



# **UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS (NEUROBIOLOGÍA)**

**EFFECTO DE LA MICROINYECCIÓN DE ANISOMICINA EN LA AMÍGDALA  
SOBRE LA CONSOLIDACIÓN DE LA MEMORIA DE UNA TAREA DE  
EVITACIÓN INHIBITORIA SOBRRERFORZADA**

## **TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
MAESTRA EN CIENCIAS (NEUROBIOLOGÍA)**

**PRESENTA**

**PSIC. YOLIZTLI YECTIVANI JUÁREZ MUÑOZ**

**DIRECTOR DE TESIS**

**DR. ROBERTO A. PRADO ALCALÁ  
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA**

**COMITÉ TUTOR**

**DRA. MARÍA ISABEL MIRANDA SAUCEDO  
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA  
DR. MICHAEL C. JEZIORSKI  
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA**

**MÉXICO, D.F., DICIEMBRE 2012**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

Universidad Nacional Autónoma de México  
Instituto de Neurobiología

Los miembros del Comité Tutor certificamos que la tesis elaborada por: Yoliztli Yectivani Juárez Muñoz, cuyo título es: “Efecto de la microinyección de anisomicina en la amígdala durante la consolidación de la memoria de una tarea de evitación inhibitoria sobrerreforzada” 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.

Firma

Presidente

Dra. Sofía Yolanda Díaz Miranda

\_\_\_\_\_

Secretario (Tutor)

Dr. Roberto A. Prado Alcalá

\_\_\_\_\_

Vocal

Dra. Livia Sánchez Carrasco

\_\_\_\_\_

Suplente

Dra. María Teresa Morales Guzmán

\_\_\_\_\_

Suplente

Dra. María Isabel Miranda Saucedo

\_\_\_\_\_

Aprobado por el Comité Académico

---

Coordinador del Programa

Dra. Ma. Teresa Morales Guzmán

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi tutor, el Dr. Roberto A. Prado-Alcalá y a la Dra. Gina L. Quirarte, quienes me permitieron formar parte de su laboratorio y que además siempre estuvieron al pendiente de mi desarrollo como investigadora. Mil gracias por su apoyo en todo momento.

A la Dra. Andrea Cristina Medina Fragoso, quien me enseñó con paciencia y cariño, y de quien recibí apoyo en todo momento para la realización de este trabajo.

A mi comité tutorial, la Dra. María Isabel Miranda Saucedo y el Dr. Michael C. Jeziorski quienes con sus comentarios enriquecieron mi formación.

A las integrantes del comité de sinodales, la Dra. Sofía Díaz, la Dra. Teresa Morales y la Dra. Livia Sánchez Carrasco quienes aportaron valiosos comentarios para la consumación de este trabajo,

A los integrantes del laboratorio B-04, quienes me ayudaron a tener un panorama más amplio con diversas discusiones acerca de este trabajo, en especial a Anaí Campos Contreras y Sofía González Salinas.

Al Sr. Ángel Méndez Olalde, encargado del cuidado de los sujetos experimentales, quien además me brindo su amistad.

A la M.V.Z. Norma Serafín López, por su ayuda en la compra y disposición del material del laboratorio.

Al personal del bioterio, en especial al M.V.Z. José Martín García Servín, por proporcionar los animales experimentales requeridos para el desarrollo de los experimentos.

A la M. en C. Leonor Casanova Rico por su apoyo para realizar de manera oportuna todos los trámites durante mi estancia en la maestría.

Al personal de la biblioteca, en especial al Dr. Francisco Javier Valles Valenzuela.

A mis padres, Raúl y Rosa María por su apoyo a pesar de la distancia, y por su cariño.

A mis amigas, Julia, Cris y Sofía, quienes se convirtieron en mi familia queretana.

A CONACYT por la beca otorgada (a Y.Y.J.M. 372289), sin la cual no podría haber concluido este posgrado, y por su apoyo a través del Proyecto 128259.

A la Dirección General de Apoyo al Personal Académico de la UNAM, por el apoyo otorgado a través del Proyecto PAPIIT IN208110.

Al Instituto de Neurobiología, por permitirme ampliar mi formación como investigadora a través de su programa de maestría.

En especial a la UNAM por abrirme las puertas desde hace ya tantos años y permitirme crecer como investigadora y ser humano.

Por mi Raza Hablará el Espíritu.

*A mis padres, Raúl y Rosa María,  
por ser mi mejor ejemplo.*

*A Oswaldo, por su amor, comprensión  
y apoyo incondicional.*

*La ignorancia afirma o niega rotundamente;  
la ciencia duda.*

*Voltaire*

## ÍNDICE

<b>1. RESÚMENES</b>	
1.1 Resumen.....	1
1.2 Abstract.....	2
<b>2. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>3</b>
<b>3. ANTECEDENTES.....</b>	<b>4</b>
3.1 Aprendizaje .....	4
3.2 Memoria .....	6
3.3 Consolidación de la memoria y síntesis de proteínas.....	8
3.4 Amígdala y consolidación de la memoria.....	13
3.5 Efecto protector del sobrerreforzamiento contra tratamientos amnésicos.....	22
<b>4. JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>24</b>
<b>5. HIPÓTESIS.....</b>	<b>24</b>
<b>6. OBJETIVO.....</b>	<b>25</b>
<b>7. METODOS.....</b>	<b>25</b>
7.1 Sujetos .....	25
7.2 Cirugía esterotóxica .....	25
7.3 Microinyección de anisomicina .....	26
7.4 Aparatos .....	27
7.5 Procedimientos conductuales.....	27
7.5.1 Manipulación.....	27
7.5.2 Entrenamiento.....	28
7.5.3 Prueba de retención.....	28
7.6 Análisis histológico .....	28
7.7 Análisis Estadístico .....	29
<b>8. EXPERIMENTOS.....</b>	<b>29</b>
8.1 Experimento 1. Efecto de distintas dosis de anisomicina sobre la consolidación de la memoria de la tarea de evitación inhibitoria.....	29
8.1.1 Resultados.....	30
8.2 Experimento 2. Efecto del sobrerreforzamiento sobre la amnesia causada por la administración de anisomicina.....	33
8.2.1 Resultados.....	34



8.3 Experimento 3. Dependencia de estado.....	37
8.3.1 Resultados.....	37
8.4 Experimento 4. Efecto de la anisomicina en la memoria de corto plazo (30 minutos).....	39
8.4.1. Resultados.....	40
8.5 Experimento 5. Efecto de la anisomicina en la memoria de corto plazo (4 horas).....	42
8.5.1 Resultados.....	43
8.6 Experimento 5. Efecto de las distintas intensidades de choque eléctrico sobre la extinción de la respuesta de evitación.....	45
8.6.1 Resultados.....	46
9. DISCUSIÓN.....	48
10. CONCLUSIONES.....	52
11. REFERENCIAS.....	54
12. ÍNDICE DE ABREVIATURAS.....	59
13. ÍNDICE DE TABLAS.....	60
14. ÍNDICE DE FIGURAS.....	61

# **1. RESÚMENES**

## **1.1. Resumen**

Se ha propuesto que la síntesis de proteínas es necesaria para la consolidación de la memoria de largo plazo, ya que la administración de inhibidores de la síntesis de proteínas (ISPs) impiden dicho proceso. Sin embargo, cuando el entrenamiento se da en condiciones para obtener un aprendizaje mayor (sobrerreforzamiento), dichos tratamientos se vuelven inocuos. Para continuar esta línea de investigación se implantaron bilateralmente cánulas en la amígdala a ratas adultas. Después de un periodo de recuperación y una fase de manipulación, se les administró bilateralmente anisomicina (ANI, un ISPs) en la amígdala treinta minutos antes del entrenamiento en la tarea de evitación inhibitoria (EI), en la cual se establece una conducta de evitación de entrar a un compartimiento oscuro que fue asociado a un choque eléctrico en las patas. Los grupos de ratas fueron entrenados con distintas intensidades de choque eléctrico. Cuarenta y ocho horas después del entrenamiento se realizó la prueba de retención, en la cual se registra el tiempo en el que el sujeto tarda en pasar al compartimiento oscuro; si la rata no cruza después de 600 s se da por terminada la sesión. De esta manera, latencias de retención altas representan una buena memoria. Los resultados muestran que se produjo amnesia en los grupos inyectados con ANI sin importar la intensidad de choque eléctrico. Estos resultados indican que, para el caso de la amígdala, no se produce el efecto protector del aumento de la intensidad del choque que se ha encontrado en otras regiones cerebrales.

## 1.2. Abstract

It has been suggested that protein synthesis is required for the establishment of long-term memory, since the administration of protein synthesis inhibitors (PSIs) prevents memory formation. However, the same treatment is innocuous when the training is carried out with higher levels of reinforcement (overreinforcement). To determine the generality of this effect we studied adult rats that were implanted with bilateral cannulae in the amygdala by stereotaxic surgery. After a recovery period and a phase of manipulation, rats were administered with anisomycin (ANI, a PSI) in the amygdala, thirty minutes prior training in the inhibitory avoidance (IA) task, which induces an avoidance behavior of entering a dark compartment that was previously associated with a foot-shock. Forty-eight hours after training they were tested for memory retention (long-term memory); during this test the time the subjects take to enter the dark compartment is recorded. Thus, high retention latencies represent a good memory. The results showed that the injection of ANI had produced amnesia regardless of the intensity of foot-shock. These results indicate that for the case of the amygdala there is no protective effect of increasing the intensity of reinforcement, as found in other brain regions.

## 2. INTRODUCCIÓN

El estudio de los mecanismos que dan lugar al establecimiento de memorias duraderas ha sido central en el campo de las neurociencias. Las investigaciones en este campo van desde aquellas que han descrito el papel de las estructuras implicadas en la formación de la memoria mediante la lesión de áreas específicas del cerebro (Ambrogio et al., 1999), hasta aquellas que se apoyan en técnicas más elaboradas, cuyo objetivo es describir procesos moleculares específicos, como la evaluación de la participación de la síntesis de proteínas *de novo* (Davis y Squire, 1984). Si bien existen distintas clasificaciones en cuanto a los tipos de memoria, una de las divisiones que más se utiliza debido a los cambios estructurales y funcionales que implica, es aquella determinada en función del tiempo que la información permanece accesible para un organismo, es decir, la que divide a la memoria en memoria de corto plazo (MCP) y memoria de largo plazo (MLP) (McGaugh, 2000). Se ha propuesto que para que la MCP pueda ser almacenada como una MLP se requiere de un proceso llamado consolidación. Hallazgos experimentales sugieren que los procesos moleculares que dan lugar a ambos tipos de memoria son distintos, así, la síntesis de proteínas *de novo*, sólo es requerida para el establecimiento de la MLP (consolidación). Esta hipótesis se fundamenta en el hecho de que la administración de inhibidores de la síntesis de proteínas (ISPs) impide dicha consolidación (Canal et al., 2007; Gold, 2008). Sin embargo, no en todos los casos se ha encontrado tal efecto sobre la consolidación; por ejemplo, si el organismo es sometido a una experiencia altamente emotiva se anula el impedimento en la consolidación de la memoria ante la administración de ISPs (Díaz-Trujillo et al., 2009). De esta manera, determinar las condiciones de aprendizaje bajo las cuales la síntesis de proteínas *de novo* es requerida para la consolidación de la memoria implica el entendimiento integral de los procesos moleculares que dan lugar a la formación de memorias duraderas necesarias para la supervivencia de los organismos.

### **3. ANTECEDENTES**

#### **3.1. Aprendizaje**

El aprendizaje es un proceso necesario para la supervivencia de la gran mayoría de especies animales ya que están sometidos a cambios constantes en el medio que les rodea, de tal manera que han desarrollado la capacidad de hacer ajustes en su conducta, los que dependen de la capacidad de establecer relaciones de predictibilidad entre distintos estímulos.

El aprendizaje se ha definido como un cambio más o menos permanente en la conducta del organismo, derivado de la experiencia y que no es resultado de la maduración, habituación, fatiga o de algún efecto producido por drogas (Hilgard y Bower, 1975).

Existen distintos procedimientos a través de los cuales se han determinado los sustratos cognitivos del aprendizaje, en particular en cuanto al aprendizaje asociativo; es decir, aquel aprendizaje mediante el cual el organismo establece relaciones entre eventos que suceden en el medio ambiente. Estos procedimientos pueden delimitarse dentro de los dos tipos: el condicionamiento clásico y el condicionamiento instrumental.

Por un lado, el estudio del condicionamiento clásico ha dado lugar al entendimiento de las asociaciones generadas por la exposición a un par de estímulos. Se sabe que ante la presentación de un estímulo fisiológicamente relevante (i.e., comida), al cual se le llama estímulo incondicionado se observa una respuesta fisiológica (i.e., salivación), llamada respuesta incondicionada; mientras que, si se presenta un estímulo neutro (i.e., un tono), sólo se observa una reacción de orientación. Sin embargo cuando se realizan varios apareamientos entre ambos estímulos, se observa que al presentar el estímulo neutro éste puede inducir la respuesta asociada con el estímulo incondicionado. En este momento el estímulo neutro se considera como un estímulo condicionado y la respuesta inducida, respuesta condicionada (Domjan, 2005).

Sin embargo, los organismos no siempre están expuestos a relaciones en el ambiente sin tener control sobre los eventos; así, existen situaciones de aprendizaje en las que la presencia o ausencia de un estímulo (consecuencia) está relacionada con la conducta emitida por el sujeto; es decir, la conducta se desarrolla por las consecuencias que produce. Este es el caso del condicionamiento instrumental.

Los procedimientos de condicionamiento instrumental se clasifican según la naturaleza del acontecimiento ambiental controlado por la conducta. El acontecimiento puede ser agradable o desagradable. Un acontecimiento agradable se llama estímulo apetitivo. Un acontecimiento desagradable se llama estímulo aversivo. Otro factor importante en la clasificación de los procedimientos de condicionamiento instrumental es la relación, o contingencia, entre la respuesta y el acontecimiento ambiental que controla. La respuesta instrumental puede producir el acontecimiento, dando lugar a una contingencia positiva; o eliminarlo, dando lugar a una contingencia negativa.

De esta manera se crea una relación entre consecuencias positivas y negativas y la ejecución u omisión de la respuesta, dando lugar a cuatro posibles procedimientos, a saber: 1) reforzamiento positivo, en el que la emisión de una respuesta produce la presentación de un estímulo apetitivo, 2) castigo, en el que la emisión de la respuesta produce la presentación de un estímulo aversivo, 3) entrenamiento de omisión, en el que la emisión de la respuesta impide la presentación de un estímulo apetitivo y 4) reforzamiento negativo (escape o evitación), en el que la emisión de la respuesta impide la permanencia o la presentación de un estímulo aversivo.

El entrenamiento por reforzamiento negativo ha sido ampliamente utilizado para determinar las condiciones que producen el aprendizaje, debido a que es posible que un sólo ensayo, es decir un emparejamiento del estímulo condicionado con el estímulo aversivo, permita al organismo adquirir la respuesta de evitación o escape, y ésta memoria es duradera a través del tiempo (Domjan, 2010).

Uno de los paradigmas de entrenamiento por reforzamiento negativo que más se ha utilizado es el condicionamiento de evitación inhibitoria (EI); este procedimiento implica, en una primera fase de entrenamiento, la asociación entre dos estímulos, es decir, entre un contexto y un choque eléctrico en las patas, lo cual lleva al sujeto a emitir una respuesta instrumental de evitación durante una segunda fase, llamada fase

de prueba, cuando se somete al sujeto a la misma condición experimental. El condicionamiento de El es un buen paradigma para evaluar la memoria resultante de la asociación establecida, ya que como se ha descrito, el aprendizaje induce una memoria duradera a través del tiempo y además mediante este paradigma se puede evaluar con buena precisión cada momento del establecimiento tanto del aprendizaje como de la memoria.

### **3.2. Memoria**

El aprendizaje y la memoria son procesos que no pueden ser separados fácilmente, si bien el aprendizaje se reconoce como un cambio en la conducta, la información que induce este cambio debe ser primero almacenada en la memoria para poder evaluar su ejecución en un tiempo posterior. Por ello se ha descrito que la memoria también es determinante para la sobrevivencia del organismo debido a que a través de este proceso los individuos son capaces de almacenar la información relevante para realizar las actividades del día a día; sin la memoria, los organismos deberían aprender las conductas una y otra vez; por ello, además de la evaluación de los procesos cognitivos que tienen lugar durante el establecimiento de asociaciones, en el campo de las neurociencias se ha dado un importante énfasis en la búsqueda de las estructuras y procesos moleculares que subyacen al establecimiento de la memoria, es decir la manera en que la información se almacena y además cómo posteriormente puede ser recuperada para ser utilizada (Kandel, 2001).

Si bien existen distintas clasificaciones de los tipos de memoria en función de características particulares, existen dos clasificaciones importantes que se han evaluado ampliamente debido a los cambios funcionales y estructurales que implican.

Una de las clasificaciones más relevantes es aquella que hace énfasis en el periodo en que la información está disponible para el organismo; es decir, la que divide a la memoria en memoria de corto plazo (MCP) y memoria de largo plazo (MLP).

Originalmente, en su libro “The Principles of Psychology”, publicado en 1890, William James planteó estos dos tipos de memoria como una memoria primaria y otra secundaria (citado en Prado-Alcalá et al., 2008). La memoria primaria, actualmente

llamada memoria a corto plazo (MCP), es un estado de la información de vida corta, es decir, comprende a un periodo que va de segundos a minutos, en el que la información novedosa se ha hecho consciente; se dice que tiene una capacidad limitada de almacenamiento. La MCP también sirve como una puerta de enlace a través de la cual la información puede entrar a la memoria secundaria, actualmente conocida como memoria de largo plazo (MLP); este segundo tipo de memoria involucra la información que hemos aprendido, se considera que a diferencia de la MCP, ésta es prácticamente permanente; es decir que puede durar horas, años e incluso toda la vida y se dice que es ilimitada, en cuanto a su capacidad de almacenamiento.

La segunda clasificación descrita por Thompson (1996) se enfoca en la MLP que puede ser dividida en 2 categorías dependiendo del tipo de información almacenada: memoria declarativa y memoria no declarativa. La memoria declarativa hace referencia a todos aquellos recuerdos acerca de hechos o eventos específicos; mientras que, la memoria no declarativa hace referencia a todos los recuerdos relacionados con habilidades o hábitos (por ejemplo, la habilidad necesaria para montar en bicicleta). La memoria declarativa, a su vez, puede dividirse en dos subcategorías: memoria episódica, en donde se almacenan las experiencias personales específicas; y la memoria semántica, en donde se almacena información sobre el mundo en general.

Se ha propuesto que cada uno de estos tipos de información está cercanamente relacionado con la actividad de estructuras cerebrales particulares; de esta manera se sabe que la memoria declarativa está relacionada preferencialmente, más no de manera restringida, con la actividad del hipocampo; mientras que la memoria no declarativa depende de distintas estructuras que incluyen al estriado, la amígdala y el hipocampo entre otras, dependiendo del componente particular de la memoria implicada.



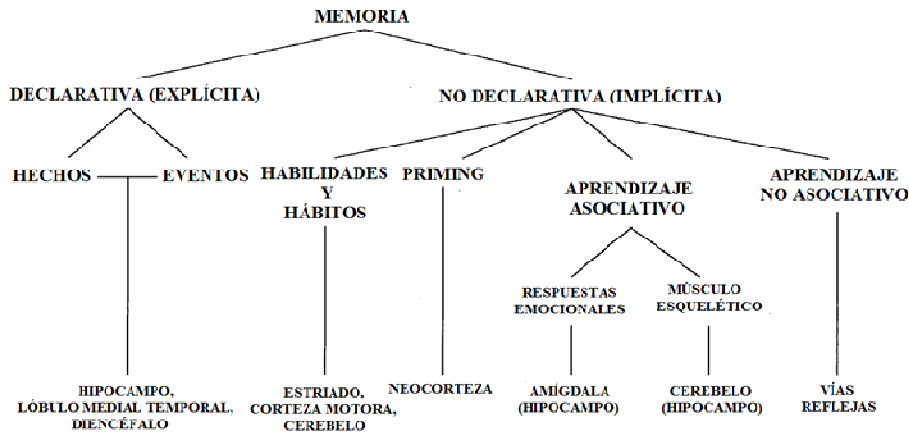


Figura 1. Esquema que muestra una taxonomía tentativa de la participación de distintas estructuras en la formación preferencial, más no limitada, de memorias declarativas y no declarativas. (Modificado de Thompson y Kim, 1996).

