plataforma oculta a través de los 8 ensayos de entrenamiento en los 4 grupos que fueron previamente entrenados y probados en la tarea de clave. En la ANOVA de medidas repetidas de dos factores se encontró un efecto por los ensayos, $F(7,161)=8.84$, $p < 0.0001$, pero no un efecto por el tratamiento, $F(3,23)=1.25$, $p > 0.05$ y no se encontró interacción entre los factores, $F(21,161)=0.83$, (Figura 24A).

El desempeño en la tarea de clave se analizó estadísticamente igual que la adquisición de la tarea de lugar mediante una ANOVA de medidas repetidas de dos factores. Se encontró un efecto de ensayos, $F(7,161)=3.01$, $p < 0.01$, pero no un efecto de tratamiento, $F(3,23)=0.60$, $p > 0.05$ y no se encontró interacción entre los factores, $F(21,161)=0.99$, (Figura 24B).

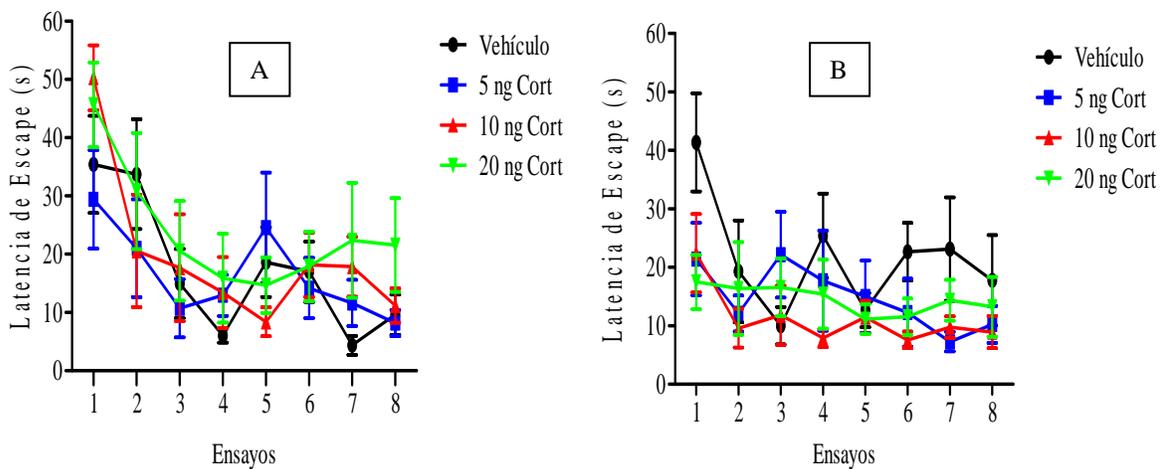


Figura 24. A. Curvas de adquisición de la tarea de lugar, representadas por el promedio de la latencia de escape. Diferencias significativas en el desempeño de la tarea a través de la sesión de entrenamiento. ANOVA de dos vías de medidas repetidas (factor ensayos), $p < 0.0001$. B. Curvas de aprendizaje en la tarea de clave medida a través de la latencia promedio de escape. Diferencias significativas en el desempeño de la tarea a través de la sesión de entrenamiento. ANOVA de dos vías de medidas repetidas (factor ensayos), $p < 0.01$.

7.2.4 Segunda prueba tarea de lugar y de clave

La retención de la tarea de lugar se realizó a través de una ANOVA de una vía evaluando la media de la latencia de llegada a la zona blanco en el primer ensayo de prueba. No se encontraron diferencias significativas al comparar los tratamientos, $F(3,20)=0.72$, $p > 0.05$ (Figura 25A). Además se llevó a cabo el mismo análisis de manera independiente evaluando como factor el tiempo de permanencia en el cuadrante blanco, es decir el tiempo que pasó la rata en el cuadrante en donde se ubicaba la plataforma de escape durante la sesión de entrenamiento. No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos al realizar la ANOVA de una vía, $F(3,20)=0.54$, $p > 0.05$ (Figura 25B).

El análisis de retención de la tarea de clave se realizó a través de una ANOVA de una vía evaluando como factor la media de la latencia de escape en el primer ensayo de prueba. No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, $F(3,20)=0.60$, $p > 0.05$ (Figura 26).

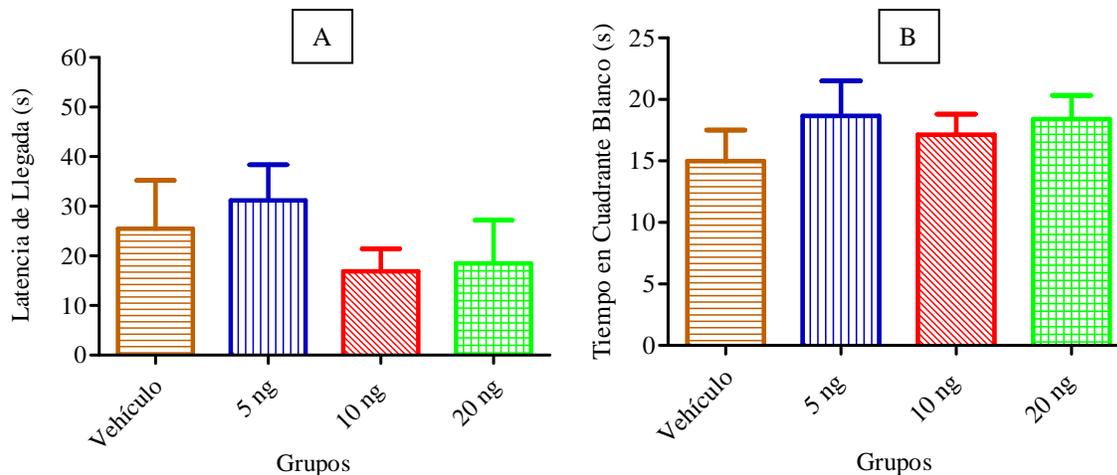


Figura 25. A. Retención de la tarea de lugar. Las barras representan el promedio de la latencia de llegada a la zona blanco en el primer ensayo de prueba. Los grupos se compararon utilizando un ANOVA de una vía. No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos. B. Retención de la tarea de lugar. Las barras representan el promedio del tiempo de permanencia en el cuadrante blanco en el primer ensayo de la prueba. Los grupos se compararon utilizando un ANOVA de una vía. No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos

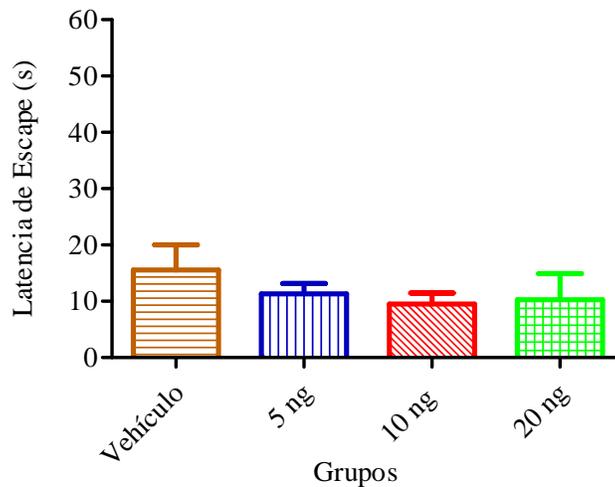


Figura 26. Retención de la tarea de clave comparando la latencia media de escape en el primer ensayo de prueba a través de una ANOVA de una vía. No se encontraron diferencias significativas entre los grupos.

