



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS  
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA**

**POSIBLE MODULACIÓN DE LOS CORTICOSTEROIDES SOBRE  
EL SISTEMA COLINÉRGICO ESTRIATAL INVOLUCRADO EN LA  
MEMORIA**

**T E S I S**

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE  
DOCTOR EN CIENCIAS BIOMÉDICAS**

**PRESENTA:**

**MÉDICO CIRUJANO OSCAR SÁNCHEZ RESENDIS**

**TUTORA**

**DRA. GINA LORENA QUIRARTE  
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA, UNAM**

**COMITÉ TUTOR**

**DR. RAÚL GERARDO PAREDES GUERRERO  
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA, UNAM**

**DRA. MARTHA LILIA ESCOBAR RODRÍGUEZ  
FACULTAD DE PSICOLOGIA, UNAM**

**MÉXICO D.F., ENERO 2013**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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

**MÉXICO, ENERO 2013**  
**Universidad Nacional Autónoma de México**  
Instituto de Neurobiología

Los miembros del Comité tutelar certificamos que la tesis elaborada por: Oscar Sánchez Resendis, cuyo título es: *“Posible modulación de los corticosteroides sobre el sistema colinérgico estriatal involucrado en la memoria”* se presenta como uno de los requisitos para obtener el grado de Doctor 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. Selva Rivas Arancibia

\_\_\_\_\_

Secretario Dra. Gina Lorena Quirarte

\_\_\_\_\_

Vocal Dra. María Isabel Miranda Saucedo

\_\_\_\_\_

Vocal Dra. Laura Cristina Berumen Segura

\_\_\_\_\_

Suplente Dra. María Teresa Morales Guzmán

\_\_\_\_\_

Aprobado por el Comité Académico

## AGRADECIMIENTOS

A Dios, punto angular de mi fe y esperanza de vida.

A mi esposa Lupita y mis hijos Hilda Guadalupe y Oscar Eduardo por su apoyo y paciencia todos estos años.

A mis Padres y hermanos por toda esa vida compartida

A la Dra. Gina Lorena Quirarte por su paciencia y ejemplo profesional, por entender mis aspiraciones académicas y permitirme ingresar, estudiar y terminar mis estudios de Doctorado.

Al Laboratorio de Aprendizaje y Memoria, Departamento de Neurobiología Conductual y Cognitiva, Instituto de Neurobiología, Campus Juriquilla, UNAM.

Al Dr. Roberto A. Prado Alcalá por compartir sus enseñanzas y además su ejemplo como investigador y académico.

Al Dr. Benno Roozendaal por su gran contribución para el desarrollo del artículo indispensable para lograr el grado de Doctor objetivo de mis estudios.

Al comité doctoral integrado por la Dra. Martha Escobar Rodríguez, el Dr. Raúl Paredes Guerrero, el Dr. Marco Antonio Sánchez Ramos, por el apoyo y la orientación durante todos estos años de estudios doctorales.

A la Dra. Andrea Cristina Medina Fragoso, por su amistad, apoyo desinteresado sin lo cual no habría logrado este paso.

A la M.V.Z. Norma Serafín López por su valioso apoyo en la preparación de esta tesis.

Al Sr. Ángel Méndez Olalde por su amistad y apoyo en el manejo del bioterio del laboratorio.

A la Dirección General de estudios de posgrado de la UNAM, número de cuenta 90854363.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por el apoyo financiero brindado. Proyecto de Investigación en Ciencias Básicas 130524 y beca para realizar estudios de doctorado 163171.

Al programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (Proyecto PAPIIT-UNAM-IN214111) de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico, Universidad Nacional Autónoma de México.

A las siguientes personas de las unidades de apoyo:

Biblioteca: Dr. Francisco Javier Valles Valenzuela y Lic. Soledad Medina Malagón.

Cómputo: Ing. Ramón Martínez Olvera, Ing. Alberto Lara e Ing. Omar González.

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

Enseñanza: M. en C. Leonor Casanova Rico.

## SABIDURIA

Sabiduría significativa “Saber lo que sabes y conocer lo que no sabes”, lograr de un equilibrio entre la arrogancia (Suponer que sabes más de lo que sabes en realidad) y la inseguridad (creer que sabes muy poco como para actuar). Esta actitud permite que las personas actúen con base en sus conocimientos actuales, al tiempo duda de lo que sabe. Significa que hacen las cosas en este momento, al tiempo que siguen aprendiendo en el camino.