### 3.3. Consolidación de la memoria y síntesis de proteínas

En 1900 Müller y Pilzecker publicaron un trabajo en el cual introdujeron el concepto de consolidación, que propusieron como el tiempo que se requiere para pasar de una MCP a una MLP.

Años más tarde, en 1949, Hebb publicó sus ideas acerca de la neurobiología de la memoria; su teoría explica cómo se forma el circuito neuronal necesario para la formación de una memoria. En un principio la información sensorial activa redes neuronales que mantienen potenciales de acción que dan lugar a la representación de la MCP, y, posteriormente, la activación constante de estos circuitos provoca cambios estructurales duraderos que correlacionan con la MLP.

Desde hace ya varios años se ha producido una serie de datos experimentales que relacionan la memoria con distintos procesos; las primeras manipulaciones se derivaron en gran parte de la observación de casos clínicos, como el conocido caso del paciente H. M. quien después de ser sometido a una lobotomía temporal para aminorar las crisis epilépticas que padecía crónicamente, presentó la incapacidad de formar nuevas memorias; así, los procedimientos experimentales fueron de gran manera de lo grueso, es decir, remoción o lesión de áreas amplias hasta técnicas más refinadas como la búsqueda de procesos moleculares. De esta manera, en 1950 Katz y Halstead

fueron los primeros en proponer un proceso molecular complejo como sustrato de la consolidación de la memoria, ellos propusieron que la síntesis de nuevas proteínas era esencial para la formación de la MLP. En la Figura 2 se muestran el proceso hipotético de consolidación y la posterior evocación de la información almacenada.

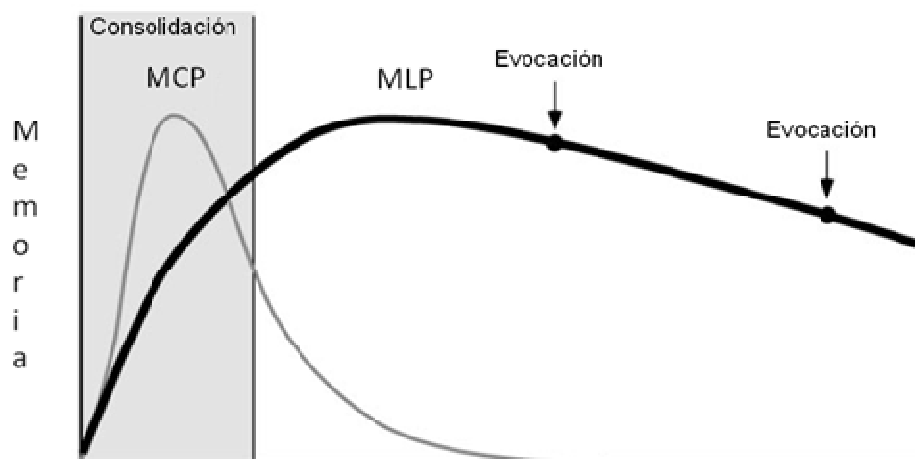


Figura 2. Memoria de corto plazo (MCP) y memoria de largo plazo (MLP), modificado de Dudai (2004).

La síntesis de proteínas se divide en tres pasos: la iniciación, elongación y terminación. La iniciación se refiere al ensamble de un ribosoma competente para la traducción en el codón de inicio (secuencia consenso AUG) de un ARN mensajero (ARNm), la elongación es el ensamble dependiente del codón de un polipéptido y la terminación involucra la liberación de la proteína completa cuando el ribosoma alcanza el codón de término. A su vez, la fase de iniciación puede ser dividida en 3 pasos: 1) el iniciador específico ARN de transferencia (ARNt) se une a la subunidad pequeña (40S) de la subunidad ribosomal para formar el complejo de pre-inicio 43S, 2) el complejo de 43S se une a un ARNm formando el complejo de pre-inicio de 48S que se encarga de buscar el codón de inicio y 3) la subunidad ribosomal grande (60S) se une a este complejo formando un ribosoma de 80S (Klann y Dever 2004).

Una vez formado este complejo cada ribosoma tiene 3 sitios de unión, uno para el ARNm y 2 lugares de unión de ARNt, uno peptidil y uno aminoacil. En este momento da inicio la fase de elongación, que tiene como finalidad la formación de enlaces peptídicos y también puede ser dividida en 3 pasos: 1) la molécula de ARNt peptidil se posiciona en el sitio P del ribosoma causando un cambio de conformación que abre el

sitio A para que el aminoacil ARNt se acople, así el sitio P contiene la cadena peptídica de la proteína a codificar y el sitio A el siguiente aminoácido que debe añadirse a la cadena, 2) el péptido unido al ARNt en el sitio P se transfiere al grupo amino en la ARNt-aminoacil en el sitio A. Esta reacción es catalizada por la peptidiltransferasa. El péptido alargado, ahora reside en el ARNt alojado en el sitio A. 3) El sitio A tiene que quedar libre para aceptar el siguiente ARNt-aminoacil. El proceso de cambiar la ARNt-peptidil del sitio A al sitio P se denomina translocación. Estos pasos se repiten hasta que se lleva a cabo la terminación una vez que se reconocen los codones de paro que son las secuencias de pares de bases para las cuales no hay aminoácidos codificados (UAA y UAG), así, la proteína es liberada y el ribosoma se desacopla. (Ver Figura 3).

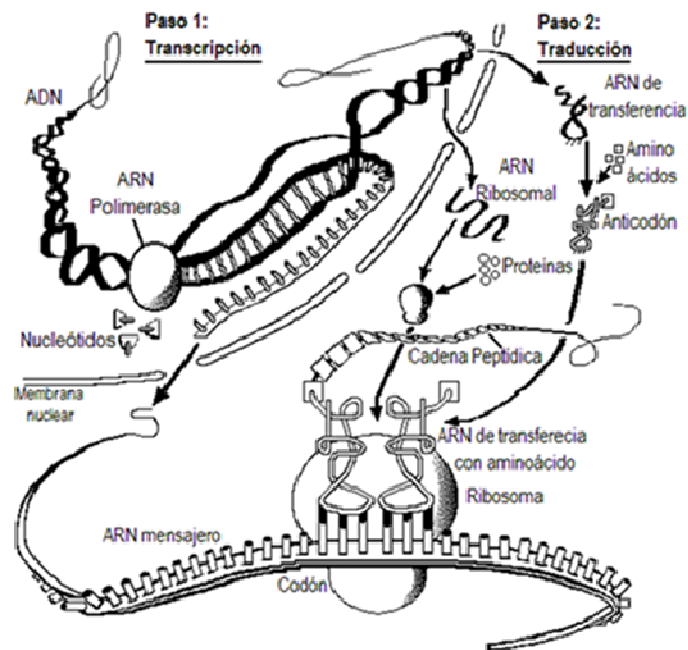


Figura 3. Esquema de la síntesis de proteínas

La hipótesis establecida por Katz y Halstead ha sido sometida en distintas ocasiones a comprobación, y desde hace ya varios años se ha realizado una gran cantidad de experimentos que analizan el papel de la síntesis de proteínas *de novo* en la formación de nuevas memorias, principalmente mediante el uso de fármacos que inhiben la síntesis de proteínas.

En la Tabla 1 se muestran ejemplos de inhibidores de la síntesis de proteínas utilizados para analizar el papel de la síntesis de proteínas en la consolidación.

<b>ISP</b>	<b>Nivel de Acción</b>	<b>Efecto</b>	<b>Tareas</b>	<b>Referencias</b>
<b>Aceto Cicloheximida</b>	Traducción	Inhibe a la Peptidil transferasa en el Ribosoma	LY, EI	Barondes y Cohen, 1967; Flexner et al., 1967; Serota, 1971; Flood et al., 1975
<b>Puromicina</b>	Traducción	Inhibe a la Peptidil transferasa en el Ribosoma	LY, EI	Barondes y Cohen, 1996; Agranoff et al., 1965; Flexner et al., 1963.
<b>Cicloheximida</b>	Traducción	Inhibe a la Peptidil transferasa en el Ribosoma	EI	Díaz-Trujillo et al. 2009; Kameyana, et al. 1986; Flood et al., 1980; Rainbow et al., 1979.
<b>Anisomicina</b>	Traducción	Inhibe a la Peptidil transferasa en el Ribosoma	EI, EA, CAS, RO, CM, LAM	Rodríguez-Serrano et al., 2010; Davis y Squire, 1984; Grecksch y Matthies, 1980

Tabla 1. Se resumen algunos trabajos en los que se han evaluado el efecto de Inhibidores de la síntesis de proteínas sobre la consolidación de la memoria, el nivel donde actúan, así como las tareas que comúnmente se utilizan para probar sus efectos. LY, laberinto en Y; EI, evitación inhibitoria; EA, evitación activa; CAS, condicionamiento aversivo a los sabores; RO, reconocimiento de objetos; CM, condicionamiento al miedo; LAM, laberinto acuático de Morris.

Se ha propuesto que la síntesis de proteínas es necesaria para el establecimiento de memorias ya que se ha descrito que estas median cambios sinápticos. Kandel (2001) ha descrito procesos moleculares que se observan durante la formación de la MCP y la MLP; de esta manera se sabe que durante el establecimiento de la MCP la serotonina facilita la activación de la vía del cAMP, mientras que la MLP requiere de la activación de genes.

En un momento temprano después de la experiencia el cAMP incrementa la sensibilidad y amplía el potencial de acción debido a que disminuye la corriente de K<sup>+</sup> y por lo tanto permite un mayor flujo de Ca<sup>+</sup> en la terminal presináptica. El mayor de flujo de Ca<sup>+</sup> se ha relacionado con una mayor liberación de neurotransmisores.

Posteriormente, la activación de la PKA lleva al reclutamiento de la proteína cinasa activada por mitógeno (MAPK), ambas se traslocan al núcleo donde activan la cascada transcripcional. La cascada empieza con el factor de transcripción CREB-1, el cual promueve la activación de una serie de genes de respuesta inmediata que son los responsables del crecimiento de las nuevas conexiones sinápticas; ver figura 4.

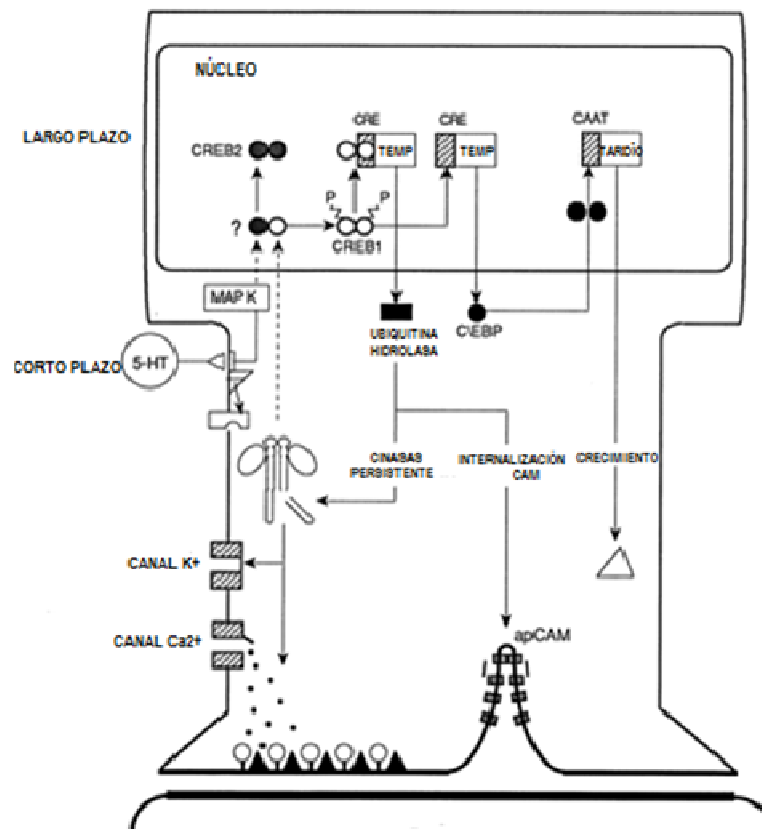


Figura 4. Se muestran algunos procesos moleculares que ocurren durante el establecimiento de la memoria a corto plazo y la memoria a largo plazo. Modificada de Kandel (2001).

Más recientemente se han analizado los genes que se expresan para ser traducidos en proteínas y que forman parte del mecanismo que da lugar a la capacidad de las sinapsis de cambiar su morfología; siendo considerado este como el sustrato estructural de la consolidación de la memoria (Zukin et al., 2010). En 2010 Schafe et al. describieron la expresión de una serie de genes en la amígdala relacionados con el condicionamiento del miedo; en general, los genes encontrados fueron los mismos que se ha reportado que se expresan cuando se da una estimulación de alta frecuencia

para producir potenciación a largo plazo (PLP), que es una forma de plasticidad neuronal dependiente de la experiencia que involucra mecanismos que subyacen a la formación de memorias (LeDoux et al., 1997). De los 34 genes en los que encontraron un aumento en la expresión después de producir PLP, una tercera parte fueron factores de transcripción de unión a ADN, otro tercio fueron enzimas y el tercio final genes involucrados en la señalización celular.

Actualmente se sabe que los procesos moleculares que dan lugar al establecimiento de la MCP y de la MLP son distintos; esto en conjunto con la noción de que ciertas estructuras participan de manera preferencial con la formación de ciertos tipo de memorias ha dado lugar a algunas de las hipótesis que rigen mucha de la investigación acerca de la memoria, algunas de ellas son: 1) que el paso requerido para que una MCP se transforme en una MLP es dependiente de síntesis de proteínas (Davis y Squire, 1984), 2) que este paso de la MCP a la MLP es lábil (Dudai, 2004), 3) que es dependiente del tiempo (McGaugh, 2000) y 4) que existen estructuras que intervienen de manera central la formación de la memorias (McGaugh, 2003).

### **3.4 Amígdala y consolidación de la memoria**

En cuanto al establecimiento de memorias se ha propuesto que la amígdala juega un papel importante al ser caracterizada como el principal centro en el que se procesa la información con un alto contenido emocional (LeDoux, 1996, 2000; McGaugh et al., 1996).

La amígdala está localizada en el lóbulo temporal medial y comprende aproximadamente 13 núcleos que se dividen en grupos que se conectan entre ellos mismos y con otras estructuras cerebrales. Estos núcleos se han diferenciado con base en la citoarquitectura, histoquímica y las conexiones que hacen. Los principales grupos que se han descrito son el grupo basolateral, que incluye los núcleos lateral, basal y el accesorio basal y el grupo centromedial compuesto de los núcleos medial y central. Además, existe un grupo separado de núcleos que incluyen las masas de células intercaladas que se han relacionado con la comunicación entre los grupos basolateral y centromedial.

Las conexiones aferentes se separan en aquellas provenientes de estructuras corticales y talámicas y aquellas que provienen del hipotálamo o del tallo cerebral. Las entradas corticales y talámicas proporcionan al complejo amigdalino información sobre áreas sensoriales y estructuras relacionadas con sistemas de memoria. La mayor fuente de información sensorial que llega a la amígdala proviene de la corteza cerebral. Estas proyecciones son glutamatérgicas y predominantemente inician en la capa V que contiene neuronas piramidales. La mayoría de estas conexiones son ipsilaterales y entran a la amígdala a través de la cápsula externa.

Las eferentes de los núcleos amigdalinos son amplias y van a la corteza, hipotálamo y tallo cerebral (Sah et al., 2003); sin embargo, las dos vías eferentes principales del complejo amigdalino son la estría terminal y la vía amigdalofuga ventral. La estría terminal es una haz de fibras que se origina en las células del grupo corticomediales; durante la mayor parte de su trayecto este haz se encuentra en el surco entre el núcleo caudado y el tálamo, acompañado por la vena terminal, y a lo largo de su longitud se asocia a unos agregados discontinuos de células que en conjunto se denominan núcleo del lecho de la estría terminal. Este haz se distribuye por varios núcleos del hipotálamo (preópticos, ventromedial, anterior y al área hipotalámica lateral), el núcleo accumbens, los núcleos septales y las áreas rostrales del núcleo caudado y del putamen. La vía amigdalofuga ventral es el principal haz de fibras eferentes del complejo amigdalino. Estos axones se originan tanto en el grupo basolateral como en el núcleo central del grupo celular corticomediales, y siguen dos trayectorias generales. Los axones que provienen en su mayor parte de las células basolaterales adoptan una disposición medial a través de la sustancia innominada (en la cual terminan algunas de sus fibras) para finalmente hacer sinapsis en el hipotálamo y los núcleos septales (Carpenter, 1994).

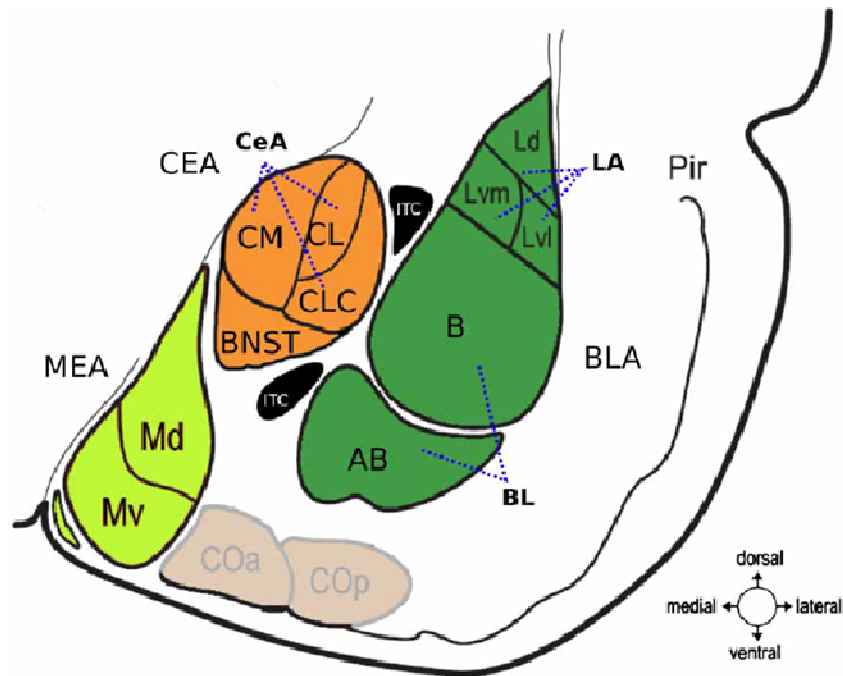


Figura 5. Esquema de la amígdala, así como los núcleos que la comprenden. AB, núcleo accesorio basal; B, núcleo basal; BL, núcleo basolateral; BLA, complejo basolateral; LA, núcleo lateral; Ld, núcleo lateral dorsal; Lvl, núcleo lateral ventrolateral; Lvm, nucleus lateral ventromedial; BNST, núcleo basal de la *stria terminalis*; CEA, amígdala central extendida; CM, núcleo central medial; CL, núcleo central lateral; CLC, núcleo central, subdivisión capsular lateral; ITC, núcleos intercalados; MEA, amígdala medial extendida; Md, núcleo medial, parte dorsal; Mv, núcleo medial, parte ventral (tomado de Mirolli, 2011).

Se ha relacionado ampliamente tanto la entrada como la salida de información con eventos vinculados con el aprendizaje de tareas aversivas, de manera que se ha propuesto que la información concerniente a los estímulos entra por sus respectivas vías (i.e., visual, auditiva, somatosensorial) y dicha información se procesa en el complejo basolateral que realiza conexiones mediante el grupo intercalado para enviar la información procesada hacia áreas involucradas con la ejecución de las distintas respuestas asociadas (ver Figura 6).