7.2.5 Prueba de competencia

La prueba de competencia se analizó por medio de un análisis de contingencia de 2 vías utilizando la prueba de χ^2 comparando la frecuencia de escapes a la plataforma oculta en relación con las claves distales (navegación espacial) y escapes a la plataforma oculta con clave proximal (navegación de procedimiento) de manera conjunta a través de los 3 ensayos de prueba en todos los tratamientos (Figura 27A). Al encontrar un efecto significativo en la selección de estrategias de navegación espacial y de procedimiento se realizaron pruebas post-hoc de comparaciones en pares para determinar qué tratamiento fue distinto del vehículo. Se encontró que el tratamiento y la selección de estrategias de navegación están significativamente relacionadas, $\chi^2(3,72)=10.70$, $p < 0.05$ y las prueba post-hoc mostraron diferencias significativas en la frecuencia de selección de estrategias de navegación entre el grupo vehículo vs. 5 ng CORT, $\chi^2=8.86$, $p < 0.01$. No se encontraron diferencias significativas al comparar el grupo vehículo vs. 10 ng CORT, $\chi^2=2.09$, $p > 0.05$, y el grupo vehículo vs. 20 ng CORT, $\chi^2=1.13$, $p > 0.05$.

En el análisis de χ^2 a través de una prueba de contingencia de 2 vías se comparó la frecuencia de escape (número de veces que la rata se montó a una plataforma de escape) a la plataforma oculta en relación con las claves distales (navegación espacial) y escapes a la plataforma oculta con clave proximal (navegación de procedimiento) de manera conjunta a través de los 3 ensayos de prueba en todos los tratamientos (Figura 27B). Se encontró que el

tratamiento y la selección de estrategias de navegación no están significativamente relacionadas, $\chi^2(3,72)=4.97$, $p > 0.05$ por lo cual no se realizaron pruebas post-hoc.

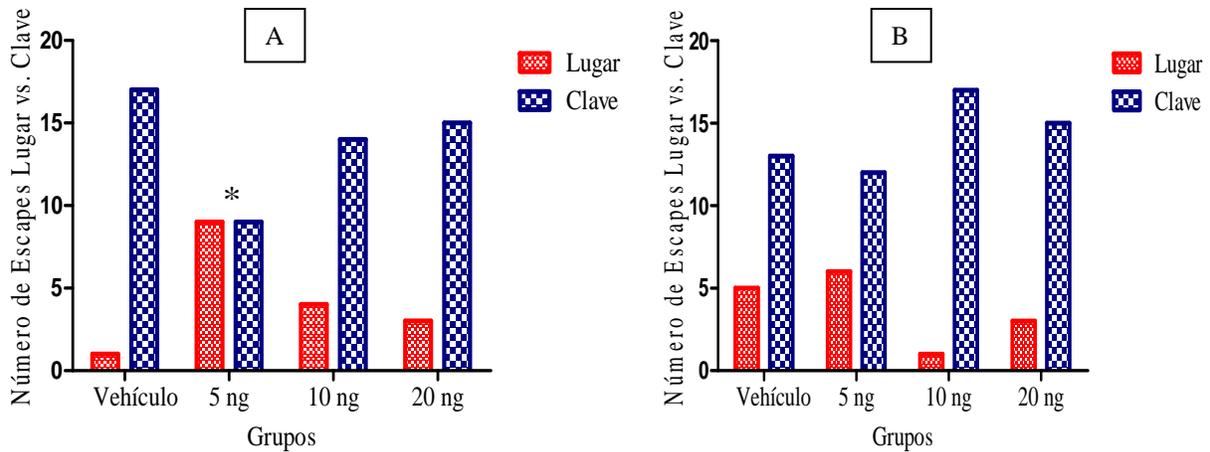


Figura 27. A. Selección de estrategias de navegación en competencia comparando la frecuencia de selección a la plataforma de escape basado en una respuesta de lugar o de clave. Se encontró que el tratamiento y la selección de estrategias de navegación están significativamente relacionados, prueba χ^2 , $p < 0.05$. Las pruebas post-hoc revelaron que el grupo vehículo es significativamente distinto que el grupo de 5 ng CORT en la selección de la estrategia espacial, $*p < 0.01$. B. Selección de estrategias de navegación en competencia comparando la frecuencia de selección a la plataforma de escape basado en una respuesta de lugar o de clave. El tratamiento y la selección de estrategias de navegación no están significativamente relacionados, prueba χ^2 .

7.3 Comparaciones entre las sesiones de entrenamiento y de prueba

Dado que las ratas fueron entrenadas y probadas en ambas tareas en el LAM, se evaluó si la adquisición de la tarea de clave difiere de la adquisición de la tarea de lugar. Para ello se calculó la tasa de aprendizaje, es decir, el cambio en el aprendizaje a través de la sesión de entrenamiento en ambas tareas. Se colapsaron los datos de todos los grupos durante la primera sesión de entrenamiento en ambos protocolos ya que ningún grupo había recibido aún el tratamiento y se realizó una regresión lineal para cada tarea. Así se obtuvo el valor de la pendiente, que representa la tasa de cambio promedio de la latencia de escape a través de cada ensayo de entrenamiento. También se obtuvo el coeficiente de determinación (r^2), el cual es la proporción de variabilidad que se ajusta a la regresión lineal. Al comparar ambas pendientes, se encontró que la pendiente en la tarea de clave (-4.63 ± 0.54) no es significativamente distinta a la pendiente en la tarea de lugar (-5.30 ± 0.61), $F(1,380)=0.66$, $p > 0.05$ por lo que se concluyó que

la tasa de aprendizaje de la tarea de lugar no es distinta a la de la tarea de clave en el protocolo del LAM utilizado en los presentes estudios (Figura 28). Además, se obtuvo un alto coeficiente de determinación para la tarea de clave ($r^2=0.77$) y para la tarea de lugar ($r^2=0.84$).

Posteriormente, para determinar si el entrenamiento en una tarea mejora la adquisición de la otra tarea en la segunda sesión, se realizó una regresión lineal y se comparó la pendiente obtenida del grupo vehículo para ambos protocolos de entrenamiento. Se encontró que el entrenamiento en la tarea de clave no mejora la adquisición de la tarea de lugar, $F(1,92)=0.44$, $p > 0.05$, y se obtuvo un valor medio de r^2 para la tarea de clave ($r^2=0.31$) y para la tarea de lugar ($r^2=0.25$) (Figura 29A). En contraste, el entrenamiento en la tarea de lugar, ($r^2=0.36$), mejora la adquisición de la tarea de clave, ($r^2=0.36$), $F(1,92)=7.86$, $p < 0.01$ (Figura 29B). Otra pregunta de gran importancia debido al diseño experimental fue analizar si el orden de entrenamiento (protocolo) afecta la selección de estrategias de navegación en la prueba de competencia. Para este análisis se compararon los resultados obtenidos en la prueba de competencia en ambos protocolos de entrenamiento (Figura 27A y 27B) a través de una χ^2 por medio de una prueba de contingencia de 2 vías. Se encontró que el tratamiento y la selección de estrategias de navegación están significativamente relacionadas, $\chi^2 (7,144)=16.69$, $p < 0.05$, lo cual se había reportado previamente en los resultados de la prueba de competencia en el protocolo 1. Al realizar las pruebas post-hoc para comparar los mismos tratamientos en ambos protocolos (por ejemplo grupo vehículo en protocolo 1 vs. vehículo en protocolo 2), no se encontraron diferencias significativas por lo que se concluyó que el orden de entrenamiento no afecta la selección de estrategias de navegación.

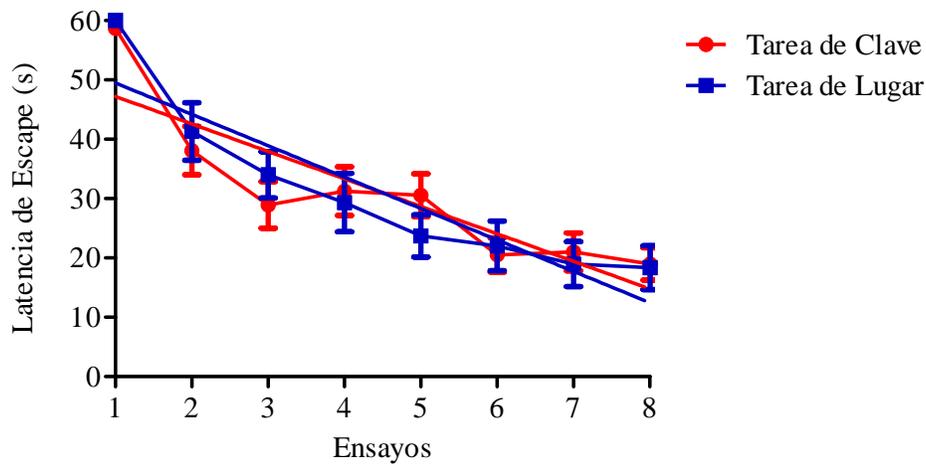


Figura 28. Tasa de aprendizaje en la primera sesión de entrenamiento en ambas tareas. Las pendientes en la tarea de clave (-4.63 ± 0.54) vs. la tarea de lugar (-5.30 ± 0.61) no son significativamente distintas, $F(1,380)=0.66$, $p > 0.05$.

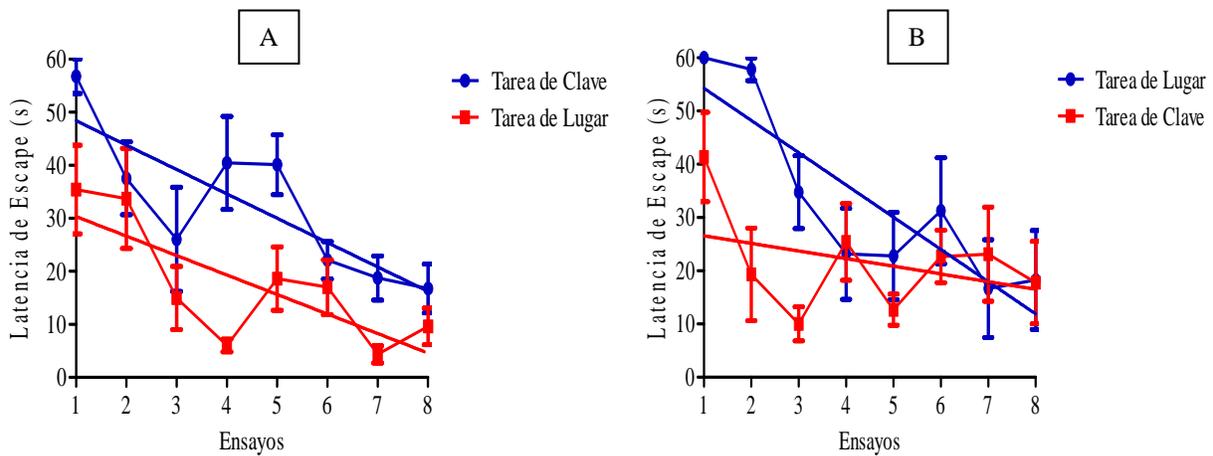


Figura 29. A. Protocolo 1. El entrenamiento en la tarea de clave no facilita la adquisición de la tarea de lugar. La pendiente en la tarea de clave (-4.60 ± 1.02) no es significativamente distinta a la pendiente en la tarea de lugar (-3.68 ± 0.95), $F(1,92)=0.44$, $p > 0.05$. B. Protocolo 2. El entrenamiento en la tarea de lugar facilita la adquisición de la tarea de clave. La pendiente en la tarea de lugar (-6.06 ± 1.20) es significativamente distinta a la pendiente en la tarea de clave (-1.44 ± 1.13), $F(1,92)=7.86$, $p < 0.01$.

Al comparar los resultados obtenidos en la primera sesión de entrenamiento en ambos protocolos se puede observar que todos los grupos aprendieron la tarea en la que fueron entrenados, no difieren en su aprendizaje de la tarea debido a que no han recibido tratamiento, poseen un alto índice de adquisición y la tasa de aprendizaje de la tarea de clave no es distinta a la tasa de aprendizaje de la tarea de lugar (Figuras 21, 27 y 34).

Otra cuestión que se evaluó fue si se presentaba un re-aprendizaje en la tarea de clave o extinción en la tarea de lugar, por lo cual se llevó a cabo un análisis de t-pareadas en la primera sesión de prueba entre el primero y el segundo ensayo. Al no encontrar diferencias significativas, se tomó solo el primer ensayo de prueba y este fue analizado en las pruebas de retención para no introducir la variabilidad del segundo ensayo.

8. Discusión

8.1 Aprendizaje, memoria y selección de estrategias de navegación

En el presente estudio se investigó la contribución del EDM sobre la consolidación de la memoria de procedimiento, espacial y la selección de estrategias de navegación. Las hipótesis experimentales planteaban que la administración de CORT en el EDM post-entrenamiento facilitarían la consolidación de la memoria de procedimiento, la consolidación de la memoria espacial y la selección de estrategias de navegación espacial en la prueba de competencia. A continuación se discutirán los resultados en relación con las hipótesis planteadas contrastando los resultados obtenidos en ambos protocolos durante la misma sesión de entrenamiento y de prueba. De esta forma será más didáctico y facilitará la comprensión de la discusión.

El método utilizado en el LAM para el entrenamiento de ambas tareas fue validado al comparar los grupos durante la adquisición de cada tarea en la primera sesión de entrenamiento para cada protocolo es de suma importancia ya que validan el método utilizado en el LAM. Además dado que la tasa de aprendizaje en ambas tareas no es significativamente distinta, se puede inferir que el grado de dificultad para adquirir ambas tareas es similar (Figura 28). En contraste, durante la prueba de retención, la evocación de la tarea de clave es más fácil que la de la tarea de lugar debido a que la plataforma de escape posee una clave proximal que es fácilmente localizada y esto permite una rápida ejecución motora, mientras que la evocación de la memoria espacial requiere la activación de una representación interna dependiente de la relación entre la ubicación de la zona blanco y la relación que esta guarda con la posición de las claves visuales distales.

La mejoría en el desempeño durante la primera sesión de prueba en el ensayo 1 de la tarea de clave en todos los grupos en comparación con la latencia de escape durante el aprendizaje es evidencia de retención de dicha tarea a pesar de que no se encontraron diferencias significativas en todos los tratamientos al comparar el desempeño entre la sesión de entrenamiento y los dos ensayos de prueba. En relación al efecto de CORT sobre la consolidación de la memoria de procedimiento, no se encontraron diferencias significativas entre el vehículo y los tratamientos por lo cual se rechazó la hipótesis planteada sobre la facilitación de la memoria de procedimiento inducida por la administración de CORT en el EDM (Figura 22). Estos resultados no descartan la posible participación de esta región en los procesos de adquisición y consolidación de la memoria de procedimiento. Para ello se requieren otras manipulaciones farmacológicas y conductuales en diversas tareas de procedimiento, realizadas a través de estudios de doble disociación como por ejemplo el estudio de Devan et al. (1999) en el cual se produce un deterioro en la adquisición de la tarea de clave en el LAM al realizar una lesión electrolítica en el EDM.

En la prueba de transferencia en la tarea de lugar durante la primera sesión se encontró que el grupo vehículo tiene una baja retención de la tarea ya que su latencia promedio de llegada a la zona blanco es aproximadamente la latencia máxima del ensayo de prueba (60 segundos). Al comparar los tratamientos con el vehículo, se encontró un efecto facilitador de CORT en la consolidación de la memoria espacial en los grupos a los que se les administró 5, 10 ó 20 ng CORT (Figura 22B). Estos datos apoyan la hipótesis de que la administración de CORT en el EDM facilitan la consolidación de la memoria espacial. Para corroborar los resultados de facilitación obtenidos, se analizaron otros parámetros como la latencia de permanencia en el cuadrante blanco y la frecuencia de entradas a la zona blanco vs. zona opuesta. Se encontró un efecto facilitador en los grupos a los que se les administró la dosis de 5 ng y de 20 ng CORT (Figura 23A y 23B). En el grupo de 10 ng CORT se obtuvo un incremento en la latencia de permanencia en el cuadrante blanco y un incremento en la frecuencia de entradas a la zona blanco en comparación con el vehículo pero no llegó a un nivel significativo. Basado en estos resultados se puede inferir que no se obtuvo el efecto facilitador en el grupo de 10 ng CORT al analizar estos parámetro en parte porque el tamaño del grupo es pequeño (n=6) y además como

se discutirá en la sección de metodología, algunos parámetros son más sensibles para detectar los cambios conductuales que se presentan en la tarea de lugar del LAM.