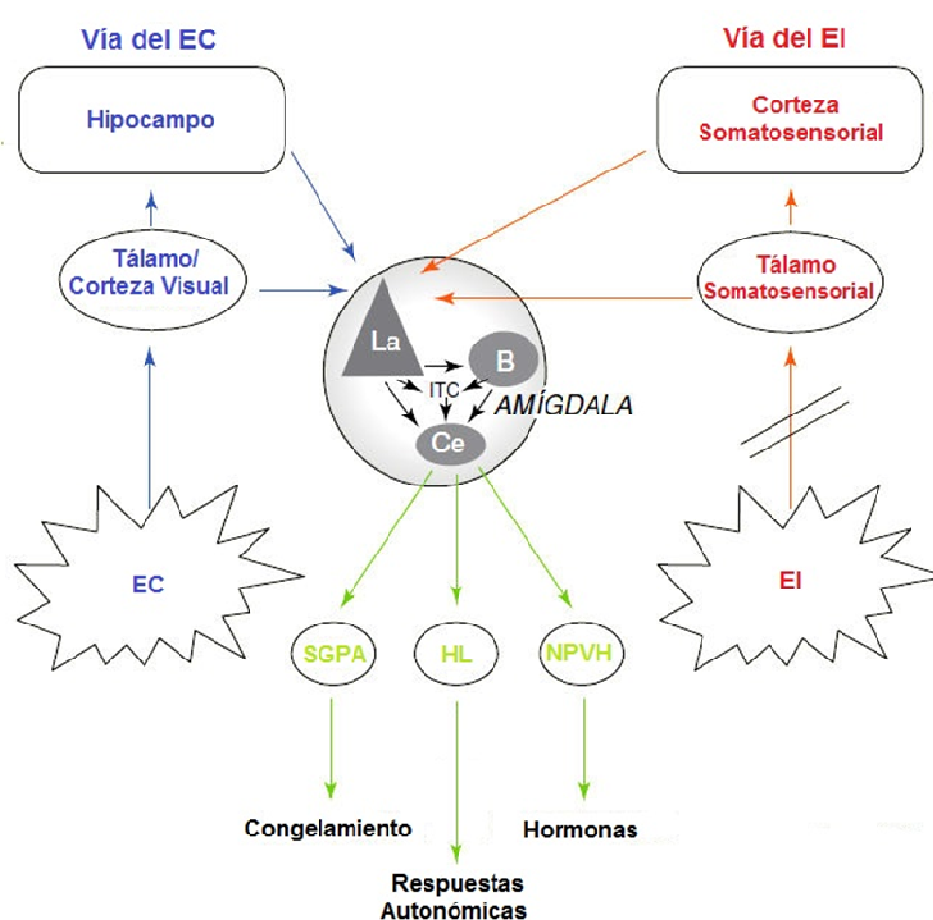


Figura 6. Esquema que muestra la integración de la información durante el condicionamiento aversivo en la amígdala. La información acerca del estímulo condicionado (contexto) y del estímulo incondicionado (choque) convergen en la amígdala lateral (La) que activa a la amígdala central (Ce) mediante conexiones intra amigdalinas (ITC), a su vez el Ce activa distintas estructuras relacionadas con las reacciones de miedo. SGPA sustancia gris periacueductal, HL hipotálamo lateral y NPVH núcleo paraventricular del hipotálamo (modificado de LeDoux, 2007).

En cuanto al establecimiento de memorias aversivas se ha propuesto que una vez que el organismo detecta una amenaza la amígdala activa una amplia variedad de áreas blanco que controlan tanto las respuestas conductuales como fisiológicas que ayudan a lidiar con la amenaza (LeDoux, 2002). Además de la expresión de conductas como el congelamiento, la amígdala lleva a la activación de respuestas en el cerebro y el cuerpo que median la reacción de miedo. En el cerebro, los sistemas monoaminérgicos son activados lo cual resulta en la liberación de neurotransmisores como la norepinefrina (NE), acetilcolina (ACh), serotonina (5-HT) y dopamina (DA). Estos neurotransmisores llevan al incremento en la activación y la vigilancia y en

general a una mejoría en el procesamiento de claves externas (Aston-Jones y Cohen, 2005; LeDoux, 2007; Ramos y Arnsten, 2007; Talarovicova et al., 2007).

Además, la detección de una amenaza tiene consecuencias endocrinas, la señalización amigdalina causa la secreción de la hormona liberadora de corticotropina (CRH) en el núcleo periventricular del hipotálamo. La CRH causa la liberación de la hormona adenocorticotrópica en la pituitaria, que a su vez, estimula la secreción de glucocorticoides (GCs) en la corteza adrenal. Los GCs circulantes se unen al receptor a mineralocorticoides de alta afinidad o al receptor a glucocorticoides de baja afinidad a lo largo del cuerpo y en el cerebro (de Kloet, 2004; Korte, 2001).

Finalmente, la detección de una amenaza lleva a consecuencias autonómicas. Las conexiones de la amígdala con el tallo cerebral llevan a la activación del sistema nervioso simpático, lo cual da lugar a la liberación de epinefrina (E) y NE de la médula adrenal y de NE de las terminales simpáticas de los nervios a lo largo del cuerpo. Las hormonas de la médula adrenal y los nervios simpáticos producen una serie de efectos que incluyen el incremento en la presión sanguínea y el ritmo cardiaco, desviando la energía para su aprovechamiento en los músculos e inhibiendo la digestión (Goldstein, 2003; McCarty y Gold, 1996; Sapolsky, 2004).

Aunque la epinefrina no cruza la barrera hematoencefálica, existe evidencia de que hay  $\beta$ -adrenoreceptores en las aferentes vagales al núcleo del tracto solitario (NTS), de esta manera la epinefrina sistémica podría mediar procesos neurales mediante su acción sobre este núcleo (Schreurs et al., 1986; en McGaugh, 2003).

En 1975 Gold y Buskirk reportaron que la inyección sistémica de epinefrina después del entrenamiento mejoraba la retención de la tarea de EI, dando así la primera evidencia que sugería que las hormonas liberadas debido al estrés tenían una influencia sobre la consolidación de la memoria; además, hallazgos posteriores en los que la adrenalectomía, es decir la remoción selectiva de la médula adrenal, impedía la retención en ratas dio evidencia adicional que sugiere que la liberación de hormonas derivadas de experiencias estresantes influye en el almacenamiento de memorias a largo plazo (McGaugh, 2003).

Así la detección de una amenaza y la consecuente activación del sistema involucrado en efectuar las respuestas asociadas a una amenaza provocan una variedad de efectos que retroalimentan al sistema para iniciar y modular el procesamiento emocional (McEwen, 2003; Pare, 2003; Sapolsky, 2003).

Debido a las similitudes fisiológicas entre el miedo expresado en humanos como en animales, el condicionamiento de miedo es relevante para evaluar la génesis de los desórdenes de ansiedad en humanos. Esto ha hecho que el número de estudios que examinan el papel de la amígdala en el condicionamiento del miedo, el aprendizaje y la memoria haya aumentado rápidamente (Lang et al., 2000).

Por ejemplo, Liang et al. (1982) realizaron una lesión electrolítica bilateral en la amígdala de ratas antes o después de entrenarlas en un procedimiento de EI utilizando un choque con intensidad de 2 mA, durante 2 segundos. En el experimento se incluyeron grupos controles sin lesión y experimentales lesionados en distintos momentos, a saber: 2 días antes, inmediatamente antes ó 2, 5 y 10 días después del entrenamiento. Todos los grupos fueron entrenados en un procedimiento estándar de EI y fueron probados en 4 momentos distintos: 4, 7 ó 12 días después del entrenamiento; para cada intervalo había 5 grupos de ratas; Controles sin implantar (UC); Controles implantados (IC), Lesionados Preentrenamiento 2 días antes (PL), Lesionados inmediatamente después del entrenamiento (IL) y Lesionados 2 días después del entrenamiento (DL). Además en la prueba de retención realizada el día 12 se incluyeron 5 grupos con los mismos tratamientos descritos pero que no recibieron el choque durante el entrenamiento, para determinar si las lesiones por sí mismas tenían efectos aversivos. Los resultados obtenidos mostraron que todas las latencias de retención fueron menores en los grupos con lesión, comparados contra los grupos control; además, el déficit mostró una dependencia temporal (ver Figura 7). Estos resultados indican que la amígdala intacta dentro de cierto periodo crítico es esencial para la consolidación de una tarea de EI.

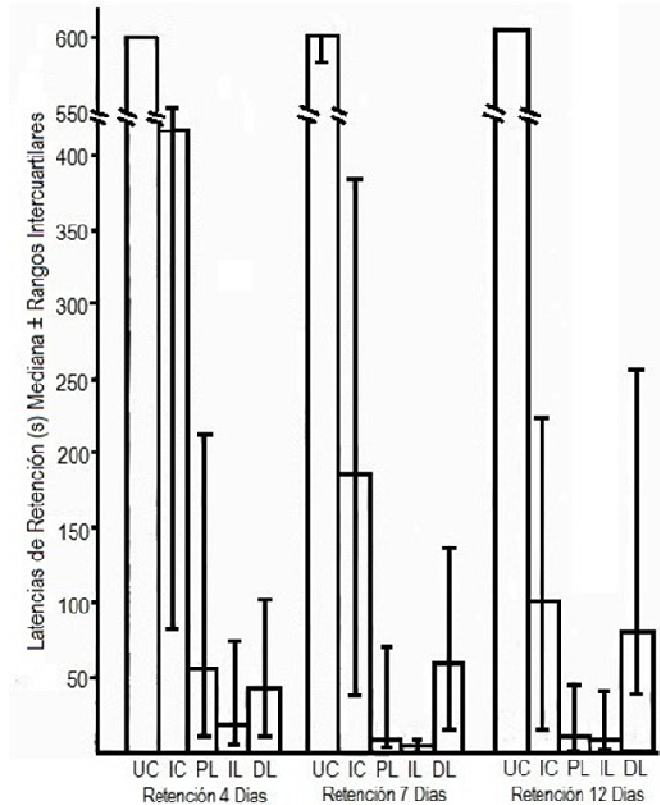


Figura 7. Se muestran los resultados obtenidos por Liang et al. (1982) se observa que la amnesia encontrada debido a la lesión de la amígdala es dependiente del momento en que se realiza la lesión (modificado de Liang et al. 1982)

En el caso de la inactivación temporal de la amígdala, Parent y McGaugh (1994) inactivaron la amígdala y evaluaron la retención de la tarea de EI, administrando un choque con intensidad de 0.45 mA durante 1 segundo. Canularon grupos independientes de ratas en el núcleo central de la amígdala y en el complejo basolateral y después de entrenar a las ratas, se les administró inmediatamente después lidocaína (10 µg/0.25 µl) o buffer; además se incluyeron 2 grupos más, que fueron canulados en el complejo basolateral, a los cuales se les administró la lidocaína 6 ó 24 horas después. Finalmente, las ratas fueron sometidas a una prueba de retención 48 horas después. Los resultados muestran un déficit en la prueba de retención sólo en los grupos canulados en el complejo basolateral y que fueron administrados inmediatamente después y 6 horas después del entrenamiento (ver Figura 8).

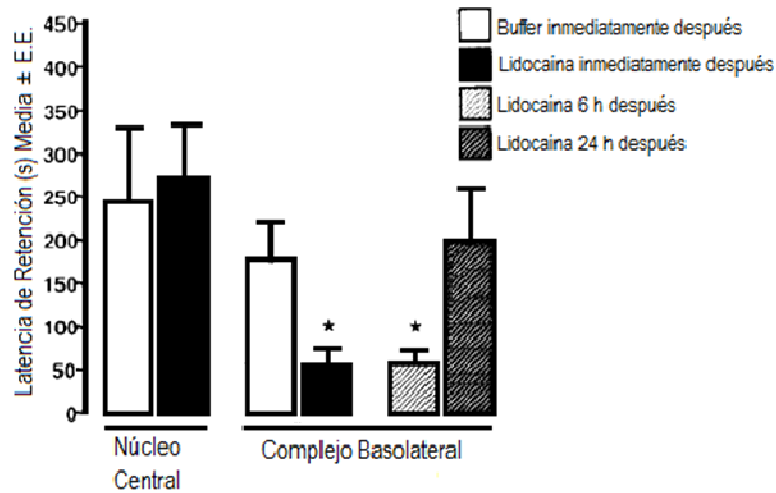


Figura 8. Se muestran los resultados obtenidos por Parent y McGaugh (1994); en el panel A se observa la media de latencia de retención en segundos. En el panel B se muestra la media de latencia de retención en segundos del tiempo que los sujetos pasaron en el compartimento seguro (iluminado). Sólo los sujetos canulados en la BLA y administrados inmediatamente después o 6 horas después del entrenamiento muestran un déficit en la memoria.

Además de los estudios en los que se han realizado daños directos a la estructura, inactivación temporal inducida sistémica y centralmente, e interferencia con la actividad de neurotransmisores, en la actualidad prevalece la hipótesis de que la formación de memorias depende de la síntesis de proteínas *de novo*, y ha llevado a probar el efecto de inhibidores de síntesis de proteínas administradas localmente en las estructuras implicadas en diferentes tipos de aprendizaje, siendo el de la respuesta condicionada de miedo uno de los modelos más estudiados.

A finales de la década de 1950 se descubrieron antibióticos que inhibían la síntesis de proteínas en células animales (Yarmolinsky y Haba, 1959). Esto permitió poner a prueba esta hipótesis. Se encontró que la administración de inhibidores de la síntesis de proteínas (ISPs) produce un deterioro en la formación de la memoria de largo plazo pero no en la memoria de corto plazo. Dicho efecto amnésico ocurre en roedores cuando se utilizan diferentes ISPs que poseen mecanismos de acción diferentes (Barondes y Cohen, 1966, 1967a; Squire y Barondes, 1973; Davis et al., 1976), en diversas tareas de aprendizaje, incluyendo la de evitación inhibitoria, que es la que se utilizó en la presente tesis (Flood et al., 1975b; Meiri y Rosenblum, 1998;

Barrientos et al., 2002; Hernández et al., 2002;). La amnesia producida por estas drogas, es dependiente de las dosis administradas y se correlaciona con el grado de inhibición de la síntesis de proteínas (Flexner et al., 1965).

En 2007, Canal et al. realizaron un experimento en el cual entrenaron ratas en una tarea de EI. Las ratas del grupo experimental recibieron una microinyección bilateral de un inhibidor de síntesis de proteínas, la anisomicina (ANI), que actúa a nivel de traducción bloqueando la peptidil transferasa, en la amígdala antes de las sesiones de entrenamiento, mientras que las ratas del grupo control fueron microinyectadas con solución salina. Se encontró un déficit de la memoria cuando se realizó la prueba de retención 48 h después en los sujetos inyectados con ANI comparados con los sujetos control. Además del análisis del efecto de la ANI en la tarea de EI se llevó a cabo un análisis de la liberación de distintos neurotransmisores (norepinefrina, dopamina y serotonina) en el sitio de microinyección y se observó que los niveles subían desmesuradamente (entre 1000 y 6,000 % por encima de la línea base). Los autores reportaron que esta liberación dura varias horas y se regresa a los niveles normales de liberación a las 48 h. De esta manera, los autores proponen que la liberación masiva de estos neurotransmisores podría estar mediando la amnesia producida por la ANI (Figuras 9 y 10).

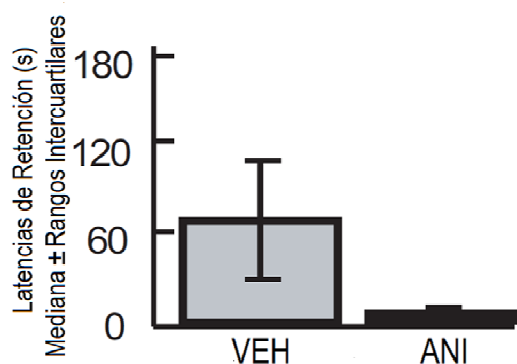


Figura 9. Se muestran los resultados obtenidos por Canal et al. (2007), con las medianas y los rangos intercuartiles de la latencia de retención obtenidos durante la prueba de retención de la tarea de evitación inhibitoria. Se observa que los sujetos administrados con anisomicina (62.5 µg) en la amígdala tuvieron latencias de retención más bajas que los sujetos a los que se les administró vehículo (Modificada de Canal et al., 2007)

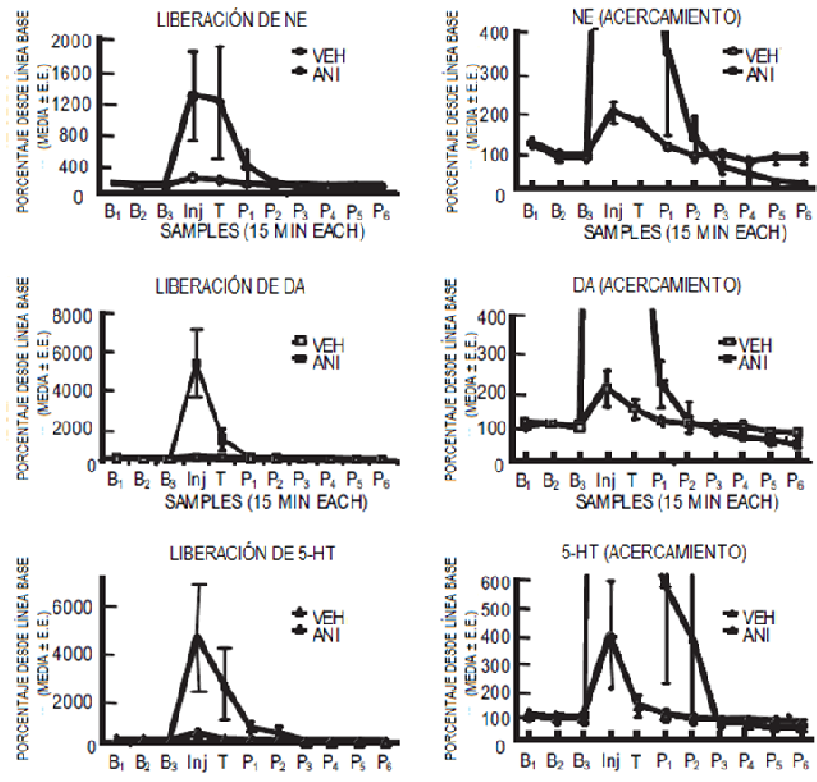


Figura 10. Se muestran los resultados obtenidos por Canal et al. (2007) de la medición de la cantidad de neurotransmisores (norepinefrina, dopamina y serotonina) obtenida por microdialisis durante la infusión de anisomicina en la amígdala. Se observa un incremento importante en la liberación de los tres neurotransmisores después de la administración de anisomicina (Modificada de Canal et al., 2007)

### 3.5 Efecto protector del sobrerreforzamiento contra tratamientos amnésicos

Contrario a los efectos amnésicos reportados mediante distintos tratamientos (drogas, lesiones), se ha demostrado que existe un efecto protector que se observa cuando se da un entrenamiento incrementado. El entrenamiento incrementado se refiere a la situación donde un individuo recibe un mayor número de sesiones de entrenamiento o una mayor intensidad de estimulación aversiva (sobrerreforzamiento). El incremento del aprendizaje se mide mediante la resistencia a la extinción. La extinción es la reducción de una respuesta condicionada cuando se omite el reforzador o el estímulo incondicionado (e.g., el choque eléctrico en aprendizajes de evitación) durante las pruebas de retención. Entre mayor es la fuerza del aprendizaje, mayor es la resistencia a la extinción, es decir, la respuesta condicionada tardará más tiempo en desaparecer (Figura 11) (Garín-Aguilar et al., 2012).