Al comparar el grupo vehículo con los resultados obtenidos en la tarea de lugar en el LAM por Quirarte et al. (2009) se puede observar que la latencia de escape es mucho más baja que la latencia de llegada a la zona blanco en el presente estudio. Dado que ambos parámetros miden lo mismo independientemente de que la plataforma de escape este presente o no, ¿por que las diferencias entre los grupos vehículo? La respuesta es que el tamaño de la plataforma de escape utilizada durante el entrenamiento en ambos estudios fue distinta. En el presente estudio se utilizó una plataforma de 12 x 12 cm y en el estudio de Quirarte et al. (2009) una plataforma de 20 x 20 cm. Este cambio en el tamaño de la plataforma de escape incrementó tres veces el área de la plataforma de escape en relación con el área total del LAM. Por lo tanto la búsqueda de la plataforma de escape durante la prueba de retención en el estudio de Quirarte et al. (2009) fue mucho más fácil y la latencia de escape fue aproximadamente 3 veces menor que la latencia de llegada a la zona blanco en el presente estudio. Debido a estas diferencias, es de suma importancia considerar la metodología utilizada en el LAM para la interpretación de los datos y corroborar los resultados obtenidos en la prueba de retención analizando otros parámetros.

Tomando en cuenta estas diferencias metodológicas, los resultados conductuales obtenidos en el presente estudio proveen evidencia de que el EDM participa en la memoria espacial y que los GCC modulan la consolidación de la información adquirida. Como se discutió previamente, la región dorsomedial del estriado posee conexiones neuroanatómicas con la formación hipocámpica lo cual puede influir en procesos de memoria dependientes de asociaciones de E-E como es el caso de la memoria espacial. Los datos obtenidos no permiten estrictamente una interpretación sobre los mecanismos que subyacen esta modificación en la conducta por la administración de CORT, pero como se discutió previamente, existe evidencia que apoya la participación de los GCC en el almacenamiento de información a través de mecanismos genómicos que inducen cambios estructurales de plasticidad sináptica (Joëls y Baram, 2009; Sandi, 2004; Roozendaal, 2000).

Al realizarse la segunda sesión de entrenamiento y prueba, no se buscaba encontrar el efecto facilitador de CORT sobre la consolidación ya que si se encontrara una diferencia entre el vehículo y los tratamientos no se puede determinar si se debe al efecto de CORT o al

entrenamiento y administración previa de CORT en la primera sesión. Los dos protocolos se llevaron a cabo para determinar si el orden de entrenamiento afectaba la selección de una estrategia de navegación en la tarea de competencia así como para evaluar el aprendizaje y la retención de ambas tareas. Además se administró CORT en ambas sesiones de entrenamiento para mantener constante las condiciones farmacológicas durante la evocación en ambos protocolos. Se encontró que el orden de entrenamiento no afecta la selección de estrategias de navegación y que la tarea en la que se entrena durante la primera sesión afecta la adquisición de la segunda sesión. En particular el entrenamiento en la tarea de lugar previo al entrenamiento en la tarea de clave mejora el aprendizaje de procedimiento pero el entrenamiento en la tarea de clave previo al entrenamiento en la tarea de lugar no mejora el aprendizaje espacial (Figura 29).

Al ser entrenadas previamente en el LAM, las ratas disminuyen su tigmotaxia debido a que han aprendido que existe un lugar para escapar del agua dentro del tanque y esta asociación las lleva a que exploren regiones centrales del mismo, disminuyendo la latencia de escape desde el primer ensayo de entrenamiento. Esto se puede observar claramente en los primeros dos ensayos del grupo vehículo en ambos protocolos (Figura 24A y 24B). La disminución en la latencia de escape se debe primordialmente a la reducción en la tigmotaxia y al entrenamiento previo en la tarea de lugar en el caso del protocolo 2 y no a un efecto residual de la administración de CORT ya que no se encontraron diferencias entre los tratamientos durante la segunda sesión de entrenamiento. Tanto en la tarea de lugar como en la tarea de clave se encontró que solo el vehículo mejora su desempeño entre el primero y el último ensayo. Los grupos que fueron previamente entrenados en la tarea de lugar no mejoran su adquisición en la tarea de clave ya que mantienen un buen nivel de ejecución (latencias de escape entre 10-20 segundos) a través de la sesión de entrenamiento (Figura 29B). Esto se debe probablemente a que el previo entrenamiento en la tarea de lugar, el cual requiere de una búsqueda selectiva por la plataforma de escape mejora la adquisición de la tarea de clave, cuya ejecución requiere de una búsqueda menos selectiva ya que solo depende de la asociación entre la clave proximal con la respuesta de escape. Consecuentemente se puede llegar a un nivel asíntota de desempeño tanto en la adquisición como en la evocación de la tarea de clave en un número menor de ensayos que ocurriría en la tarea de lugar. Esto explica las bajas latencias de escape obtenidas en todos los grupos en la prueba de la tarea de clave

Finalmente para cada orden de entrenamiento se realizó una prueba de competencia para investigar la selección de estrategias de navegación que se presentan de manera competitiva. Recordemos que en la prueba de competencia la rata puede elegir la plataforma de escape basándose en las claves distales (estrategia espacial) o en la clave proximal (estrategia de procedimiento) de tal forma que habiendo dos posibles respuestas de escape la rata solo puede elegir una de ellas. En el protocolo 1 (entrenamiento clave-lugar) se encontró un incremento en la selección de estrategias de navegación espacial y una disminución en la estrategia de procedimiento en el grupo de 5 ng CORT en comparación con el vehículo. Este efecto no se debe a que los sujetos fueron entrenados y probados en la tarea de lugar durante la segunda sesión ya que el vehículo no muestra la misma selección de estrategias de navegación. Además en un análisis en el que se compararon los resultados de la prueba de competencia en los grupos vehículo de ambos protocolos se descartó que el orden de entrenamiento afecte la selección de estrategias de navegación en el grupo control.

La facilitación en la estrategia de navegación espacial no se encontró en el grupo de 5 ng CORT entrenado en el protocolo 2 (entrenamiento lugar-clave), lo cual resulta problemático para una interpretación estricta en relación a la hipótesis planteada que la administración de CORT en el EDM facilita la selección de estrategias de navegación espacial. Si la dosis de 5 ng CORT incrementa la preferencia por la estrategia espacial, se esperaría que fuese independiente del orden de entrenamiento. Los resultados obtenidos a través de los análisis realizados no pueden contestar como la droga y el orden de entrenamiento interactúan para afectar la selección de estrategias de navegación, para ello se requiere de un análisis estadístico multifactorial como MANOVA, ANCOVA u otro que tome en consideración estos factores.

8.2 Histología y neuroanatomía

Al realizar el mapeo de las puntas de las cánulas se observó que se ubicaban en diversas regiones anteroposteriores del EDM. Como previamente se discutió a detalle, en relación a las conexiones neuroanatómicas de la región dorsomedial del estriado se puede inferir que el efecto de modulación sobre la consolidación de la memoria espacial bajo la administración de CORT en esta región es el resultado de la conectividad con regiones hipocámpicas en particular con la región dorsal cuya información converge con el procesamiento cortico-estriado-cortical de

regiones motoras y premotoras para la planeación y ejecución de conductas motoras fundamentales para la navegación espacial.

8.3 Metodología

El protocolo experimental que se utilizó en el presente estudio para el entrenamiento de lugar y de clave en el LAM consta de plataformas cuyas áreas son idénticas y se ubican a la misma profundidad por debajo del nivel del agua (1.5 cm) de tal forma que la ejecución motora para realizar la respuesta de escape del agua es la misma lo cual es fundamental durante la tarea de competencia en la cual la rata debe de elegir una plataforma de escape basándose en claves distales o proximales. Las claves visuales distales ubicadas en las paredes del cuarto de experimentación fueron diseñadas tomando en cuenta una descripción de procesos de visión en ratas de distintas cepas entrenadas en tareas que permiten discriminar la agudeza visual de las ratas (Whishaw y Kolb, 2005). Varios experimentos han encontrado que a pesar de su reducida pigmentación en los ojos, las cepas de ratas albinas como la Wistar o Sprague-Dawley poseen buena visión ya que aprenden tareas de asociación cuya ejecución depende de la discriminación de formas y se sabe que el desempeño que tienen es similar al de cepas de ratas pigmentadas como Long-Evans o Listar (Whishaw y Kolb, 2005).

Un factor importante y poco investigado en la adquisición y retención de la tarea de lugar es el efecto del tamaño del tanque y la plataforma de escape (Mactutus y Booze, 1994). Esto es particularmente importante durante la prueba de retención ya que si la rata aprendió la tarea de lugar, tendrá que navegar hacia la zona en donde previamente se encontraba la plataforma de escape y su búsqueda en ese cuadrante y zona blanco será mayor en comparación con las otras tres zonas del tanque. Por otra parte, si la plataforma es muy pequeña, será mucho más difícil para la rata aprender la tarea de lugar y repercutirá durante la evaluación de la retención. De esta manera, la dificultad en la adquisición y evocación de la tarea de lugar está en función de la proporción entre el área de la plataforma de escape/área del tanque. En un estudio realizado por Williams et al. (2004) compararon el desempeño en el aprendizaje en el LAM en ratas entrenadas a una proporción de plataforma/tanque de 346:1 (100 cm² de plataforma) vs. 1,385:1 (25 cm² de plataforma). Encontraron que los animales entrenados en la plataforma de 100 cm² llegaron a un desempeño asíntota en aproximadamente 20 ensayos de entrenamiento mientras

que aquellas ratas entrenadas en la plataforma de 25 cm² les tomó más tiempo para aprender la tarea y nunca lograron los niveles de desempeño del grupo entrenado en la plataforma de 100 cm². En el presente experimento se utilizó un LAM cuya proporción de área plataforma/tanque es de 130:1 la cual es aproximadamente 3 veces menor que el utilizado por Williams et al. (2004) con una proporción de 346:1. Esto sugiere que la tarea de lugar en el LAM utilizado en el presente estudio no posee un alto grado de dificultad para su aprendizaje ya que la proporción del área de escape/área total del laberinto es menor que la utilizada por Williams et al. (2004). Pero se debe de considerar que en el presente estudio solo se realizaron 8 ensayos por sesión de entrenamiento en comparación con los 20 ensayos del estudio de Williams et al. (2004) por lo cual no se llegó a un nivel asíntota de desempeño en la adquisición de la tarea de lugar. Dado que la plataforma de escape que se utilizó en el presente trabajo de investigación representa el 0.77% del área total del tanque, su búsqueda representa menos del 1% de la superficie total del LAM lo cual explica en gran parte las altas latencias de llegada a la zona blanco obtenidas en el grupo vehículo en la prueba de transferencia en la tarea de lugar.

Además es sumamente importante corroborar los resultados obtenidos en la facilitación de la memoria espacial producida por la administración de CORT analizando varios parámetros. En la prueba de memoria espacial del presente estudio se analizaron los datos en términos de latencias y de frecuencias de entrada a la zona blanco pero se debe considerar el análisis en función de la ejecución de las ratas en las tareas del LAM. Para ello es importante tomar en consideración un meta-análisis de pruebas de retención en el LAM realizado por Maei et al. (2009) en el cual encontraron que los parámetros estudiados comúnmente para analizar la memoria espacial probablemente no son los más adecuados ya que no toman en cuenta las estrategias utilizadas por las ratas para navegar en un ambiente. Esto va en acorde con los estudios de Whishaw et al. (1987) en los cuales se encontró que durante la prueba de la tarea de lugar las ratas navegan hacia los puntos de referencia o de inicio a partir de los cuales se les entrenó y de esta manera vuelven a recorrer las rutas asociadas a los lugares de escape. Esta estrategia de navegación no se toma en cuenta en un análisis de tiempo de permanencia en un cuadrante del LAM ya que al navegar a un cuadrante desde el cual se retoma una ruta se disminuye el tiempo de navegación en el cuadrante blanco y el número de veces que la rata cruza por la zona blanco. Por ello sería importante para el presente estudio analizar las trayectorias

durante la adquisición y la retención de ambas tareas para de esta forma incorporar las estrategias de navegación a los resultados de facilitación obtenidos.

Otros factores importantes para evaluar la adquisición y la retención de la tarea de lugar en el LAM son el número de ensayos por entrenamiento, el tiempo entre la sesión de entrenamiento y la sesión de prueba, y el protocolo utilizado en el entrenamiento; es decir si los ensayos se realizan de manera consecutiva en una sola sesión (entrenamiento masivo), si se deja cierto tiempo entre un número fijo de ensayos durante un mismo día (entrenamiento por bloques) o si se realiza el entrenamiento a través de varios días (entrenamiento espaciado) (Bolding y Rudy, 2006). Dado que el objetivo del presente estudio fue evaluar la facilitación en la consolidación de una tarea de procedimiento y una tarea espacial así como la estrategia de navegación en una tarea de competencia es de suma importancia el no sobre-entrenar a las ratas durante la adquisición de dichas tareas ya que su desempeño sería tan bueno que difícilmente pudiese ser mejorado como resultado de la administración de corticosterona y se enmascararía el efecto de CORT en la consolidación de la tarea. Esto se puede ver claramente en el grupo vehículo durante la prueba de transferencia en la tarea de lugar, ya que 8 ensayos realizados de manera continua no fueron suficientes para que las ratas tuviesen una buena memoria espacial (Figura 22B).

Un factor de suma importancia es el desempeño individual de las ratas en el LAM a través de la sesión de entrenamiento. Al ser expuestas por primera vez al LAM, las ratas muestran durante los primeros ensayos de entrenamiento una conducta denominada tigmotaxia la cual consiste en una tendencia a agarrarse a la pared del tanque y nadar en la periferia del mismo. Una excesiva tigmotaxia en el entrenamiento indica que el animal no ha aprendido que existe escape dentro del tanque y por consecuencia no ha aprendido las asociaciones que la llevan a una ejecución correcta de la tarea. La alta tigmotaxia, el brincar de la plataforma de escape una vez que la rata se monta en ella, o el chocar con la plataforma y no montarse pueden estar relacionados con deterioros sensorimotrices o a un alto nivel de estrés. En el presente estudio aquellas ratas que no llegaron a la plataforma de escape en por lo menos 3 ensayos de entrenamiento fueron eliminadas del análisis de datos independientemente de la correcta ubicación de las cánulas.

9. Conclusiones

Los resultados obtenidos sugieren que el EDM participa en la memoria espacial y que la administración de CORT facilita la consolidación de las asociaciones de E-E las cuales subyacen la representación de un mapa espacial. La facilitación en la memoria espacial y el incremento en la selección de estrategias de navegación espacial bajo la administración de CORT sugieren que el EDM interactúa con el sistema hipocampal de manera cooperativa durante la formación de asociaciones espaciales y de manera competitiva durante la selección de respuestas en tareas cuya ejecución depende de dos sistemas de memoria.

La facilitación en la memoria espacial y la selección de estrategias de navegación espacial mediadas por la administración de CORT en el EDM se deben a la conectividad de esta región con el hipocampo dorsal a través del haz de fibras de la fimbria-fornix (Voorn et al. 2004). Se desconocen los mecanismos neurofisiológicos mediante los cuales el estriado y el hipocampo compiten o cooperan durante el aprendizaje y la selección de estrategias de navegación. Además recientemente se ha comenzado a elucidar los mecanismos moleculares de los GCC sobre la consolidación de la memoria los cuales se llevan a cabo a través de los GR. Los glucocorticoides interactúan con receptores a neurotransmisores o actúan a través de los GR como factores de transcripción induciendo la expresión de genes, la síntesis de varias proteínas y la proliferación de espinas dendríticas las cuales se han relacionado con procesos de almacenamiento de memoria a través de mecanismos de plasticidad neuronal (Vyas et al., 2002).