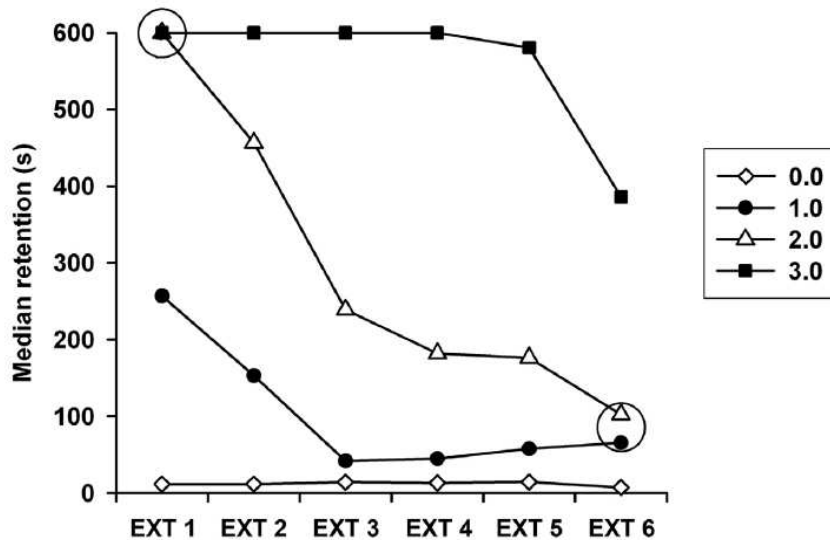


Figura 11. Curvas de extinción de grupos de ratas que recibieron 0.0, 1.0, 2.0, ó 3.0 mA durante el entrenamiento de evitación inhibitoria. Nótese que resistencia a la extinción es mayor conforme la intensidad de choque fue mayor durante el entrenamiento. En cada sesión de extinción (EXT1 a EXT6) cada punto difiere significativamente con respecto al resto de los puntos, excepto por los que están encerrados en los círculos grandes (modificada de Garín-Aguilar et al., 2012)

Varios investigadores han encontrado que con diversos tratamientos que normalmente interfieren con el proceso de consolidación en la tarea de EI existe un efecto protector al aplicar intensidades de choque más altas. Este efecto protector se ha observado interfiriendo con la actividad de la amígdala de distintas maneras; por ejemplo, Thatcher y Kimble (1966) encontraron que la lesión de la amígdala producía un déficit en la memoria en una tarea de evitación, sin embargo dicho déficit no se encontró cuando se aumento la intensidad del entrenamiento. De acuerdo con lo reportado por Salado-Castillo et al. (2011), infusiones de lidocaína en la amígdala generaban estados amnésicos en ratas entrenadas en un procedimiento estándar de EI, pero dicho efecto amnésico desaparecía cuando se entrenaba a las ratas con una intensidad mayor de choque eléctrico.

Asimismo, Díaz-Trujillo et al. (2009) encontraron que la administración sistémica de cicloheximida, un inhibidor de la síntesis de proteínas, impide la consolidación de la memoria de la tarea de EI; sin embargo, al incrementar la experiencia de ese aprendizaje, es decir al aumentar la intensidad del choque eléctrico durante el entrenamiento, el grupo tratado con cicloheximida recuerda la tarea, es decir, aún en



presencia del inhibidor de la síntesis de proteínas se lleva a cabo la consolidación de la memoria.

Otros trabajos realizados en nuestro laboratorio han demostrado los mismos efectos; por ejemplo, al administrar anisomicina, un inhibidor de la síntesis de proteínas, directamente en hipocampo dorsal, se observa que también hay un efecto protector del sobrerreforzamiento ante este tratamiento amnésico; por lo tanto, la inhibición de la síntesis de proteínas ya no interfiere con la consolidación, o bien ya no es necesario el hipocampo dorsal para esta tarea y otra estructura entra en relevo (Rodríguez-Serrano et al., 2009). Este efecto protector también se observó con la administración de anisomicina en corteza insular (Muñoz-Sánchez et al., 2010). Con estos hallazgos se podría concluir que el requerimiento de síntesis de proteínas para la formación de la memoria de largo plazo es discutible.

#### **4. JUSTIFICACIÓN.**

Los resultados descritos indican que tanto el nivel de reforzamiento como la inhibición de síntesis de proteínas *de novo* tienen un efecto sobre la consolidación de la memoria; mientras la inhibición de la síntesis de proteínas impide la formación de la memoria de largo plazo, es decir, la consolidación, el sobrerreforzamiento tiene un efecto protector en contra del efecto de interferencia con la consolidación producido por la administración de inhibidores de la síntesis de proteínas. Aunque se ha evaluado el efecto protector del sobrerreforzamiento sobre la amnesia ocasionada por la administración de inhibidores de la síntesis de proteínas en distintas estructuras (hipocampo, corteza insular) no se ha evaluado dicho efecto en la amígdala. Esto es relevante debido a que se sabe que la amígdala participa de manera importante en el establecimiento de memorias de alto contenido emocional.

#### **5. HIPÓTESIS**

Utilizando un procedimiento de evitación inhibitoria (EI) con una intensidad de choque mayor a la convencional, la consolidación de la memoria no se verá afectada cuando se administre un inhibidor de síntesis de proteínas (anisomicina) en la amígdala.

## **6. OBJETIVO**

Evaluar si la administración de una intensidad de choque mayor a la convencional en una tarea de El protege contra el efecto amnésico producido por la administración de un inhibidor de síntesis de proteínas en la amígdala.

## **7. MÉTODOS**

### **7.1. Sujetos**

Se emplearon ratas macho Wistar de entre 250 y 300 g, criadas en condiciones óptimas de bioterio y siguiendo las normas internacionales y del Comité de Bioética del Instituto de Neurobiología de la UNAM. Se alojaron en cajas individuales con libre acceso a comida y agua, con un ciclo luz-oscuridad de 12 h (inicio a las 7 a.m.). Se mantuvieron en estas condiciones durante todo el experimento.

### **7.2. Cirugía estereotáxica**

Los sujetos fueron anestesiados con pentobarbital sódico (50 mg/kg), combinado con atropina (0.4 mg/kg) administrados intraperitonealmente (i.p.). Se colocaron en un aparato estereotáxico y se realizó una incisión en la piel del cráneo, el cual se descubrió y se tomó la lectura de las coordenadas para la amígdala (AP = 2.8, ML = 5.0, DV = 6.6 mm) de acuerdo al atlas de Paxinos & Watson (1998). Se hizo un trépano en el cráneo y se implantaron las cánulas bilateralmente, que fueron fabricadas con agujas de acero inoxidable (calibre 23, de 15 mm de longitud) (Figura 12). Las cánulas fueron ancladas al hueso con la ayuda de un tornillo y cemento dental. Terminada la cirugía transcurrieron cinco días de reposo post-operatorio, y una vez transcurridos se iniciaron los procedimientos conductuales.

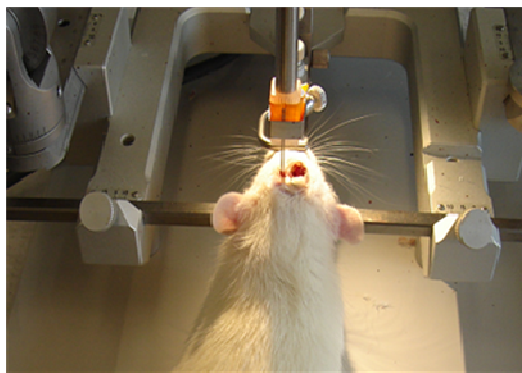


Figura 12. Cirugía estereotáxica.

### 7.3. Microinyección de Anisomicina.

Todas las microinyecciones fueron bilaterales. La administración de anisomicina se realizó con una bomba de perfusión lenta (World Precision Instruments Inc., modelo sp200i, E.U.A.), acoplada a una microjeringa Hamilton de 10  $\mu$ l, conectada a través de un tubo de polietileno calibre PE-20 a un inyector de 16 mm de longitud de acero inoxidable, que sobresalía 1 mm de la punta de las cánulas, fabricado con un tubo de aguja hipodérmica de acero inoxidable del número 30 (Figura 13). La infusión de 0.5  $\mu$ l se realizó durante un minuto y se dejó el microinyector dentro de la cánula durante un minuto adicional para permitir una mejor difusión. Las dosis de anisomicina que se emplearon se definirán más adelante; los grupos controles recibieron 0.5  $\mu$ l del vehículo de la anisomicina (solución salina). La anisomicina (ANI), actúa a nivel de traducción bloqueando la peptidil transferasa y una administración local (en el hipocampo) alcanza su grado máximo de inhibición (entre un 90-95 %) alrededor de los 15 minutos después de la inyección (Meiri et al., 1997; Canal et al., 2007).

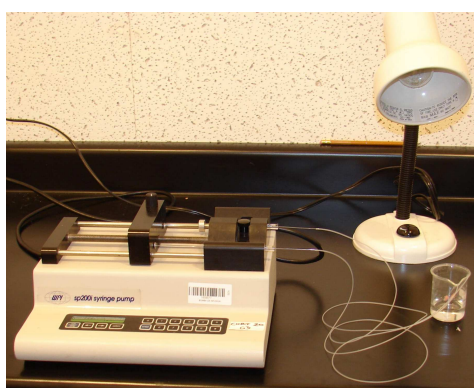


Figura 13. Bomba de infusión lenta e inyectores.

## 7.4 Aparatos.

La cámara de EI está compuesta por dos compartimientos del mismo tamaño (30 x 30 x 30 cm cada uno) separados por una puerta tipo guillotina (Figura 14). Un compartimiento “de seguridad” fue iluminado por un foco de 10 watts colocado en la tapadera del compartimiento y tiene una rejilla en el piso. El otro compartimiento, “de castigo”, es relativamente oscuro y sus paredes laterales de acero inoxidable tienen forma de V, las cuales llegan al piso del compartimiento, estando separadas en este lugar por una distancia de 1.5 cm (justo a la mitad del piso). Estas láminas podían electrificarse por un estimulador de pulsos cuadrados (Grass Instruments Co., modelo S48G), acoplado a una unidad de corriente constante (Grass Instruments Co., modelo CCU-1). La administración de los estímulos, las latencias de entrada, de escape y de retención fueron medidas automáticamente con ayuda de una computadora. La cámara de EI se ubicó en un cuarto sonoamortiguado.

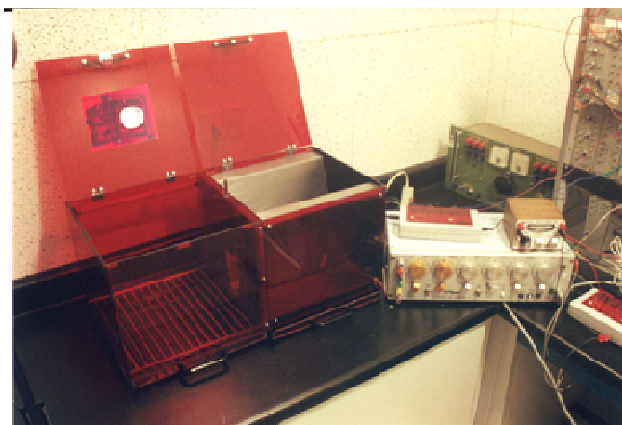


Figura 14. Cámara de EI.

## 7.5 Procedimientos conductuales

### 7.5.1 Manipulación

Esta maniobra se realizó por tres días una vez transcurrido el post-operatorio, y consistió en manipular a los animales por parte del experimentador durante 3 minutos cada día, usando una toalla, sobre la que se colocaba al animal mientras el experimentador revisaba las cánulas, y habituaba al animal al manejo del

experimentador. El último día de manipulación se introdujo en la cánula un falso inyector para verificar que no estuvieran tapadas.

### **7.5.2 Entrenamiento de evitación inhibitoria (EI)**

Cada rata se colocó en el compartimiento de seguridad, y 10 s después la compuerta se abrió y se registró el tiempo que tardó en pasar al compartimiento de castigo (latencia de entrada); una vez que el animal hubo pasado se cerró la compuerta y se administró un choque eléctrico (las intensidades se especificarán en la descripción de cada experimento). Transcurridos 5 s de choque, la puerta se abrió y, se registró el tiempo que tardó en pasar del compartimiento de castigo al de seguridad (latencia de escape) y entonces se apagó el estimulador. Los sujetos permanecieron ahí por 30 s y después se les regreso a su caja-habitación.

### **7.5.3 Prueba de retención**

La medición de la retención se realizó a las 48 h después del entrenamiento. Las condiciones de la sesión de prueba fueron idénticas a las descritas para la sesión de entrenamiento, con la excepción de que no se administró el choque eléctrico. Se registró el tiempo transcurrido entre la apertura de la puerta y el momento en el que la rata colocó las cuatro patas dentro del compartimiento de castigo (latencia de retención). Si el sujeto no cruzó en 600 segundos al compartimiento de castigo, se dio por terminada la sesión y se le asignó una latencia de retención de 600 segundos.

## **7.6. Análisis histológico**

Una vez terminado el procedimiento conductual las ratas fueron anestesiadas y se perfundieron intracardiamente, con solución salina isotónica seguida de formaldehído al 10%; se extrajo el cerebro y posteriormente se realizaron cortes coronales de 50  $\mu\text{m}$  de espesor, para ser teñidos con la técnica de Nissl (ver Figura 15). Los cortes se observaron con un microscopio para determinar si las puntas de las cánulas estuvieron alojadas en la amígdala, y así poder descartar del experimento a las ratas que fueron implantadas incorrectamente.

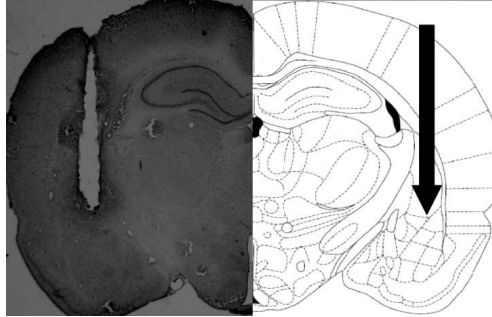


Figura 15. Se muestra una imagen de un corte coronal de cerebro de rata con una cánula implantada en amígdala del hemisferio izquierdo; se muestra un esquema del hemisferio derecho que permite identificar la amígdala (tomado de Paxinos y Watson, 1998). Este es ejemplo de una implantación aceptable para ser considerada dentro del análisis estadístico. La flecha indica la posición que tuvo la punta de la cánula.

### **7.7. Análisis estadístico**

Debido al punto de corte arbitrario durante la sesión de retención (600 s), los datos no se distribuyeron de forma normal. Por esta razón se utilizó estadística no paramétrica. Se realizaron análisis independientes para las latencias de adquisición, escape y retención, con la prueba de Kruskal-Wallis. Cuando fue apropiado, se usó la prueba U de Mann-Whitney para comparar la ejecución entre pares de grupos. Para analizar los datos derivados de las sesiones de extinción se utilizó una prueba de Mann-Whitney para cada sesión.

## **8. EXPERIMENTOS**

### **8.1. Experimento 1. Efecto de distintas dosis de anisomicina sobre la consolidación de la tarea de evitación inhibitoria.**

El objetivo de este experimento fue determinar el efecto de distintas dosis de ANI (ver Tabla 2) sobre la consolidación de la tarea de EI, esto, para determinar qué dosis es la que tiene el efecto óptimo para inducir amnesia cuando se administra en la amígdala. La intensidad de choque administrado fue de 1.0 mA en todos los grupos y la prueba de retención fue a las 48 horas después del entrenamiento.

Intensidad del choque 1.0 mA				
Fármaco	Veh	ANI	ANI	ANI
Dosis ( $\mu\text{g}/0.5 \mu\text{l}$ )		31.25	62.5	100

Tabla 2. Diseño experimental de grupos independientes

En la Figura 16 se muestran las fases del experimento. Después de cinco días pos-operatorios, se iniciaron las manipulaciones de los animales por tres días; al día siguiente se administró la ANI 30 minutos antes del entrenamiento de EI, y la prueba se realizó 48 horas después. Terminado el experimento los animales fueron perfundidos para realizar el análisis histológico.

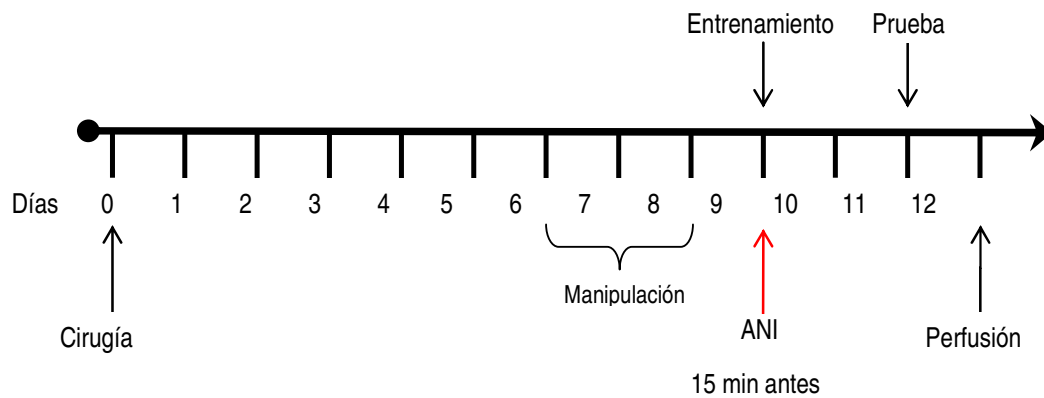


Figura 16. Desarrollo temporal del experimento 1.

### 8.1.1 Resultados

El análisis de varianza de Kruskal Wallis indicó que no había diferencias significativas entre los grupos con respecto a las latencias de entrada, es decir, el tiempo que tardaron los animales en atravesar del compartimiento de seguridad al de castigo durante el entrenamiento ( $H[3] = 0.09$ ,  $p = 0.9933$ , ver Figura 17), ni en las latencias de escape, es decir el tiempo que tarda el sujeto en escapar del compartimiento de castigo al de seguridad ( $H[3] = 0.74$ ,  $p = 0.8626$ , ver Figura 18).

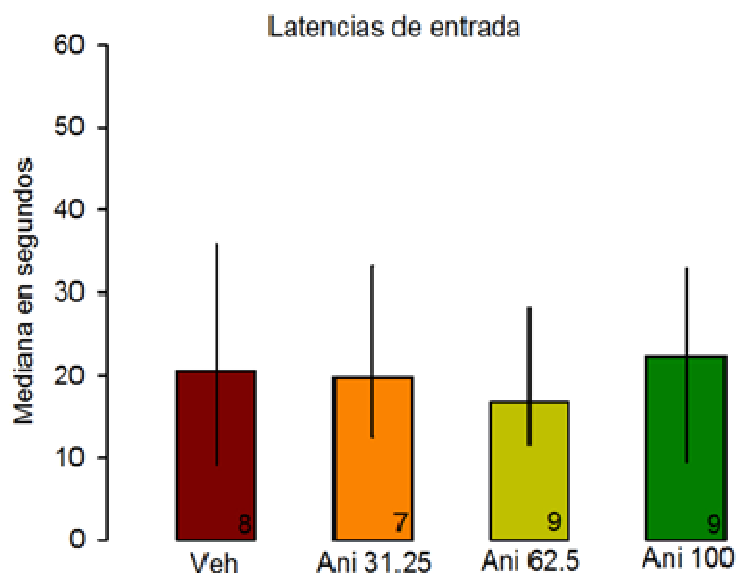


Figura 17. Latencias de entrada en segundos. Se muestran las medianas así como sus rangos intercuartiles; debajo de cada barra se encuentra la dosis utilizada para cada grupo; además dentro de cada barra se muestra el número de sujetos por grupo. Las ratas fueron entrenadas con 1.0mA.