Muchas preguntas emergen del presente estudio y algunas de ellas podrían ser investigadas a través de varias técnicas y varios análisis de datos. Por ejemplo una cuestión que no se llevó a cabo en el presente estudio es cuantificar la expresión de los GR como resultado de la administración de CORT en el EDM a distintos intervalos de tiempo post-entrenamiento y post-prueba para de esta manera potencialmente generar una explicación sobre la facilitación de la consolidación de la memoria espacial y la selección de estrategias de navegación espacial en las dosis utilizadas. Los datos generados de estos estudios permitirían correlacionar los efectos conductuales con la expresión de los GR o a través de otras técnicas como catFISH se pudiese cuantificar el nivel de genes de expresión temprana como c-Jun, o CREB entre otros.

Los resultados que se obtendrían a través de varias técnicas de investigación requerirían una explicación mucho más compleja que la que actualmente se maneja en términos de

procesamiento de información en paralelo a través de estructuras que crean representaciones asociativas de E-E, E-R, y E-Rf. Se tendría que tomar en cuenta el patrón de activación en varios circuitos neuronales los cuales tendrán que ser correlacionados con la ejecución de la respuesta motora. Esta respuesta motora por su parte estaría en función de la información adquirida así como de la estrategia de navegación que conduzcan al roedor a la meta de una manera segura y eficiente.

Finalmente una pregunta fundamental para el estudio de los sistemas múltiples de memoria y la navegación espacial en roedores es ¿como se procesa la información en cada sistema? es decir como cooperan o compiten los sistemas durante la adquisición y evocación de tareas de navegación cuya solución puede llevarse a cabo a través de sistemas de navegación egocéntricos o allocéntricos. Los métodos de lesión y farmacología conductual han sido importantes para ubicar las regiones del cerebro o regiones en una estructura en particular que tienen una mayor o menor participación en procesos de aprendizaje y memoria a través de estudios de doble y triple disociación. Estos estudios han sido esenciales para mostrar la cooperación y competencia entre estructuras (hipocampo y estriado principalmente) pero no pueden elucidar los mecanismos moleculares o neurofisiológicos involucrados en el procesamiento de la información que permiten la codificación de las representaciones y asociaciones que permiten el aprendizaje y la memoria de una tarea conductual de navegación. Para resolver estas preguntas es importante utilizar métodos electrofisiológicas con arreglos de multielectrodos los cuales permiten correlacionar la actividad neuronal (en forma de potenciales de acción o espigas) y la información adquirida en una tarea conductual. Por ello es de suma importancia el diseñar laberintos o protocolos conductuales que permitan caracterizar y disociar lo que la rata aprende durante el entrenamiento y lo que la rata evoca durante la prueba de estos paradigmas conductuales. Actualmente solo se pueden tener aproximaciones en relación a lo que aprende una rata en una tarea conductual y qué tipo de representación o información externa es relevante para la ejecución de la misma durante la prueba de memoria. Por ello se ha considerado que se debe de estudiar la conducta de un animal en su entorno natural ya que sin un conocimiento de su historia evolutiva, nicho ecológico y patrones de conducta no se puede entender o predecir la conducta de cualquier animal. Actualmente es de suma importancia para la neurobiología conductual realizar estudios multidisciplinarios para poder de esta forma

entender la conducta a través de varios niveles de análisis; de los genes, a los canales membranales, a la sinapsis, la neurona y su código de potenciales de acción, los circuitos neuronales locales, los sistemas de memoria, la conducta del animal y su evolución.

10. Referencias

- Abrari, K., Rashidy-Pour, A., Semnanian, S., Fathollahi, Y., y Jadid, M. (2009). Post-training administration of corticosterone enhances consolidation of contextual fear memory and hippocampal long-term potentiation in rats. *Neurobiol. Learn. Mem.*, 91(3), 260-265.
- Alyan, S., y Jander, R. (1994). Short-range homing in the house mouse, *Mus musculus*: Stages in the learning of directions. *Anim. Behav.*, 48(2), 285-298.
- Aronsson, M., Fuxe, K., Dong, Y., Agnati, L.F., Okret, S., y Gustafsson, J.A. (1988). Localization of glucocorticoid receptor mRNA in the male rat brain by in situ hybridization. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 85, 9331-9335.
- Atkinson, R.C., y Shiffrin, R.M. (1968). Human memory: A proposed system and its control processes. En K. W. Spence y J. T. Spence (Eds.), *The Psychology of Learning and Motivation: Advances in Research and Theory* (Vol. 2, pp. 89-105). New York: Academic Press.
- Bennett, A.T. (1996). Do animals have cognitive maps? *The Journal of Experimental Biology*, 199(Pt 1), 219-224.
- Bolding, K., y Rudy, J.W. (2006). Place learning in the Morris water task: Making the memory stick. *Learn. Mem.*, 13, 278-286.
- Byrne, J. H. (1987). Cellular analysis of associative learning. *Physiol. Rev.*, 67(2), 329-439.
- Cheng, K. (2002). Spatial Representation. En *Frontiers of Life: The World of the Living* (Vol. 19, pp. 231-235). London: Hogarth Press.
- Conboy, L., y Sandi, C.S. (2009). Stress at learning facilitates memory formation by regulating AMPA receptor trafficking through a glucocorticoid action. *Neuropsychopharmacology*, 1-12.
- Cordero, M.I., y Sandi, C. (1998). A role for brain glucocorticoid receptors in contextual fear conditioning: Dependence upon training intensity. *Brain Res.*, 786, 11-17.
- de Kloet, E.R. Oitzl, M.S., y Joëls, M. (1999). Stress and cognition: Are corticosteroids good or bad guys? *TRENDS in Neurosci.*, 22, 422-426.
- Devan, B.D., Goad, E.H., y Petri, H.L. (1996). Dissociation of hippocampal and striatal contributions to spatial navigation in the water maze. *Neurobiol. Learn. Mem.*, 66(3), 305-323.
- Devan, B.D., McDonald, R.J., y White, N.M. (1999). Effects of medial and lateral caudate-putamen lesions on place and cue-guided behaviors in the water maze: Relation to thigmotaxis. *Behav. Brain Res.*, 100(1-2), 5-14.
- Devan, B.D., y White, N.M. (1999). Parallel information processing in the dorsal striatum: Relation to hippocampal function. *J. Neurosci.*, 19(7), 2789-2798.
- D'Hooge, R., y De Deyn, P.P. (2001). Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. *Brain Res. Rev.*, 36, 60-90.
- Dillon, G.M., Qu, X., Marcus, J.N., y Dodart, J.C. (2008). Excitotoxic lesions restricted to the dorsal CA1 field of the hippocampus impair spatial memory and extinction learning in C57BL/6 mice. *Neurobiol. Learn. Mem.*, 90(2), 426-433.
- Dudai, Y. (2004). The neurobiology of consolidations, or, how stable is the engram? *Annu. Rev. Psychol.*, 55, 51-86.
- Fanjul de Moles, L.M., y Oyarzabal, A. (2007). Navegación animal. *Investigación y Ciencia*, 375, 66-73.