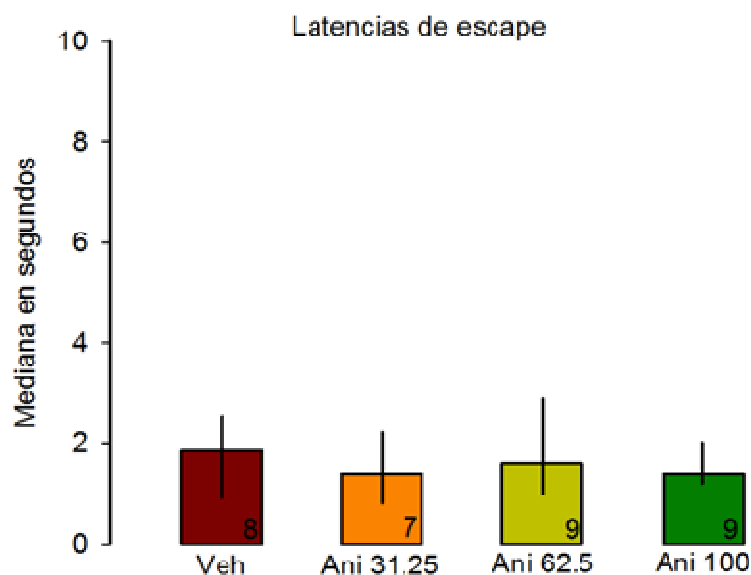


Figura 18. Latencias de escape en segundos. Se muestran las medianas así como sus rangos intercuartiles; debajo de cada barra se encuentra la dosis utilizada para cada grupo; además dentro de cada barra se muestra el número de sujetos por grupo. Las ratas fueron entrenadas con 1.0 mA.

Al realizar el análisis estadístico de las latencias de retención se encontraron diferencias altamente significativas entre los grupos ( $H[3] = 23.35$ ,  $p < 0.0001$ ). Las diferencias se encontraron en los grupos a los que se les administró ANI en las 3 dosis, 31.25  $\mu\text{g}/0.5 \mu\text{l}$  ( $U = 8.0$ ,  $p = 0.0205$ ), 62.5  $\mu\text{g}/0.5 \mu\text{l}$  ( $U = 4.00$ ,  $p = 0.0010$ ) y 100  $\mu\text{g}/0.5 \mu\text{l}$  ( $U = 0.00$ ,  $p = 0.0003$ ) comparados contra el grupo control al que se le



administró vehículo. Además se encontraron diferencias entre la dosis más alta (100 µg/0.5 µl) y las otras dosis de ANI: 31.25 µg/0.5 µl (U = 0.0, p = 0.0010) y 62.5 µg/0.5 µl (U = 14.0, p = 0.0216). No se encontraron diferencias entre las dosis baja (31.25 µg/0.5 µl) y la dosis media (62.5 µg/0.5 µl) (U = 16.0, p = 0.1113) (ver Figura 19).

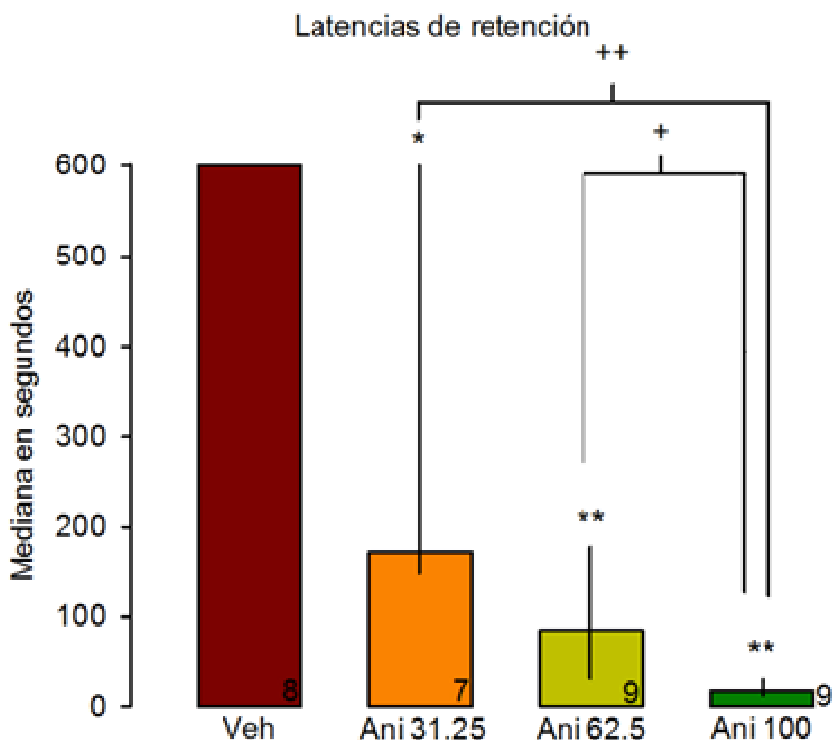


Figura 19. Latencias de retención en segundos. Se muestran las medianas así como sus rangos intercuartiles; debajo de cada barra se encuentra la dosis utilizada para cada grupo; además dentro de cada barra se muestra el número de sujetos por grupo. Las ratas fueron entrenadas con 1.0 mA. \* diferencias significativas con el grupo Veh p < 0.05; \*\* diferencias significativas con el grupo Veh p < 0.01; + diferencias significativas con el grupo Ani 100 p < 0.05; ++ diferencias significativas con el grupo Ani 100 p < 0.01.

La ausencia de diferencias en las latencias de entrada entre los grupos indica que los sujetos tuvieron las mismas capacidades motoras, perceptuales y motivacionales, involucradas en la actividad motriz necesaria durante el entrenamiento. De la misma manera, la ausencia de diferencias significativas en la latencia de escape, indica que los mecanismos neurales que participan en la sensación, percepción y respuesta motora ante el choque eléctrico administrado no fueron alterados por las distintas dosis de ANI.

Al analizar la sesión de prueba realizada 48 horas después del entrenamiento, los resultados muestran que la ANI administrada 30 minutos antes de entrenar a ratas en la tarea de EI tiene un efecto amnésico dependiente de la dosis.

Los resultados concuerdan con reportes anteriores de que la ANI administrada previo al entrenamiento produce amnesia (Canal et al., 2007).

## **8.2 Experimento 2. Efecto del sobrerreforzamiento sobre la amnesia causada por el inhibidor de la síntesis de proteínas anisomicina.**

El objetivo de este experimento fue determinar el efecto del entrenamiento incrementado sobre la amnesia producida por la ANI durante la consolidación de la tarea de EI (Experimento 1). Para ello, se administraron las dosis de ANI de 62.5 µg/0.5 µl y de 100 µg/0.5 µl y se administró un choque eléctrico en la patas de intensidad relativamente alta (3.0 mA). Para fines comparativos, también se presentan los resultados del experimento anterior obtenidos con la administración de ANI de 62.5 y 100 µg/0.5 µl. El diseño experimental empleado fue de grupos independientes para cada intensidad de choque (ver Tabla 3).

Intensidad de choque	3.0 mA
Dosis (µg/ 0.5 µl)	Ani 62.5 y 100
	Veh

Tabla 3. Diseño experimental de grupos independientes

En la Figura 20 se muestra el desarrollo temporal de este experimento; de manera similar al experimento 1 una vez implantadas las cánulas en la amígdala se dejaron pasar 5 días de periodo post operatorio, a los cuales siguieron 3 sesiones de manipulación después de los cuales se administró a las ratas las distintas dosis de ANI 30 min antes de ser entrenadas en la tarea de EI. La prueba se realizó 48 horas más tarde.

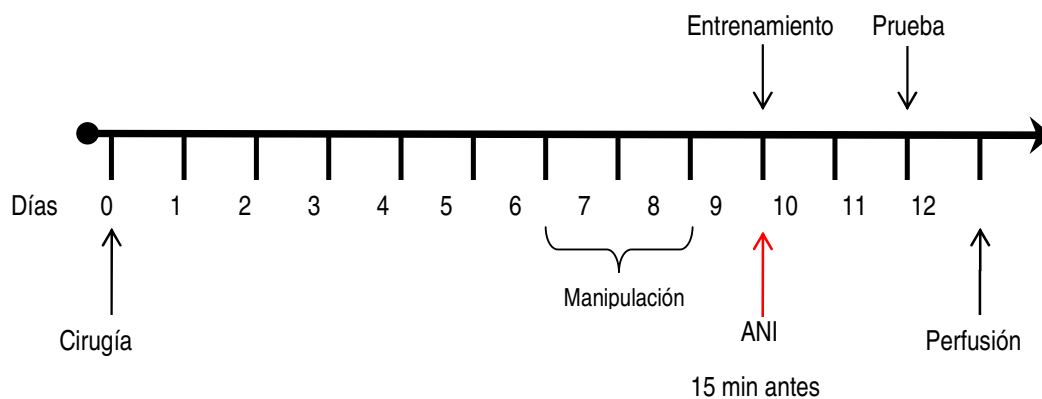


Figura 20. Desarrollo temporal del experimento 2.

### 8.2.1 Resultados

Al igual que en el experimento 1, el análisis de varianza de Kruskal Wallis indicó que no hubo diferencias significativas entre los grupos con respecto a las latencias de entrada ( $H[2] = 2.33$ ,  $p = 0.3123$ , ver Figura 21), ni en las latencias de escape ( $H[2] = 1.67$ ,  $p = 0.4341$ , ver Figura 22).

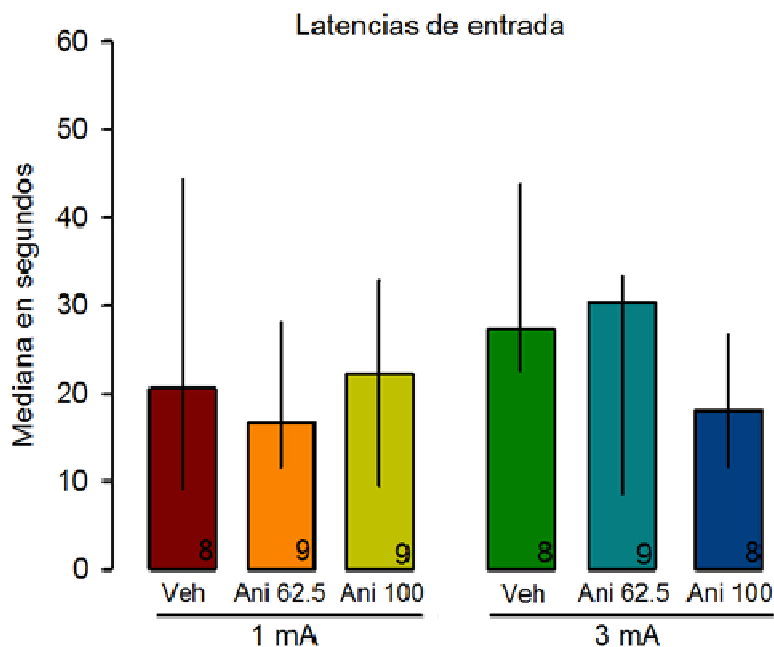


Figura 21. Latencias de entrada en segundos. Se muestran las medianas así como sus rangos intercuartilares. Se muestran los 3 grupos (Veh, ANI 62.5 y 100  $\mu\text{g}/0.5 \mu\text{l}$ ) para cada una de las 2 intensidades (1.0 y 3.0 mA). Además en cada barra se muestra el número de sujetos por grupo. Se muestran los datos obtenidos en el experimento 1 con fines de comparación.

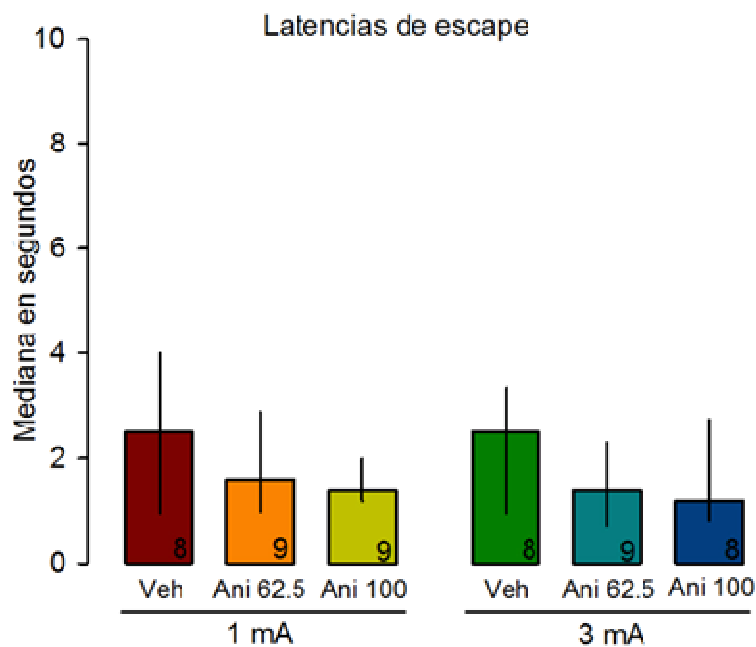


Figura 22. Latencias de escape en segundos. Se muestran las medianas así como sus rangos intercuantiles. Se muestran los 3 grupos (Veh, ANI 62.5 y ANI 100  $\mu\text{g}/0.5 \mu\text{l}$ ) para cada una de las 2 intensidades (1.0 y 3.0 mA). Además en cada barra se muestra el número de sujetos por grupo. Se muestran los datos obtenidos en el experimento 1 con fines de comparación.

Al realizar el análisis estadístico de las latencias de retención se encontraron diferencias significativas entre los grupos ( $H[2] = 15.23, p < 0.0005$ )

Al realizar el análisis para determinar que grupos fueron diferentes se encontró que los grupos administrados con vehículo tuvieron latencias significativamente mayores que los administrados con ANI en ambas dosis (62.5 y 100  $\mu\text{g}/0.5 \mu\text{l}$ ) para ambas intensidades (1.0 y 3.0 mA), con un nivel de significancia  $p < 0.05$  para cada comparación (ver Figura 23).

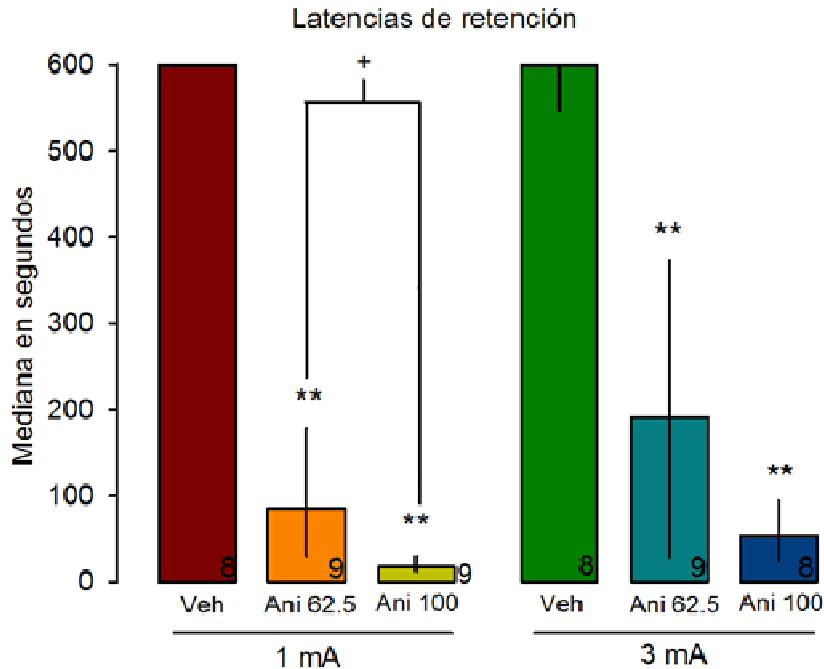


Figura 23. Latencias de retención en segundos. Se muestran las medianas así como sus rangos intercuartilares. Se muestran los 3 grupos (Veh, ANI 62.5 y 100  $\mu\text{g}/0.5 \mu\text{l}$ ) para cada una de las 2 intensidades (1.0 y 3.0 mA). Además en cada barra se muestra el número de sujetos por grupo. (\*\* diferencias significativas con el grupo Veh  $p < 0.01$ ; + diferencias significativas con el grupo Ani 100  $p < 0.05$ ). Se muestran los datos obtenidos en el experimento 1 con fines de comparación.

Los resultados obtenidos indican que no hubo diferencias significativas en las latencias de entrada y escape de los distintos grupos durante el entrenamiento para ninguna de las intensidades estudiadas.

Los resultados de la sesión de prueba, es decir, la latencia de retención, muestran que la ANI en dosis de 62.5 y 100  $\mu\text{g}/0.5 \mu\text{l}$  tiene un efecto amnésico cuando se utiliza una intensidad de choque eléctrico de 1.0 mA, así como cuando esta intensidad es incrementada a 3.0 mA.

Estos resultados constituyen un hallazgo muy importante dentro de esta línea de investigación. Desde la primera vez en que se describió el fenómeno del efecto protector del entrenamiento incrementado (sobrentrenamiento y sobrerreforzamiento) en contra de la amnesia producida por tratamientos que interfieren con la consolidación de la memoria (Prado-Alcalá y Cobos-Zapíaín, 1977), no se había reportado alguna estructura cerebral en la que al interferir con su actividad normal dicho efecto protector no se hiciera patente.

### 8.3 Experimento 3. Dependencia de estado

Este experimento tuvo como objetivo determinar si la ANI ocasionaba un contexto farmacológico y por lo tanto un aprendizaje dependiente de estado; para ellos se tuvo un diseño de grupos independientes (ver Tabla 4).

Intensidad del choque 1.0 mA		
Fármaco	Veh	ANI
Dosis		62.5 µg/0.5µl

Tabla 4. Diseño experimental de grupos independientes.

En la figura 24, se muestra el desarrollo temporal del experimento; se administró la ANI 30 minutos tanto antes del entrenamiento como 30 minutos antes de la prueba de retención. Las ratas fueron entrenadas en la tarea de EI con un choque eléctrico de 1.0 mA. La prueba se realizó a las 48 horas.

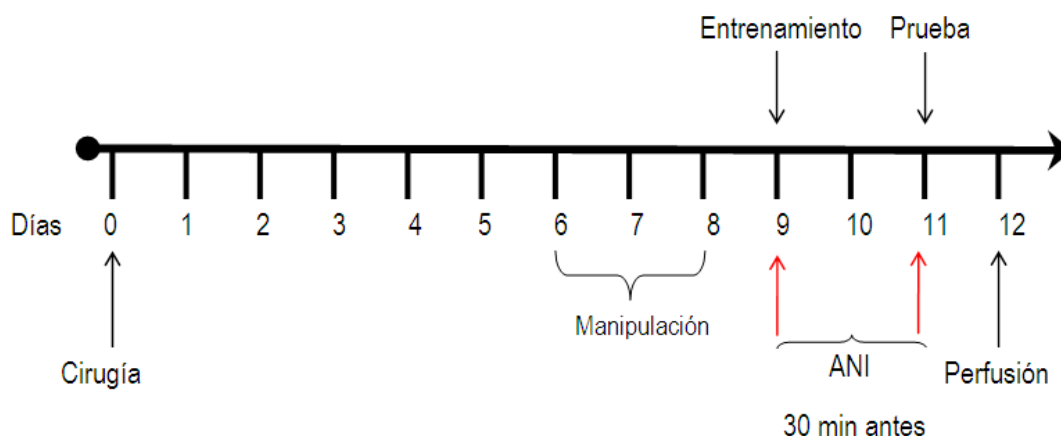


Figura 24. Desarrollo temporal del experimento 3.

#### 8.3.1 Resultados

Para determinar si hubo diferencias entre las latencias de escape se realizó una prueba U de Mann Whitney; al igual que en los experimentos 1 y 2, no se encontraron diferencias significativas entre los grupos con respecto a las latencias de entrada ( $U = 24.50$ ,  $p = 0.7789$ , ver Figura 25), ni en las latencias de escape ( $U = 26.00$ ,  $p = 0.8665$ , ver Figura 26).

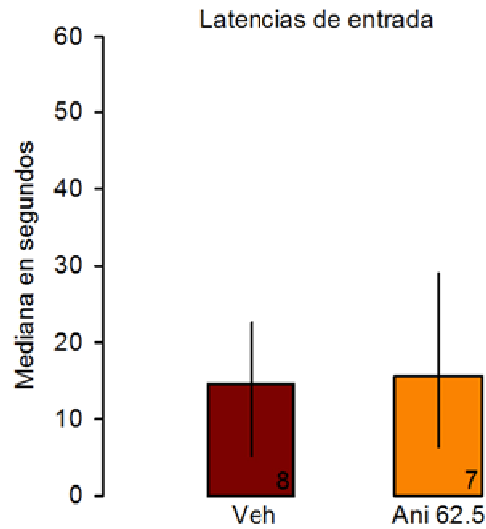


Figura 25. Latencias de entrada en segundos. Se muestran las medianas así como sus rangos intercuartilares. Se muestra el grupo vehículo (Veh) comparado contra el grupo ANI (62.5  $\mu\text{g}/0.5\mu\text{l}$ ). Además en cada barra se muestra el número de sujetos por grupo. Las ratas fueron entrenadas con una intensidad de 1.0 mA.

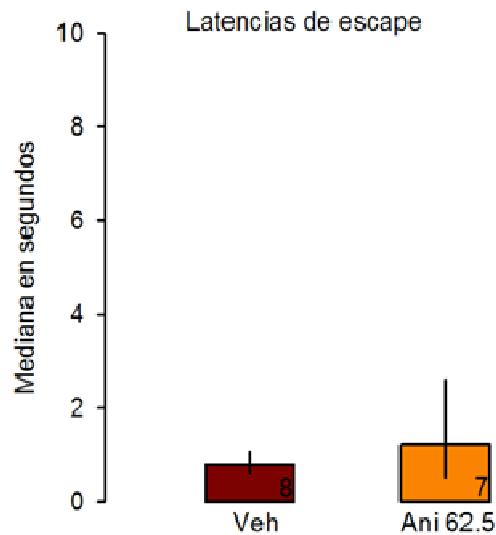


Figura 26. Latencias de escape en segundos. Se muestran las medianas así como sus rangos intercuartilares. Se muestra el grupo vehículo (Veh) comparado contra el grupo ANI (62.5  $\mu\text{g}/0.5\mu\text{l}$ ). Además en cada barra se muestra el número de sujetos por grupo. Las ratas fueron entrenadas con una intensidad de 1.0 mA.

Al realizar el análisis estadístico de las latencias de retención obtenidas durante la sesión de prueba realizada 48 horas después del entrenamiento, una prueba U de Mann Whitney mostró que hubo diferencias significativas entre ambos grupos ( $U = 0.00$ ,  $p = 0.0003$ ), ver Figura 27.

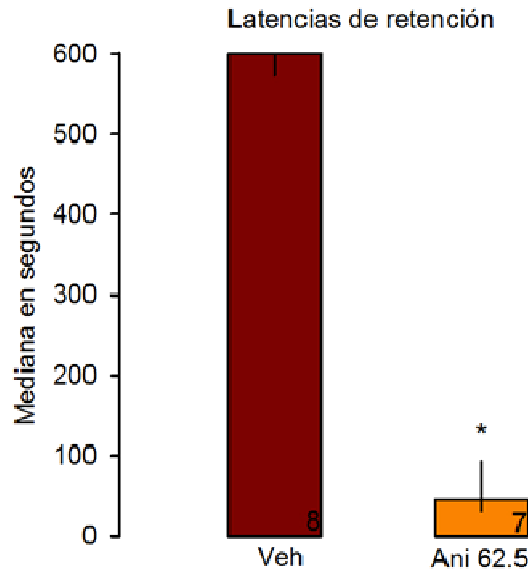


Figura 27. Latencias de retención en segundos. Se muestran las medianas así como sus rangos intercuartilares. Se muestran los grupos tratados tanto antes del entrenamiento como antes de la prueba de retención con vehículo (Veh) y con anisomicina (ANI) con una dosis de 62.5 µg/0.5 µl. Las ratas fueron entrenadas con una intensidad de 1.0 mA. Además en cada barra se muestra el número de sujetos por grupo. (\* diferencias significativas con el grupo Veh  $p < 0.05$ ).

Debido a los resultados obtenidos en este experimento en el cual se administró ANI antes del entrenamiento y de la prueba podemos asumir que el efecto amnésico de la administración de ANI en la amígdala se debió a la interferencia con los mecanismos de consolidación y no a un estado transitorio producido por el fármaco y que los efectos producidos por la administración de la ANI en la amígdala se circunscriben dentro de su acción como inhibidor de síntesis de proteínas y no por un posible contexto farmacológico inducido por la droga.

#### 8.4 Experimento 4. Efectos de la anisomicina en la memoria de corto plazo (30 minutos).

En este experimento se analizó el efecto de la ANI sobre la MCP, para ello se administró la dosis de ANI de 62.5 µg/0.5µl y se entrenó a las ratas en la tarea de EI con una intensidad de choque de 1.0 mA.

Intensidad del choque 1.0 mA



Fármaco	Veh	ANI
Dosis $\mu\text{g}/0.5\mu\text{l}$		62.5

Tabla 5. Diseño experimental de grupos independientes.

En la figura 28, se muestra el desarrollo temporal del experimento; se administró la ANI 30 minutos antes del entrenamiento y se realizaron 2 pruebas una a los 30 minutos.

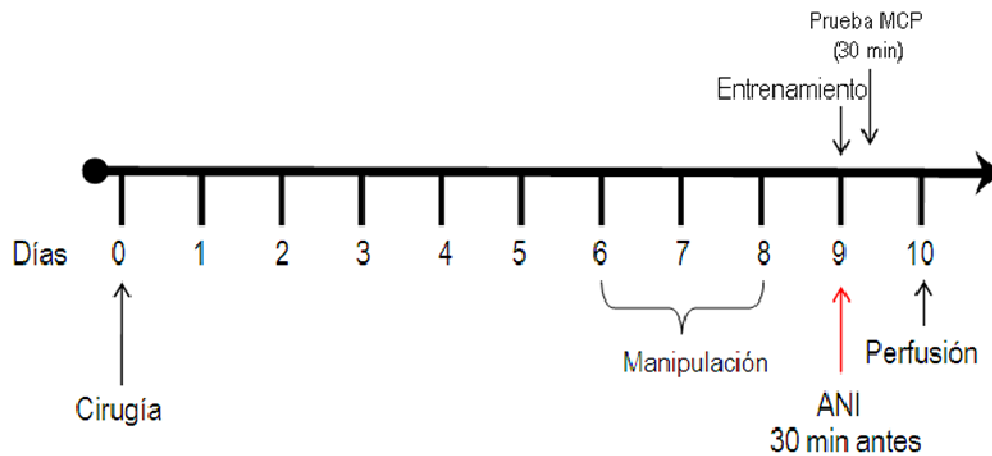


Figura 28. Desarrollo temporal del experimento 4.

#### 8.4.1 Resultados.

Al igual que en los experimentos previos no se encontraron diferencias significativas entre los grupos con respecto a las latencias de entrada ( $U = 31.0$ ,  $p = 0.9591$ , ver Figura 29), ni en las latencias de escape ( $U = 29.50$ ,  $p = 0.8785$ , ver Figura 30).

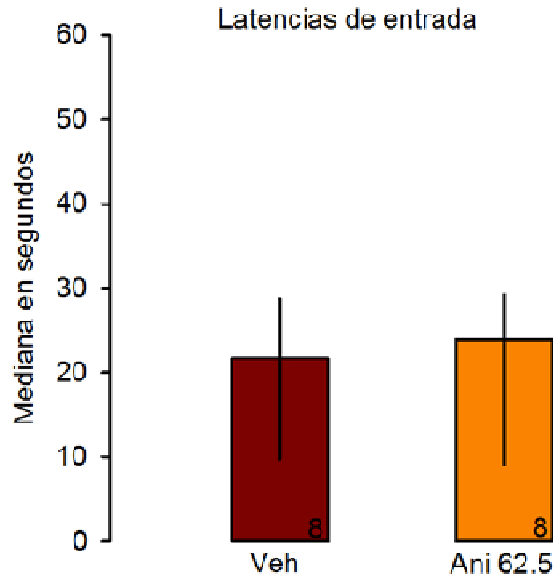


Figura 29. Latencias de entrada en segundos. Se muestran las medianas así como sus rangos intercuantiles. Se muestra el grupo vehículo (Veh) comparado contra el grupo ANI (62.5 µg/0.5 µl). Además en cada barra se muestra el número de sujetos por grupo. Las ratas fueron entrenadas con 1.0 mA.

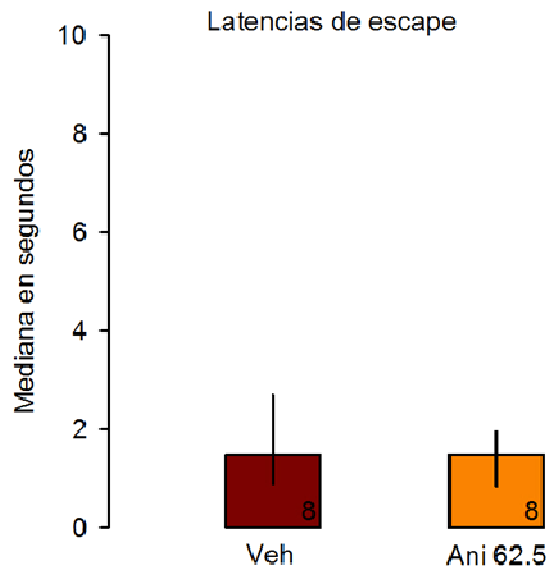


Figura 30. Latencias de escape en segundos. Se muestran las medianas así como sus rangos intercuantiles. Se muestra el grupo vehículo (Veh) comparado contra el grupo ANI (62.5 µg/0.5 µl). Además en cada barra se muestra el número de sujetos por grupo. Las ratas fueron entrenadas con 1.0 mA.

Al analizar las latencias de retención, la prueba U de Mann Whitney mostró que hubo diferencias significativas entre ambos grupos ( $U = 0.00$ ,  $p = 0.0002$ ), ver Figura 31.

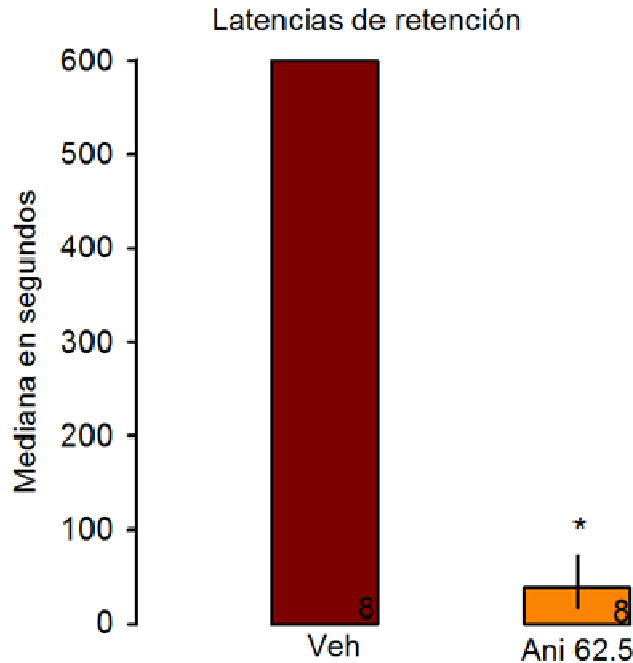


Figura 31. Latencias de retención en segundos. Se muestran las medianas así como sus rangos intercuartiles. Se muestra el grupo vehículo (Veh) comparado contra el grupo ANI (62.5  $\mu\text{g}/0.5 \mu\text{l}$ ). Además en cada barra se muestra el número de sujetos por grupo. Las ratas fueron entrenadas con 1.0 mA. (\*\* diferencias significativas con el grupo Veh  $p < 0.01$ ).

Los resultados obtenidos mostraron que la administración de ANI en una dosis de 62.5  $\mu\text{g}/0.5 \mu\text{l}$  en la amígdala bloquea la MCP de la tarea de EI al ser probada 30 minutos después del entrenamiento, estos resultados no concuerdan con datos reportados anteriormente en los que se ha descrito que los ISPs no interfieren con la MCP (Barondes & Cohen, 1965; Davis & Squire, 1984), bajo la premisa de que este proceso no requiere de la síntesis de proteínas de *novo*. Esta es la primera evidencia de que la administración de ANI administrada en la amígdala genera no sólo un déficit en la MLP, sino también en la MCP.

### 8.5 Experimento 5. Efectos de anisomicina sobre la memoria de corto plazo (4 horas).

Debido a que se encontró que la ANI administrada en la amígdala produce un efecto amnésico en la prueba de retención a los 30 minutos, se propuso que dicho efecto amnésico pudo deberse al hecho de que la liberación masiva de neurotransmisores reportada por Canal et al. (2007). Por ello se probó la memoria 4 horas después del entrenamiento, tiempo en el que dicha liberación de neurotransmisores ha regresado a

los niveles basales según lo reportado por ese grupo; para ello se administró la dosis de ANI de 62.5  $\mu\text{g}/0.5\mu\text{l}$  y se entrenó a las ratas en la tarea de EI con una intensidad de choque de 1.0 mA.

Intensidad del choque 1.0 mA		
Fármaco	Veh	ANI
Dosis $\mu\text{g}/0.5\mu\text{l}$		62.5

Tabla 6. Diseño experimental de grupos independientes.

En la figura 32, se muestra el desarrollo temporal del experimento; se administró la ANI 30 minutos antes del entrenamiento y se realizó la prueba de retención 4 horas después.

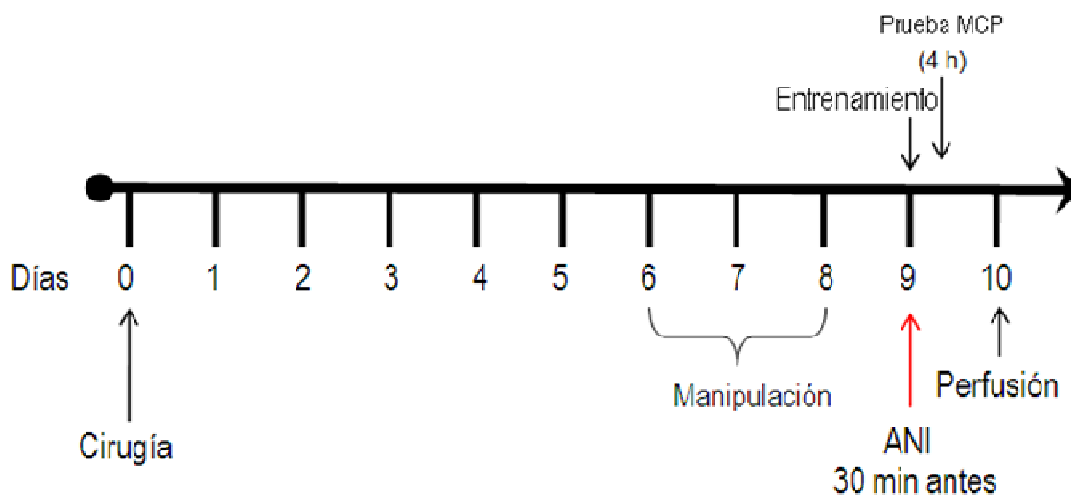


Figura 32. Desarrollo temporal del experimento 4b.

### 8.5.1 Resultados.

Al igual que en los experimentos previos no se encontraron diferencias significativas entre los grupos con respecto a las latencias de entrada ( $U = 21.5$ ,  $p = 0.5358$ , ver Figura 33), ni en las latencias de escape ( $U = 21.5$ ,  $p = 0.5358$ , ver Figura 34).

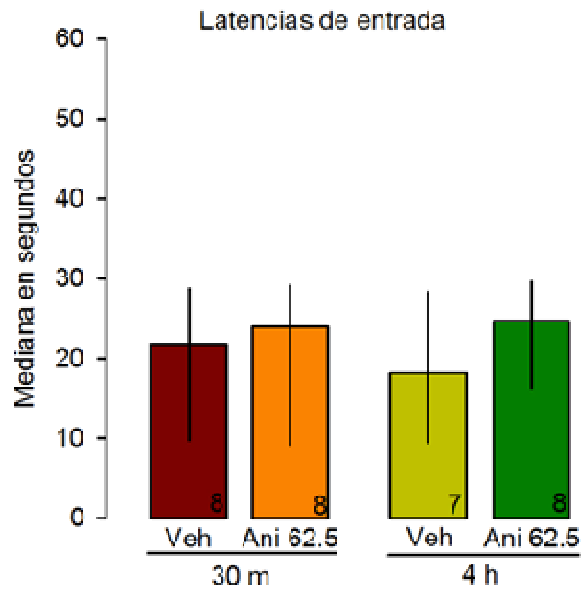


Figura 33. Latencias de entrada en segundos. Se muestran las medianas así como sus rangos intercuantiles. Se muestra el grupo vehículo (Veh) comparado contra el grupo ANI (62.5 µg/0.5µl). Además en cada barra se muestra el número de sujetos por grupo. Las ratas fueron entrenadas con 1.0 mA. Se muestran los datos obtenidos en el experimento 4 con fines de comparación.

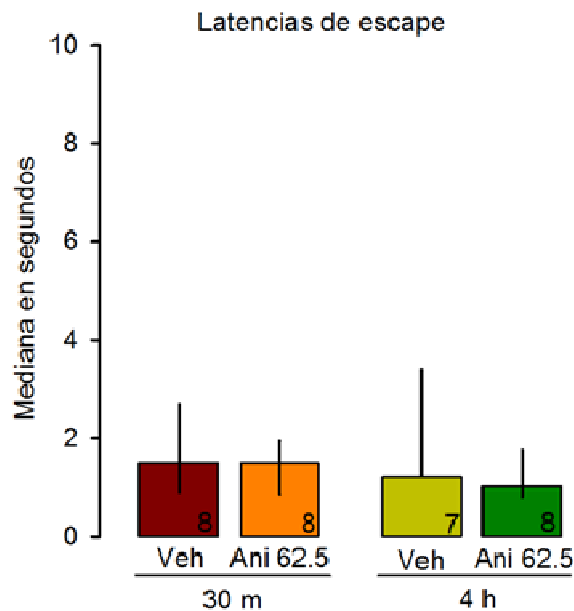


Figura 34. Latencias de escape en segundos. Se muestran las medianas así como sus rangos intercuantiles. Se muestra el grupo vehículo (Veh) comparado contra el grupo ANI (62.5 µg/0.5µl). Además en cada barra se muestra el número de sujetos por grupo. Las ratas fueron entrenadas con 1.0 mA. Se muestran los datos obtenidos en el experimento 4 con fines de comparación.

Al analizar las latencias de retención, la prueba U de Mann Whitney mostró que no hubo diferencias significativas entre los grupos durante la prueba de retención 4 horas después del entrenamiento ( $U = 24.5$ ,  $p = 0.7789$ ), ver Figura 35.

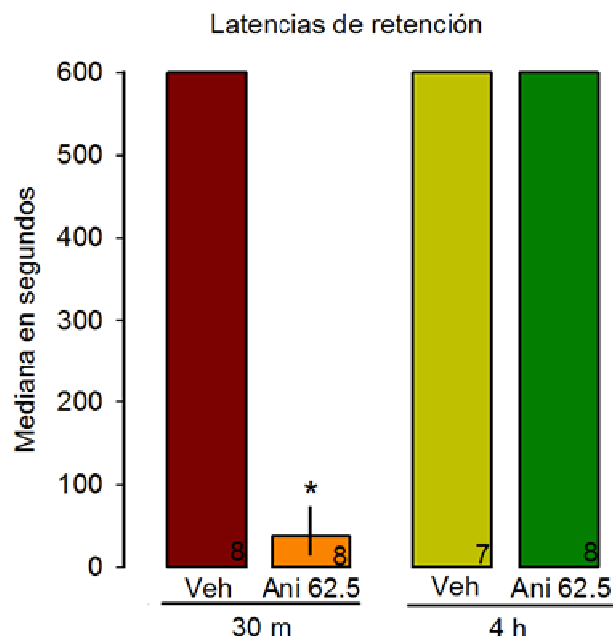


Figura 35. Latencias de retención en segundos de ratas a las que se realizó la prueba de retención a las 4 horas después del entrenamiento. Se muestran las medianas así como sus rangos intercuantiles. Se muestra el grupo vehículo (Veh) comparado contra el grupo ANI (62.5 µg/0.5µl). Además en cada barra se muestra el número de sujetos por grupo. Las ratas fueron entrenadas con 1.0 mA. Las ratas cuya retención fue medida 4 h después del entrenamiento tuvieron una ejecución óptima. Se muestran los datos obtenidos en el experimento 4 (retención a los 30 m) con fines de comparación.\* diferencias significativas con el grupo Veh  $p < 0.05$ .