- Featherstone, R.E., y McDonald, R.J. (2004). Dorsal striatum and stimulus-response learning: Lesions of the dorsolateral, but not dorsomedial, striatum impair acquisition of a stimulus-response-based instrumental discrimination task, while sparing conditioned place preference learning. *Neuroscience*, 124(1), 23-31.
- Featherstone, R.E., y McDonald, R.J. (2005). Lesions of the dorsolateral or dorsomedial striatum impair performance of a previously acquired simple discrimination task. *Neurobiol. Learn. Mem.*, 84(3), 159-167.
- Gold, P.E. (2004). Coordination of multiple memory systems. *Neurobiol. Learn. Mem.*, 82(3), 230-242.
- Gould, J.L. (2004). Animal navigation. *Current Biology*, 14(6), 221-224.
- Graybiel, A.M. (1990). Neurotransmitters and neuromodulators in the basal ganglia. *Trends Neurosci.*, 13(7), 244-254.
- Gurney, K., Prescott, T.J., Wickens, J.R., y Redgrave, P. (2004). Computational models of the basal ganglia: From robots to membranes. *Trends Neurosci.*, 27(8), 453-459.
- Hatfield, T., y McGaugh, J.L. (1999). Norepinephrine infused into the basolateral amygdala posttraining enhances retention in a spatial water maze task. *Neurobiol. Learn. Mem.* 71, 232-239.
- Hebb, D.O. (1949). *The organization of behavior: a neuropsychological theory*. New York: Wiley.
- Hersi, A.I., Rowe, W., Gaudreau, P., y Quirion, R. (1995). Dopamine D1 receptor ligands modulate cognitive performance and hippocampal acetylcholine release in memory-impaired aged rats. *Neuroscience*, 69, 1067-1074.
- Holahan, M. R., Taverna, F.A., Emrich, S.M., Louis, M., Muller, R.U., Roder, J.C., y McDonald, R.J. (2005). Impairment in long-term retention but not short-term performance on a water maze reversal task following hippocampal or mediodorsal striatal N-methyl-D-aspartate receptor blockade. *Behav. Neurosci.*, 119(6), 1563-1571.
- ILAR. (1996). *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*. Washington, DC: National Academy Press.
- Joëls, M., y Baram, T.Z. (2009). The neuro-symphony of stress. *Nature Rev. Neurosci.*, 10, 459-466.
- Keith, J.R., y Rudy, J.W. (1990). Why NMDA receptor-dependent long-term potentiation may not be a mechanism of learning and memory: Reappraisal of the NMDA receptor blockade strategy. *Psychobiology*, 18, 251-257.
- Legault, G., Smith, C.T., y Beninger, R.J. (2006). Post-training intra-striatal scopolamine or flupenthixol impairs radial maze learning in rats. *Behav. Brain Res.*, 170(1), 148-155.
- Lovejoy, D.A. (2005). *Neuroendocrinology: An Integrated Approach*. West Sussex, England: John Wiley & Sons.
- Luna, M., Guzmán, G., Navarro, L., Sánchez de la Peña, S., y Valverde, R.C. (1995). Circadian rhythm of type II 5'iodinase activity in the rat hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Endocrine*, 3(8), 597-901.
- McNamara, R.K., de Pape, G.E., y Skelton, R.W. (1993). Differential effects of benzodiazepine receptor agonists on hippocampal long-term potentiation and spatial learning in the Morris water maze. *Brain Res.*, 626, 63-70.
- McNamara, R.K., y Skelton, R.W. (1996). Baclofen, a selective GABA_B receptor agonist, dose-dependently impairs spatial learning in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 53, 303-308.

- McNamara, R.K., y Skelton, R.W. (1993). The neuropharmacological and neurochemical basis of place learning in the Morris water maze. *Brain Res. Rev.*, 18, 33-49.
- Mactutus, C.F., y Booze, R.M. (1994). *Accuracy of spatial navigation: The role of platform and tank size*. Paper presented at the Society of Neuroscience.
- Maei, H.R., Zaslavsky, K., Teixeira, C.M., y Frankland, P.W. (2009). What is the most sensitive measure of water maze probe test performance? *Frontiers in integrative neuroscience*, 3(4), 1-9.
- McDonald, R.J., Hong, N.S., y Devan, B.D. (2004). The challenges of understanding mammalian cognition and memory-based behaviors: An interactive learning and memory systems approach. *Neurosc. and Biobehav. Rev.*, 28, 719-745.
- McDonald, R.J., y White, N.M. (1993). A triple dissociation of memory systems: Hippocampus, amygdala, and dorsal striatum. *Behav. Neurosci.*, 107(1), 3-22.
- McDonald, R.J., y White, N.M. (1994). Parallel information processing in the water maze: Evidence for independent memory systems involving dorsal striatum and hippocampus. *Behav. Neural Biol.*, 61(3), 260-270.
- McDonald, R.J., y White, N.M. (1995). Hippocampal and nonhippocampal contributions to place learning in rats. *Behav. Neurosci.*, 109(4), 579-593.
- McIntyre, C.K., Marriott, L.K., y Gold, P.E. (2003). Patterns of brain acetylcholine release predict individual differences in preferred learning strategies in rats. *Neurobiol. Learn. Mem.*, 79(2), 177-183.
- Mink, J.W. (2008). The Basal Ganglia. En L. Squire, D. Berg, F. Bloom, S. Du Lac, A. Ghosh y N. Spitzer (Eds.), *Fundamental Neuroscience* (3er Ed.). (pp. 725-734). San Diego, CA: Academic Press.
- Mizumori, S.J.Y., Yeshenko, O., Kathryn, M.G., y Davis, D.M. (2004). Parallel processing across neural systems: Implications for a multiple memory system hypothesis. *Neurobiol. Learn. Mem.*, 82, 278-298.
- Morimoto, M., Morita, N., Ozawa, H., Yokoyama, K., y Kawata, M. (1996). Distribution of glucocorticoid receptor immunoreactivity and Mrna in the rat brain: An immunohistochemical and in situ hibridazation study. *Neurosc. Res.*, 26, 235-269.
- Morris, R. (1984). Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J. Neurosci. Methods*, 11(1), 47-60.
- Morris, R.G., Anderson, E., Lynch, G.S., y Baudry, M. (1986). Selective impairment of learning and blockade of long-term potentiation by an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, AP5. *Nature*, 319, 774-776.
- Morris, R. G., Garrud, P., Rawlins, J. N., y O'Keefe, J. (1982). Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature*, 297(5868), 681-683.
- Nader, K., Schafe, G.E., y LeDoux, J.E. (2000). Fear memories require protein synthesis in the amygdala for reconsolidation after retrieval. *Nature*, 406, 722-726.
- Niewoehner, B., Single, F.N., Hvalby, O., Jensen, V., Borgloh, S.M., Seeburg, P.H., Rawlins, J.N., Sprengel, R., y Bannerman, D.M. (2007). Impaired spatial working memory but spared spatial reference memory following functional loss of NMDA receptors in the dentate gyrus. *Eur. J. Neurosci.*, 25, 837-846.
- O'Keefe, J. (1976). Place units in the hippocampus of the freely moving rat. *Exp. Neurol.*, 51(1), 78-109.