Los resultados encontrados en este experimento concuerdan con investigaciones anteriores que reportan que la inhibición de la síntesis de proteínas *de novo* no es necesaria para la formación de la memoria de corto plazo. Al realizar la prueba de retención 4 horas después del entrenamiento no se encontró el efecto amnésico observado cuando se realizó la prueba de retención 30 minutos después del entrenamiento, esto puede ser debido a que, como se propuso, al realizar la prueba 4 horas después del entrenamiento se evita el efecto secundario de la anisomicina reportado por Canal et al. (2007).

### 8.6. Experimento 6. Efecto de las distintas intensidades de choque eléctrico sobre la extinción de la respuesta de evitación.

Debido a que el efecto protector del sobreforzamiento no se encontró al aumentar la intensidad del choque a 3 mA se propuso que la intensidad podría no ser la suficiente para generar el efecto protector. De esta manera se sometió a grupos independientes

de ratas al entrenamiento en la tarea de EI con 2 intensidades (1.0 mA y 3.0 mA) y posteriormente se llevo a cabo un procedimiento de extinción.

Intensidad de choque	1.0 mA	3.0 mA
	Veh	Veh

Tabla 7. Diseño experimental de grupos independientes.

En la figura 36, se muestra el desarrollo temporal del experimento; se administró la el vehículo 30 minutos antes del entrenamiento y se realizaron 7 sesiones de extinción en días consecutivos.

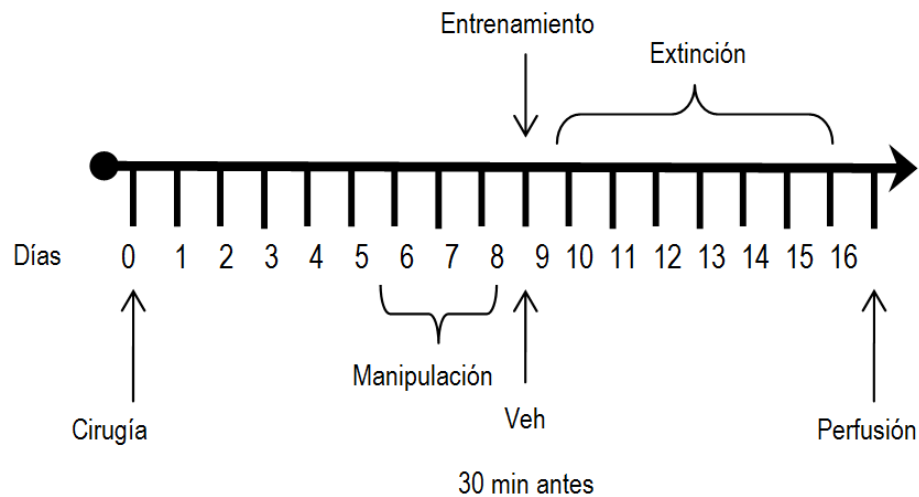


Figura 36. Desarrollo temporal del experimento 6.

### 8.6.1 Resultados

Al igual que en los experimentos previos no se encontraron diferencias significativas entre los grupos con respecto a las latencias de entrada ( $U = 3.00$ ,  $p = 0.7000$ , ver Figura 37), ni en las latencias de escape ( $U = 4.00$ ,  $p = 1.0000$ , ver Figura 38).

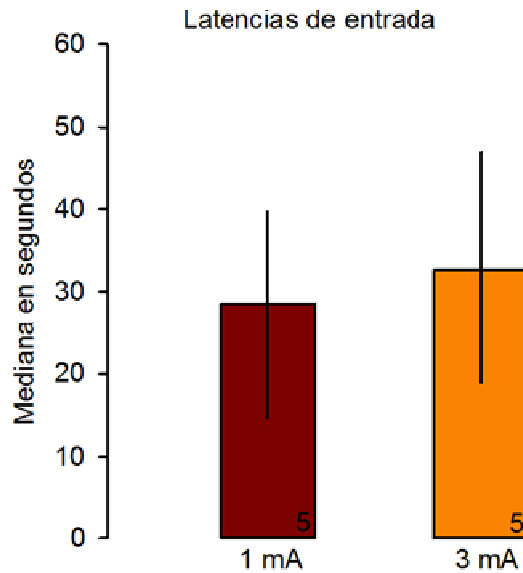


Figura 37. Latencias de entrada en segundos. Se muestran las medianas así como sus rangos intercuartiles. Se muestra el grupo 1.0 mA contra el grupo 3.0 mA. Además en cada barra se muestra el número de sujetos por grupo. Las ratas fueron inyectadas con vehículo.

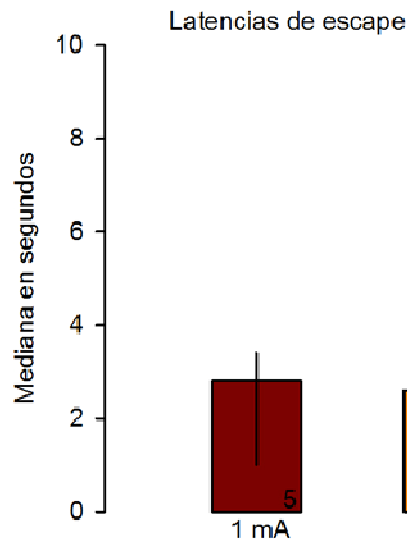


Figura 38. Latencias de escape en segundos. Se muestran las medianas así como sus rangos intercuartiles. Se muestra el grupo 1.0 mA contra el grupo 3.0 mA. Además en cada barra se muestra el número de sujetos por grupo. Las ratas fueron inyectadas con vehículo.

Para realizar el análisis de las sesiones de extinción se utilizó una prueba U de Mann Whitney para cada sesión, de esta manera se encontraron diferencias significativas en las sesiones 2 ( $U = 0.00$ ,  $p = 0.0079$ ), 3 ( $U = 0.00$ ,  $p = 0.0079$ ) y 4 ( $U = 2.00$ ,  $p = 0.0317$ ), ver Figura 37.



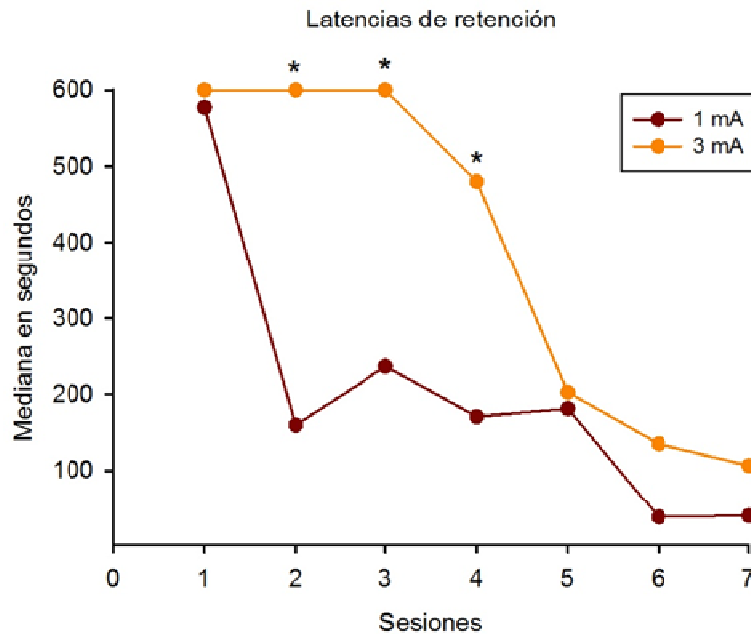


Figura 39. Latencias de retención en segundos. Se muestran las medianas de las latencias de retención para cada una de las 7 sesiones de extinción tanto para el grupo entrenado con 1.0 mA como para el grupo entrenado con 3.0 mA. (\* diferencias significativas entre los grupos para cada sesión  $p < 0.05$ ).

Los resultados encontrados concuerdan con lo reportado por Garín-Aguilar et al. (2012), ya que se encontró que al aumentar la intensidad del choque eléctrico a 3.0 mA la extinción de la respuesta tardó más tiempo en presentarse. De esta manera podemos estar seguros que el nivel de reforzamiento utilizado puede ser considerado como sobre reforzamiento.

## 9. DISCUSIÓN

En la actualidad las hipótesis que rigen mucha de la investigación en el campo de la consolidación de la memoria son: 1) que el paso requerido para que una MCP se transforme en una MLP es dependiente de síntesis de proteínas (Davis y Squire, 1984), 2) que este paso de la MCP a la MLP es lábil (Dudai, 2004), 3) que es dependiente del tiempo (McGaugh, 2000) y 4) que existen estructuras que intervienen de manera central la formación de la memorias (McGaugh, 2003).

Así, se ha encontrado consistentemente que aquellas sustancias que interfieren con la síntesis de proteínas evitan la consolidación de la memoria al ser administradas cerca del momento del entrenamiento. Sin embargo, existe otra serie de datos que

apunta a que la síntesis de proteínas puede ser innecesaria para el establecimiento de la memoria cuando la experiencia de aprendizaje es altamente emotiva: así, la consolidación se lleva a cabo aún cuando los inhibidores de síntesis de proteínas son administrados en momentos cercanos al aprendizaje, y esta experiencia de aprendizaje sobresale de lo convencional, por ejemplo, cuando se da un mayor número de ensayos o cuando se da un reforzador de mayor magnitud.

Así, se ha reportado que la interferencia con la actividad neuronal inducida por inactivación reversible (con KCl, lidocaína y TTX), o por el bloqueo de receptores a acetilcolina, serotonina y GABA, en el estriado, sustancia nigra, y el hipocampo, impide la consolidación de la memoria de aprendizajes mediados por niveles convencionales (relativamente bajos) de reforzamiento. Sin embargo, estos mismos tratamientos son inocuos cuando los animales son sometidos a un nivel de entrenamiento incrementado. Este efecto protector se ha descrito en tareas mediadas por reforzadores positivos (agua y leche) en tareas de libre operante (Razón Fija-1) en gatos y ratas y de alternancia espacial en ratas, así como con reforzadores negativos (choque eléctrico) en tareas de EI y de evitación activa en ratas (Prado-Alcalá et al., 1978, 1980; Prado-Alcalá y Cobos-Zapíaín, 1979; Giordano y Prado-Alcalá, 1986; Pérez-Ruiz y Prado-Alcalá, 1989; Durán-Arévalo, et al., 1990; Cruz-Morales et al., 1992; Quirarte et al., 1993). También es importante hacer notar que el efecto protector del entrenamiento incrementado se ha descrito cuando se administran sistémicamente inhibidores de la síntesis de proteínas, tanto antes como después del entrenamiento en EI (Díaz-Trujillo et al., 2009). Este efecto también fue encontrado en la tarea de evitación activa (Marín et al., 2008).

Debido a esta serie de datos experimentales se han propuesto dos posibles mecanismos como subyacentes a este proceso de protección contra la amnesia mediado por el sobreentrenamiento o el sobreforzamiento.

El primer mecanismo es que una experiencia altamente emotiva podría acelerar la consolidación de la memoria, de manera que se pueda prescindir de la síntesis de proteínas y se recurra a otros procesos que involucren la utilización de elementos neuronales disponibles en el momento más cercano al entrenamiento, como proteínas preexistentes y receptores que ayuden a establecer de manera confiable la memoria.

Otro mecanismo propuesto es que las distintas estructuras relacionadas con la memoria pudieran trabajar en paralelo, de manera que la información impactaría en todas logrando que aunque alguna de ellas haya sido selectivamente inactivada, i.e., mediante los inhibidores de la síntesis de proteínas, las demás estructuras sean capaces de llevar a cabo el proceso de consolidación.

Si bien ambas hipótesis parecen plausibles, ninguna de ellas da cuenta de los resultados obtenidos en este trabajo. El hecho de que la inhibición de la síntesis de proteínas en la amígdala haya tenido efectos amnésicos aún cuando las condiciones de entrenamiento hayan sido mayores a las convencionales (sobrerreforzamiento), no se podría explicar a través de un aceleramiento en la consolidación o un sistema de memoria que funciona con estructuras en paralelo.

El hecho de que en este trabajo de tesis, en el que encontramos que para la amígdala no se encuentra el efecto protector contra la amnesia al aumentar la intensidad del choque eléctrico durante el entrenamiento, es de gran importancia ya que por todos estos antecedentes, los resultados que ahora reportamos nos llevan a postular que la amígdala es una estructura fundamental para que se lleve a cabo el proceso de consolidación de la memoria (LeDoux, 1996, 2000; McGaugh et al., 1996), independientemente de las condiciones en las que se lleve a cabo el aprendizaje, es decir, que la amígdala es necesaria para el establecimiento de la memoria de largo plazo, independientemente de que el aprendizaje haya sido mediado por una intensidad mayor a la convencional de reforzador negativo.

Según lo reportado por McGaugh (2003), la amígdala basolateral (BLA) es la encargada de modular la consolidación de la memoria mediante la acción de las sustancias que se liberan en la glándula adrenal ante una situación de estrés, como es el caso de la tarea utilizada en este experimento, si bien la epinefrina liberada en las glándulas adrenales no logra atravesar la barrera hematoencefálica, actualmente se sabe que existen fibras ascendentes vagales que median la acción de la epinefrina en los sistemas centrales noradrenérgicos (Chen y Williams, 2012).

Así se ha propuesto que este incremento en los niveles de epinefrina actúa mediante las fibras vagales en la liberación de noradrenalina en la que a su vez modula

la actividad de otras estructuras como el hipocampo durante el establecimiento de memorias aversivas.

Si bien se sabe que se requiere de estas sustancias de manera endógena para el establecimiento de la MLP, un punto importante a considerar es el hecho de que el inhibidor de la síntesis de proteínas utilizado, ANI, además de interferir con la actividad de la peptidiltransferasa genera una liberación masiva de neurotransmisores al ser administrado en la amígdala (Canal, 2007). De esta manera, el incremento de la liberación de neurotransmisores podría, más que ayudar a la consolidación de la memoria, interferir con esta. En un trabajo realizado por Gold et al. en 2011 administraron lidocaína, un anestésico local, en la amígdala para evitar la liberación masiva de neurotransmisores ocasionada por la microinyección de anisomicina. Reportaron que en sujetos entrenados en la tarea de EI con un choque eléctrico de intensidad convencional (0.5 mA) la administración de lidocaína previo a la administración de ANI en la amígdala atenuaba la amnesia provocada por el inhibidor de la síntesis de proteínas. Además, mediante un análisis de la proteína c-fos, que se expresa después de situaciones de aprendizaje, la lidocaína no cambió la expresión de dicha proteína, de manera que podemos estar seguros que la reversión del efecto amnésico fue debida exclusivamente al impedimento de la liberación masiva de neurotransmisores.

Así, podemos pensar que en primer lugar la incapacidad de revertir el efecto amnésico causado por la ANI mediante el sobrerreforzamiento fue limitada no por el efecto de la inhibición de la síntesis de proteínas per sé, sino porque la cantidad masiva de neurotransmisores pudo haber interferido con este proceso y al ser la amígdala necesaria para la consolidación de memorias aversivas mediante la modulación de otras estructuras, dicha cantidad de neurotransmisores que excede los niveles basales por mucho impidió que el proceso de consolidación se llevara a cabo de manera correcta.

De manera similar, los datos acerca de las pruebas de memoria indican que la liberación masiva de neurotransmisores pudiera estar interfiriendo de manera importante con los procesos fisiológicos bajo los cuales se lleva a cabo la consolidación, ya que al realizar la prueba de retención a los 30 m, tiempo en el que los niveles de neurotransmisores aún se encuentran muy por encima del nivel basal debido

a la administración de la ANI (Gold, 2007), se encuentra un efecto de amnesia, siendo que se sabe que la memoria de corto plazo no requiere de la síntesis de proteínas. Además, el hecho de que al probar la memoria 4 horas después del entrenamiento, tiempo en el que los niveles de liberación neurotransmisores dependiente de ANI han disminuido, y cuando todavía persiste la inhibición de la síntesis proteínica, se puede ver que no existe efecto amnésico, indica que el proceso parece ser muy sensible ante el efecto de los neurotransmisores disponibles en tiempos cercanos a la experiencia, y que la exagerada liberación de neurotransmisores en la amígdala pudiera interferir con procesos relacionados con la mera ejecución de la respuesta condicionada, más que con los procesos mediadores de la memoria de corto plazo.

Sin embargo, aun no está claro el mecanismo molecular que media el efecto amnésico, ya que a pesar de que desde hace mucho se ha propuesto que los antibióticos como la ANI inhiben la síntesis de proteínas, estos autores demostraron que la administración intracraneal de la ANI en la amígdala se correlaciona con un incremento exacerbado en la liberación de neurotransmisores en dicha estructura.

## **10. CONCLUSIONES**

En ratas entrenadas en la tarea de evitación inhibitoria las tres dosis de ANI (31.25, 62.5 y 100  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ) administradas 30 minutos antes del entrenamiento en la amígdala tienen un efecto amnésico en la tarea de EI (experimento 1).

La administración de anisomicina en la amígdala interfiere con la consolidación de la memoria de EI, aún cuando se emplean intensidades altas de reforzamiento (3.0 mA). Debido a que el efecto protector del sobrerreforzamiento ante el tratamiento amnésico (ANI) no se presenta en el caso de la amígdala, es probable que dicha estructura sea indispensable para la consolidación de la tarea de EI (experimento 2).

Se descarta la posibilidad de que se presente un aprendizaje por dependencia de estado, por la administración de ANI previa al entrenamiento (experimento 3).

La administración de ANI en la amígdala tiene un efecto amnésico en la MCP probada a los 30 minutos (experimento 4), no siendo así cuando la prueba de retención se realizó a las 4 horas (experimento 5).

Finalmente la intensidad de choque mayor utilizada (3.0 mA) puede considerarse como un estímulo sobre- reforzante, ya que al someter a los sujetos a un procedimiento de extinción, éstos muestran una curva de extinción más lenta comparada con la de los sujetos entrenados con 1.0 mA (experimento 6).