- O'Keefe, J., y Dostrovsky, J. (1971). The hippocampus as a spatial map: Preliminary evidence from unit activity in the freely moving rat. *Brain Res.*, *34*, 171-175.
- O'Keefe, J., y Nadel, L. (1978). *The Hippocampus as a Cognitive Map*. Great Britain: Oxford University Press.
- Packard, M.G. (1999). Dissociation of multiple memory systems by posttraining intracerebral injections of glutamate. *Psychobiology*, *27*(1), 40-50.
- Packard, M.G., Hirsh, R., y White, N.M. (1989). Differential effects of fornix and caudate nucleus lesions on two radial maze tasks: Evidence for multiple memory systems. *J. Neurosci.*, *9*(5), 1465-1472.
- Packard, M.G., Introini-Collison, I., y McGaugh, J.L. (1996). Stria terminalis lesions attenuate memory enhancement produced by intracaudate nucleus injections of oxotremorine. *Neurobiol. Learn. Mem.*, *65*(3), 278-282.
- Packard, M.G., y McGaugh, J.L. (1992). Double dissociation of fornix and caudate nucleus lesions on acquisition of two water maze tasks: Further evidence for multiple memory systems. *Behav. Neurosci.*, *106*(3), 439-446.
- Packard, M.G., y McGaugh, J.L. (1994). Quinpirole and d-amphetamine administration posttraining enhances memory on spatial and cued discriminations in a water maze. *Psychobiology*, *22*(1), 54-60.
- Packard, M.G., y McGaugh, J.L. (1996). Inactivation of hippocampus or caudate nucleus with lidocaine differentially affects expression of place and response learning. *Neurobiol. Learn. Mem.*, *65*(1), 65-72.
- Packard, M.G., y Teather, L.A. (1997). Double dissociation of hippocampal and dorsal-striatal memory systems by posttraining intracerebral injections of 2-amino-5-phosphonopentanoic acid. *Behav. Neurosci.*, *111*(3), 543-551.
- Palencia, C.A., y Ragozzino, M.E. (2005). The contribution of NMDA receptors in the dorsolateral striatum to egocentric response learning. *Behav. Neurosci.*, *119*(4), 953-960.
- Papi, F. (2002). Animal Navigation. En *Frontiers of Life: The World of the Living* (Vol. 19, pp. 175). London: Hogarth Press.
- Parent, A., y Hazrati, L.N. (1995). Functional anatomy of the basal ganglia I: The cortico-basal ganglia-thalamo-cortical loop. *Brain Res. Brain Res. Rev.*, *20*(1), 91-127.
- Paxinos, G., y Watson, C. (1998). *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates* (4ta Ed.). New York: Academic Press.
- Prado-Alcalá, R.A., y Cobos-Zapíaín, G.C. (1977). Learning deficits induced by cholinergic blockade of the caudate nucleus as a function of experience. *Brain Res.*, *138*(1), 190-196.
- Prado-Alcalá, R.A., y Cobos-Zapíaín, G.G. (1979). Improvement of learned behavior through cholinergic stimulation of the caudate nucleus. *Neurosci. Lett.*, *14*(2-3), 253-258.
- Prado-Alcalá, R.A., Signorel, L., y Figueroa, M. (1981). Time-dependent retention deficits induced by post-training injections of atropine into the caudate nucleus. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, *15*(4), 633-636.
- Quirarte, G.L., de la Teja, I.S., Casillas, M., Serafín, N., Prado-Alcalá, R.A., y Roozendaal, B. (2009). Corticosterone infused into the dorsal striatum selectively enhances memory consolidation of cued water-maze training. *Learn. Mem.*, *16*(10), 586-589.
- Rudy, J.W. (2008). *The Neurobiology of Learning and Memory*. Massachusetts: Sinauer Associates.

- Reul, J.M.H.M., y de Kloet, E.R. (1985). Two receptor systems for corticosterone in the rat brain: Microdistribution and differential occupation. *Endocrinology*, *117*, 2505-2512.
- Roosendaal, B. (2000). Glucocorticoids and the regulation of memory consolidation. *Psychoneuroendocrinology*, *25*, 213-238.
- Roosendaal, B. (2002). Stress and memory: Opposing effects of glucocorticoids on memory consolidation and memory retrieval. *Neurobiol. Learn. Mem.*, *78*, 578-595.
- Roosendaal, B., y McGaugh, J.L. (1997). Basolateral amygdala lesions block the memory-enhancing effect of glucocorticoid administration in the dorsal hippocampus of rats. *Eur. J. Neurosci.*, *9*, 76-83.
- Sandi, C. (2003). Implicación de los glucocorticoides en la consolidación de la memoria. *Rev. Neurol.*, *37*(9), 843-848.
- Sandi, C. (2004). Stress, cognitive impairment and cell adhesion molecules. *Nature Rev. Neurosci.*, *15*, 917-930.
- Sandi, C., Loscertales, M., y Guaza, C. (1997). Experience-dependent facilitating effect of corticosterone on spatial memory formation in the water maze. *Eur. J. Neurosci.*, *9*(4), 637-642.
- Save, E., y Poucet, B. (2000). Involvement of the hippocampus and associative parietal cortex in the use of proximal and distal landmarks for navigation. *Behav. Brain Res.*, *109*, 195-206.
- Saucier, D., y Cain, D.P. (1995). Spatial learning without NMDA receptor-dependent long-term potentiation. *Nature*, *378*, 5928-5935.
- Setlow, B. (1997). The nucleus accumbens and learning and memory. *J. Neurosci. Res.*, *49*(5), 515-521.
- Squire, L.R. (1992). Memory and the hippocampus: A synthesis from findings with rats, monkeys, and humans. *Psychol. Rev.*, *99*(2), 195-231.
- Squire, L.R. (2004). Memory systems of the brain: A brief history and current perspective. *Neurobiol. Learn. Mem.*, *82*(3), 171-177.
- Tinbergen, N. (1951). *The Study of Instinct*. New York: Oxford University Press.
- Tolman, E.C. (1948). Cognitive maps in rats and men. *Psychol. Rev.*, *46*, 144-155.
- Tsien, J.Z., Huerta, P.T., y Tonegawa, S. (1996). The essential role of hippocampal CA1 NMDA receptor-dependent synaptic plasticity in spatial memory. *Cell*, *87*, 1327-1338.
- Voorn, P., Vanderschuren, L., Groenewegen, H.J., Robbins, T.V., y Pennartz, C. (2004). Putting a spin on the dorsal-ventral divide of the striatum. *TRENDS in Neurosci.*, *27*(8), 468-474.
- Vyas, A., Mitra, R., Shankaranarayana Rao, B.S., y Chattarji, S. (2002). Chronic stress induces contrasting patterns of dendritic remodeling in hippocampal and amygdaloid neurons. *J. Neurosci.* *22*, 6810-6818.
- Wehner, R. (1994). The polarization-vision project: Championing organismic biology. *Progr. Zool.*, *31*, 11-53.
- Whishaw, I.Q., y Kolb, B. (2005). *The Behavior of the Laboratory Rat: A Handbook with Tests*. New York: Oxford University Press.
- Whishaw, I.Q., Mittleman, G., Bunch, S.T., y Dunnett, S.B. (1987). Impairments in the acquisition, retention and selection of spatial navigation strategies after medial caudate-putamen lesions in rats. *Behav. Brain Res.*, *24*(2), 125-138.

- White, N.M. (2008). Multiple memory systems in the brain: Cooperation and competition. En Byrne, J.H. (Ed.), *Concise Learning and Memory: The Editor's Selection* (pp. 28-60). San Diego, CA: Academic Press.
- White, N.M. (1989). A functional hypothesis concerning the striatal matrix and patches: Mediation of S-R memory and reward. *Life Sci.*, 45(21), 1943-1957.
- White, N.M., y McDonald, R.J. (2002). Multiple parallel memory systems in the brain of the rat. *Neurobiol. Learn. Mem.*, 77(2), 125-184.
- White, N.M., Viaud, M., y Packard, M.G. (1994). Dopaminergic-cholinergic function in neo-striatal memory function: Role of nigro-striatal terminals. En T. Palomo, T. Archer y R. J. Beninger (Eds.), *Strategies for Studying Brain Disorders, Vol. 2, Schizophrenia, Movement Disorders, and Age Related Cognitive Disorders* (pp. 299-312). Madrid: Editorial.
- Williams, M.T., Moran, M.S., y Vorhees, C.V. (2004). Behavioral and growth effects induced by low dose methamphetamine administration during the neonatal period in rats. *Int. J. Dev. Neurosci.*, 22(5-6), 273-283.

11. Lista de abreviaturas

<u>Abreviación</u>	<u>Definición</u>
AMPA	α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol-propionato
ANOVA	Análisis de varianza
BLA	Amígdala basolateral
CORT	Corticosterona
DLSt	Estriado dorsolateral
DMSt	Estriado dorsomedial
E-E	Estímulo-estímulo
E-R	Estímulo-respuesta
E-Rf	Estímulo-reforzador
GABA	Ácido gamma-amminobutírico
GCC	Glucocorticoide
GR	Receptor glucocorticoide
LAM	Laberinto acuático de Morris
MCP	Memoria de corto plazo
MLP	Memoria de largo plazo
MR	Receptor mineralocorticoide
NMDA	N-metil D-aspartato
χ^2	Ji cuadrada