## 11. REFERENCIAS

- Agranoff, B. W., Davis, R. E., & Brink, J. J. (1965). Memory fixation in the goldfish. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 54(3), 788-793.
- Ambrogio-Lorenzini, C. G., Baldi, E., Bucherelli, C., Sacchetti, B., & Tassoni, G. (1999). Neural topography and chronology of memory consolidation: A review of functional inactivation findings. *Neurobiology of Learning and Memory*, 71(1), 1-18.
- Aston-Jones, G., & Cohen, J. D. (2005). An integrative theory of locus coeruleus-norepinephrine function: Adaptive gain and optimal performance. *Annual Review of Neuroscience*, 28(1), 403-450.
- Barondes, S. H., & Cohen, H. D. (1966). Puromycin effect on successive phases of memory storage. *Science*, 151(710), 594-595.
- Barondes, S. H., & Cohen, H. D. (1967a). Comparative effects of cycloheximide and puromycin on cerebral protein synthesis and consolidation of memory in mice. *Brain Research*, 4(1), 44-51.
- Barondes, S. H., & Cohen, H. D. (1967b). Delayed and sustained effect of acetoxycycloheximide on memory in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 58(1), 157-164.
- Barrientos, R. M., O'Reilly, R. C., & Rudy, J. W. (2002). Memory for context is impaired by injecting anisomycin into dorsal hippocampus following context exploration. *Behavioural Brain Research*, 134(1-2), 299-306.
- Canal, C. E., Chang, Q., & Gold, P. E. (2007). Amnesia produced by altered release of neurotransmitters after intraamygdala injections of a protein synthesis inhibitor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(30), 12500-12505.
- Carpenter, M. B. (1994). Cuerpo estriado y núcleos relacionados En M. B. Carpenter (Ed.), *Neuroanatomía fundamentos* (pp. 311-343). Buenos Aires: Editorial Medica Panamericana
- Cruz-Morales, S. E., Durán-Arévalo, M., Díaz del Guante, M. A., Quirarte, G., & Prado-Alcalá, R. A. (1992). A threshold for the protective effect of over-reinforced passive avoidance against scopolamine-induced amnesia. *Behavioral and Neural Biology*, 57(3), 256-259.
- Chen, C. C., & Williams, C. L. (2012). Interactions between epinephrine, ascending vagal fibers, and central noradrenergic systems in modulating memory for emotionally arousing events. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 6, 35.
- Davis, H. P., Spanis, C. W., & Squire, L. R. (1976). Inhibition of cerebral protein synthesis: performance at different times after passive avoidance training. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 4(1), 13-16.
- Davis, H. P., & Squire, L. R. (1984). Protein synthesis and memory: a review. *Psychological Bulletin*, 96(3), 518-559.
- De Kloet, E. R. (2004). Hormones and the stressed brain. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1018, 1-15.
- Díaz-Trujillo, A., Contreras, J., Medina, A. C., Silveyra-León, G. A., Antaramian, A., Quirarte, G. L., & Prado-Alcalá, R. A. (2009). Enhanced inhibitory avoidance learning prevents the long-term memory-impairing effects of cycloheximide, a

- protein synthesis inhibitor. *Neurobiology of Learning and Memory*, 91(3), 310-314.
- Domjan, M. (2005). Pavlovian conditioning: a functional perspective. *Annual Review of Psychology*, 56, 179-206.
- Domjan, M. (2010). *Principios de aprendizaje y conducta* (6<sup>a</sup> ed.). México, DF: Cengage Learning Editores, S.A.
- Dudai, Y. (2004). The neurobiology of consolidations, or, how stable is the engram? *Annual Review of Psychology*, 55, 51-86.
- Durán-Arévalo, M., Cruz-Morales, S. E., & Prado-Alcalá, R. A. (1990). Is acetylcholine involved in memory consolidation of over-reinforced learning? *Brain Research Bulletin*, 24(6), 725-727.
- Ennis, H. L., & Lubin, M. (1964). Cycloheximide: Aspects of Inhibition of Protein Synthesis in Mammalian Cells. *Science*, 146, 1474-1476.
- Flexner, J. B., Flexner, L. B., & Stellar, E. (1963). Memory in mice as affected by intracerebral puromycin. *Science*, 141, 57-59.
- Flexner, L. B., Flexner, J. B., & Roberts, R. B. (1966). Stages of memory in mice treated with acetoxycycloheximide before or immediately after learning. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 56(2), 730-735.
- Flexner, L. B., Flexner, J. B., & Stellar, E. (1965). Memory and cerebral protein synthesis in mice as affected by graded amounts of puromycin. *Experimental Neurology*, 13(3), 264-272.
- Flood, J. F., Bennett, E. L., Orme, A. E., & Rosenzweig, M. R. (1975). Effects of protein synthesis inhibition on memory for active avoidance training. *Physiology & Behavior*, 14(2), 177-184.
- Flood, J. F., Smith, G. E., & Jarvik, M. E. (1980). A comparison of the effects of localized brain administration of catecholamine and protein synthesis inhibitors on memory processing. *Brain Research*, 197(1), 153-165.
- Garín-Aguilar, M. E., Díaz-Cintra, S., Quirarte, G. L., Aguilar-Vázquez, A., Medina, A. C., & Prado-Alcalá, R. A. (2012). Extinction procedure induces pruning of dendritic spines in CA1 hippocampal field depending on strength of training in rats. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 6, 12.
- Giordano, M., & Prado-Alcalá, R. A. (1986). Retrograde amnesia induced by post-trial injection of atropine into the caudate-putamen Protective effect of the negative reinforcer. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 24(4), 905-909.
- Gold, P. E. (2008). Protein synthesis inhibition and memory: formation vs amnesia. *Neurobiology of Learning and Memory*, 89(3), 201-211.
- Gold, P. E., Countryman, R. A., Dukala, D., & Chang, Q. (2011). Acetylcholine release in the hippocampus and prelimbic cortex during acquisition of a socially transmitted food preference. *Neurobiology of Learning and Memory*, 96(3), 498-503.
- Goldstein, D. S. (2003). Catecholamines and stress. *Endocrine Regulations*, 37(2), 69-80.
- Grecksch, G., & Matthies, H. (1980). Two sensitive periods for the amnesic effect of anisomycin. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 12(5), 663-665.
- Hebb, D. O. (1949). *The organization of behavior: A neuropsychological theory*. New York: John Wiley & Sons Inc.
- Hernandez, P. J., Sadeghian, K., & Kelley, A. E. (2002). Early consolidation of instrumental learning requires protein synthesis in the nucleus accumbens. *Nature Neuroscience*, 5(12), 1327-1331.



- Hilgard, E. R., & Bower, G. H. (1983). *Teorías del aprendizaje*. México: Trillas.
- Kameyama, T., Nabeshima, T., & Kozawa, T. (1986). The antagonistic effects of naloxone on cycloheximide and anisomycin-induced amnesia. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 25(3), 567-572.
- Kandel, E. R. (2001). The molecular biology of memory storage: a dialogue between genes and synapses. *Science*, 294(5544), 1030-1038.
- Katz, J. J., & Halstead, W. C. (1950). Protein organization and mental function. *Comparative Psychology Monographs*, 20, 1-38.
- Klann, E., & Dever, T. E. (2004). Biochemical mechanisms for translational regulation in synaptic plasticity. *Nature Reviews Neuroscience*, 5(12), 931-942.
- Korte, S. M. (2001). Corticosteroids in relation to fear, anxiety and psychopathology. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 25(2), 117-142.
- Lang, P. J., Davis, M., & Ohman, A. (2000). Fear and anxiety: animal models and human cognitive psychophysiology. *Journal of Affective Disorders*, 61(3), 137-159.
- LeDoux, J. (2007). The amygdala. *Current Biology*, 17(20), R868-R874.
- LeDoux, J. E. (1996). *The emotional brain: The mysterious underpinnings of emotional life*. New York: Simon & Schuster.
- LeDoux, J. E. (2000). Emotion circuits in the brain. *Annual Review of Neuroscience*, 23, 155-184.
- Ledoux, J. E., & Muller, J. (1997). Emotional memory and psychopathology. *Philosophical transactions of the Royal Society of London*, 352(1362), 1719-1726.
- Liang, K. C., McGaugh, J. L., Martinez, J. L., Jensen, R. A., Vasquez, B. J., & Messing, R. B. (1982). Post-training amygdaloid lesions impair retention of an inhibitory avoidance response. *Behavioural Brain Research*, 4(3), 237-249.
- Marín, V., Medina, A. C., Quirarte, G. L., & Prado-Alcalá, R. A. (2008). ¿Produce efectos amnésicos la inhibición de la síntesis de proteínas en ratas entrenadas en la tarea de evitación activa sobrerreforzada? En Jornadas del Instituto de Neurobiología, Campus UNAM Juriquilla, Qro.
- McCarty, R., & Gold, P. E. (1996). Catecholamines, stress, and disease: A psychobiological perspective. *Psychosomatic Medicine*, 58(6), 590-597.
- McEwen, B. S. (2003). Mood disorders and allostatic load. *Biological Psychiatry*, 54(3), 200-207.
- McGaugh, J. L. (2000). Memory—a century of consolidation. *Science*, 287(5451), 248-251.
- McGaugh, J. L. (2003). *Memory and Emotion: The Making of Lasting Memories*. London: Weidenfeld & Nicolson.
- McGaugh, J. L., Cahill, L., & Roozendaal, B. (1996). Involvement of the amygdala in memory storage: Interaction with other brain systems. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(24), 13508-13514.
- Meiri, N., & Rosenblum, K. (1998). Lateral ventricle injection of the protein synthesis inhibitor anisomycin impairs long-term memory in a spatial memory task. *Brain Research*, 789(1), 48-55.
- Müller, G. E., & Pilzecker, A. (1900). Experimentelle beiträge zur lehre vom gedächtnis. *Zeitschrift für Psychologie* 1, 1–288.
- Muñoz-Sánchez, S. (2010). Efectos de la inhibición de la síntesis de proteínas en la corteza insular sobre la consolidación de un aprendizaje incrementado en la

- tarea de evitación inhibitoria* (Tesis de Maestría en Ciencias). Instituto de Neurobiología, UNAM, Juriquilla, Qro.
- Paré, D. (2003). Role of the basolateral amygdala in memory consolidation. *Progress in Neurobiology*, 70(5), 409-420.
- Parent, M. B., & McGaugh, J. L. (1994). Posttraining infusion of lidocaine into the amygdala basolateral complex impairs retention of inhibitory avoidance training. *Brain Research*, 661(1-2), 97-103.
- Paxinos, G., & Watson, C. (2005). *The rat brain in stereotaxic coordinates* (4th ed.). San Diego: Academic Press.
- Pérez-Ruíz, C., & Prado-Alcalá, R. A. (1989). Retrograde amnesia induced by lidocaine injection into the striatum: Protective effect of the negative reinforcer. *Brain Research Bulletin*, 22(4), 599-603.
- Ploski, J. E., Park, K. W., Ping, J., Monsey, M. S., & Schafe, G. E. (2010). Identification of plasticity-associated genes regulated by Pavlovian fear conditioning in the lateral amygdala. *Journal of Neurochemistry*, 112(3), 636-650.
- Prado-Alcalá, R. A., Bermúdez-Rattoni, F., Velázquez-Martínez, D. N., & Bacha, G. (1978). Cholinergic blockade of the caudate nucleus and spatial alternation performance in rats: Overtraining induced protection against behavioral deficits. *Life Sciences*, 23(9), 889-896.
- Prado-Alcalá, R. A., Cobos-Zapíaín, G., Salado-Castillo, R., Quiroz Molina, C. R., Garín-Aguilar, M. E., Díaz, A., ... Quirarte, G. (2006). El aprendizaje incrementado protege a la memoria contra tratamientos amnésicos. *Revista Mexicana de Análisis de la Conducta*, 32, 203-218.
- Prado-Alcalá, R. A., & Cobos-Zapíaín, G. C. (1977). Learning deficits induced by cholinergic blockade of the caudate nucleus as a function of experience. *Brain Research*, 138(1), 190-196.
- Prado-Alcalá, R. A., & Cobos-Zapíaín, G. G. (1979). Interference with caudate nucleus activity by potassium chloride Evidence for a 'moving' engram. *Brain Research*, 172(3), 577-583.
- Prado-Alcalá, R. A., Díaz-Trujillo, A., Medina, A. C., Contreras, J., Silveyra-León, G. A., García-Torres, J., ... Quirarte, G.L. (2008). Papel de la síntesis de proteínas en la consolidación de la memoria. En C. Beas-Zárate, M. E. Ureña-Guerrero, A. Camings-Espuny & M. Pallas-Liberia (Eds.), *Temas Selectos en Neurobiología: Procesos Cognoscitivos y Mecanismos de Neurodegeneración* (pp. 299-313). Guadalajara, México: Universidad de Guadalajara.
- Prado-Alcalá, R. A., Kaufmann, P., & Moscona, R. (1980). Scopolamine and KCl injections into the caudate nucleus Overtraining-induced protection against deficits of learning. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 12(2), 249-253.
- Quirarte, G. L., Cruz-Morales, S. E., Díaz del Guante, M. A., García, M., & Prado-Alcalá, R. A. (1993). Protective effect of under-reinforcement of passive avoidance against scopolamine-induced amnesia. *Brain Research Bulletin*, 32(5), 521-524.
- Rainbow, T. C., Hoffman, P. L., & Flexner, L. B. (1980). Studies of memory: a reevaluation in mice of the effects of inhibitors on the rate of synthesis of cerebral proteins as related to amnesia. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 12(1), 79-84.
- Ramos, B. P., & Arnsten, A. F. (2007). Adrenergic pharmacology and cognition: focus on the prefrontal cortex. *Pharmacology & Therapeutics*, 113(3), 523-536.
- Rodríguez-Serrano, L. M. (2010). *Efectos de la microinyección de anisomicina en el hipocampo dorsal sobre la consolidación de la memoria de un aprendizaje*

- mediado por niveles altos y bajos de reforzamiento.* (Tesis de Maestría en Ciencias). Instituto de Neurobiología, UNAM, Juriquilla, Qro.
- Rodríguez-Serrano, L. M., Medina, A. C., Quirarte, G. L., & Prado-Alcalá, R. A. (2009). *Protein synthesis inhibition in dorsal hippocampus does not interfere with memory consolidation of enhanced inhibitory avoidance learning.* En 39th Annual Meeting, Society for Neuroscience, Chicago, U. S. A.
- Sah, P., Faber, E. S. L., De Armentia, M. L., & Power, J. (2003). The amygdaloid complex: Anatomy and physiology. *Physiological Reviews*, 83(3), 803-834.
- Salado-Castillo, R., Díaz del Guante, M. A., Alvarado, R., Quirarte, G. L., & Prado-Alcalá, R. A. (1996). Effects of regional GABAergic blockade of the striatum on memory consolidation. *Neurobiology of Learning and Memory*, 66(2), 102-108.
- Sapolsky, R. M. (2003). Stress and plasticity in the limbic system. *Neurochemical Research*, 28(11), 1735-1742.
- Sapolsky, R. M. (2004). *Why Zebras Don't Get Ulcers* New York: Owl Book/Henry Holt.
- Schreurs, J., Seelig, T., & Schulman, H. (1986). Beta-2-Adrenergic Receptors on Peripheral-Nerves. *Journal of Neurochemistry*, 46(1), 294-296.
- Serota, R. G. (1971). Acetoxycycloheximide and transient amnesia in the rat. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 68(6), 1249-1250.
- Squire, L. R., & Barondes, S. H. (1973). Memory impairment during prolonged training in mice given inhibitors of cerebral protein synthesis. *Brain Research*, 56, 215-225.
- Talarovicova, A., Krskova, L., & Kiss, A. (2007). Some assessments of the amygdala role in suprahypothalamic neuroendocrine regulation: a minireview. *Endocrine Regulations*, 41(4), 155-162.
- Thatcher, R. W., & Kimble, D. P. (1966). Effect of amygdaloid lesions on retention of an avoidance response in overtrained and non-overtrained rats. *Psychonomic Science*, 6, 9-10.
- Yarmolinsky, M. B., & Haba, G. L. (1959). Inhibition by Puromycin of Amino Acid Incorporation into Protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 45(12), 1721-1729.
- Wanisch K y Wotjak, CT 2008. Time course and efficiency of protein synthesis inhibition following intracerebral and systemic treatment. *Neurobiol Learn Mem*, 90: 485-494.
- Zukin, R. S., Richter, J. D., & Bagni, C. (2009). Signals, synapses, and synthesis: how new proteins control plasticity. *Frontiers in Neural Circuits*, 3, 14.

## 12. ÍNDICE DE ABREVIATURAS

**ANI** Anisomicina

**BLA** Amígdala basolateral

**cAMP** Adenosín monofosfato cíclico

**CAS** Condicionamiento aversivo a los sabores

**Ce** Amígdala central

**CREB** Elemento de unión a adenosín monofosfato cíclico

**CM** condicionamiento al miedo

**EA** evitación activa

**EI** Evitación inhibitoria

**EP** Evitación pasiva

**h** Horas

**HL** Hipotálamo lateral

**ISPs** Inhibidores de síntesis de proteínas

**ITC** Conexiones intra amigdalinas

**La** Amígdala lateral

**LAM** Laberinto acuático de Morris

**LCA** Laberinto de campo abierto

**LY** Laberinto en Y

**mA** Miliamperios

**MAPK** Proteína cinasa activada por mitógeno

**MCP** Memoria de corto plazo

**µg/µl** Microgramos por microlitro

**MLP** Memoria de largo plazo

**NPVH** núcleo paraventricular del hipotálamo

**PKA** Proteína cinasa A

**VEH** Vehículo

**RO** Reconocimiento de objetos

**s** Segundos

**SGPA** Sustancia gris periacueductal

## 13. ÍNDICE DE TABLAS

**Tabla 1.** Se resumen algunos trabajos en los que se han evaluado el efecto de Inhibidores de la síntesis de proteínas sobre la consolidación de la memoria, el nivel donde actúan, así como las tareas que comúnmente se utilizan para probar sus efectos. LY, laberinto en Y; LCA, laberinto de campo abierto; EP, evitación pasiva; EA, evitación activa; CAS, condicionamiento aversivo a los sabores; RO, reconocimiento de objetos; CM, condicionamiento al miedo; LAM, laberinto acuático de Morris.

**Tabla 2.** Diseño experimental de grupos independientes. (Experimento 1)

**Tabla 3.** Diseño experimental de grupos independientes. (Experimento 2)

**Tabla 4.** Diseño experimental de grupos independientes. (Experimento 3)

**Tabla 5.** Diseño experimental de grupos independientes. (Experimento 4a)

**Tabla 6.** Diseño experimental de grupos independientes. (Experimento 4b)

**Tabla 7.** Diseño experimental de grupos independientes. (Experimento 5)

## 14. ÍNDICE DE FIGURAS

**Figura 1.** Memorias declarativa y no declarativas.

**Figura 2.** Memoria de corto plazo (MCP) y memoria de largo plazo (MLP).

**Figura 3.** Esquema de la síntesis de proteínas.

**Figura 4.** Se muestran algunos procesos moleculares que ocurren durante el establecimiento de la memoria a corto plazo y la memoria a largo plazo.

**Figura 5.** Esquema de la amígdala.

**Figura 6.** Esquema que muestra la integración de la información durante el condicionamiento aversivo en la amígdala.

**Figura 7.** Se muestran los resultados obtenidos por Liang et al. (1982).

**Figura 8.** Se muestran los resultados obtenidos por Parent y McGaugh (1994).

**Figura 9.** Se muestran los resultados obtenidos por Canal et al. (2007).

**Figura 10.** Se muestran los resultados obtenidos por Canal et al. (2007).

**Figura 11.** Curvas de extinción de grupos de ratas que recibieron 1.0, 2.0, ó 3.0 mA durante el entrenamiento de evitación inhibitoria.

**Figura 12.** Cirugía estereotáxica.

**Figura 13.** Bomba de infusión lenta e inyectores.

**Figura 14.** Cámara de EI.

**Figura 15.** Se muestra una imagen de un corte coronal de cerebro de rata con una cánula implantada en amígdala del hemisferio izquierdo.

**Figura 16.** Desarrollo temporal del experimento 1.

**Figura 17.** Latencias de entrada en segundos.

**Figura 18.** Latencias de escape en segundos.

**Figura 19.** Latencias de retención en segundos.

**Figura 20.** Desarrollo temporal del experimento 2.

**Figura 21.** Latencias de entrada en segundos.

**Figura 22.** Latencias de escape en segundos.

**Figura 23.** Latencias de retención en segundos.

**Figura 24.** Desarrollo temporal del experimento 3.

**Figura 25.** Latencias de entrada en segundos.

**Figura 26.** Latencias de escape en segundos.

**Figura 27.** Latencias de retención en segundos.

**Figura 28.** Desarrollo temporal del experimento 4

**Figura 29.** Latencias de entrada en segundos.

**Figura 30.** Latencias de escape en segundos.

**Figura 31.** Latencias de retención en segundos.

**Figura 32.** Desarrollo temporal del experimento 5.

**Figura 33.** Latencias de entrada en segundos.

**Figura 34.** Latencias de escape en segundos.

**Figura 35.** Latencias de retención en segundos.

**Figura 36.** Desarrollo temporal del experimento6.

**Figura 37.** Latencias de entrada en segundos.

**Figura 38.** Latencias de escape en segundos.

**Figura 39.** Latencias de retención en segundos.