Pfeffer y Sutton

## ÍNDICE

<b>RESUMEN</b>	<b>000</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>000</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	<b>000</b>
<b>II. ANTECEDENTES</b>	<b>000</b>
<b>1. Conceptos básicos sobre aprendizaje y memoria</b>	<b>000</b>
<b>2. Aspectos básicos de la neurotransmisión y la LTP</b>	<b>000</b>
<b>3. Bioquímica de los corticosteroides</b>	<b>000</b>
<b>4. Los ganglios basales</b>	<b>000</b>
a) <b>Conceptos generales</b>	<b>000</b>
b) <b>Orígenes evolutivos</b>	<b>000</b>
c) <b>Anatomía e histología</b>	<b>000</b>
d) <b>Circuitos de entrada</b>	<b>000</b>
e) <b>Conexiones e interneuronas</b>	<b>000</b>
f) <b>Circuitos de salida</b>	<b>000</b>
<b>5. Aspectos neuroanatómicos y neuroquímicos del estriado</b>	<b>000</b>
a) <b>Origen embrionario</b>	<b>000</b>
b) <b>Características neuronales y tipos de conexiones neuronales del estriado</b>	<b>000</b>
c) <b>Compartamentalización</b>	<b>000</b>
d) <b>Concepto de vía directa e indirecta</b>	<b>000</b>
e) <b>Funciones e integración</b>	<b>000</b>



<b>6. Los glucocorticoides y la memoria</b>	<b>000</b>
<b>7. La actividad colinérgica del estriado y la memoria</b>	<b>000</b>
<b>III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	<b>000</b>
<b>IV. HIPÓTESIS</b>	
<b>V. OBJETIVOS</b>	
a) <b>Objetivo general</b>	<b>000</b>
b) <b>Objetivos específicos</b>	<b>000</b>
<b>VI. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>000</b>
a) <b>Sujetos</b>	<b>000</b>
b) <b>Cirugía</b>	<b>000</b>
c) <b>Aparatos</b>	<b>000</b>
d) <b>Entrenamiento</b>	<b>000</b>
e) <b>Grupos y tratamientos</b>	<b>000</b>
f) <b>Administración de sustancias</b>	<b>000</b>
g) <b>Histología</b>	<b>000</b>
h) <b>Análisis estadístico</b>	<b>000</b>
<b>VII. RESULTADOS</b>	<b>000</b>
<b>Experimento 1</b>	<b>000</b>
<b>Experimento 2</b>	<b>000</b>
<b>Experimento 3</b>	<b>000</b>
<b>Experimento 4</b>	<b>000</b>
<b>VIII. DISCUSIÓN</b>	<b>000</b>
<b>IX. REFERENCIAS</b>	<b>000</b>
<b>X. CONCLUSIONES</b>	<b>000</b>
<b>XI. ANEXOS</b>	<b>000</b>

## RESUMEN

Un gran número de evidencias indican que las hormonas glucocorticoides actúan en varias regiones cerebrales para mejorar la consolidación de la memoria emocional. Nosotros previamente reportamos que la corticosterona, el principal glucocorticoide en la rata, administrado en el estriado dorsal inmediatamente después de un entrenamiento de evitación inhibitoria, tiene efectos dosis dependientes, mejorando la consolidación de la memoria en esta tarea. También existen evidencias de que la actividad colinérgica intrínseca del estriado dorsal está importantemente involucrada en la consolidación de la memoria de una tarea de evitación inhibitoria. Sin embargo, actualmente se desconoce, si estos dos sistemas neuromoduladores interactúan dentro del estriado dorsal en la formación de la memoria de largo plazo. Con esta finalidad, primero investigamos en ratas machos Wistar, si el agonista de los receptores muscarínicos, oxotremorina, administrado en el estriado dorsal inmediatamente después de un entrenamiento de evitación inhibitoria, mejora la retención de la memoria a las 48 horas del entrenamiento. Subsecuentemente examinamos si una atenuación de las señales de los glucocorticoides, administrando en forma sistémica el inhibidor de la síntesis de glucocorticoides metirapona, o intraestriatalmente el antagonista de los receptores a glucocorticoides RU 38486 pudieran bloquear el mejoramiento de la memoria inducido por la oxotremorina. Nuestros hallazgos indican que la oxotremorina, mejora de forma dosis dependiente la latencia de retención probada a las 48 horas, pero la administración de metirapona o RU 38486 previenen el efecto de mejoramiento de la memoria observado con la oxotremorina. En un último experimento, la corticosterona fue administrada en el estriado dorsal junto con escopolamina, un antagonista de los receptores muscarínicos, inmediatamente después del entrenamiento de evitación inhibitoria. La escopolamina bloqueó el efecto de mejoría de la corticosterona sobre la retención observada a las 48 horas. Esos hallazgos indican que hay una mutua interacción entre los glucocorticoides y el sistema colinérgico estriatal en la consolidación de la memoria de una tarea de evitación inhibitoria.

## ABSTRACT

Extensive evidence indicates that glucocorticoid hormones act in a variety of brain regions to enhance the memory consolidation of emotionally motivated training experiences. We previously reported that corticosterone, the major glucocorticoid in the rat, administered into the dorsal striatum immediately after inhibitory avoidance training dose-dependently enhances memory consolidation of this training. There is also abundant evidence that the intrinsic cholinergic system of the dorsal striatum is importantly involved in memory consolidation of inhibitory avoidance training. However, it is presently unknown whether these two neuromodulatory systems interact within the dorsal striatum in the formation of long-term memory. To address this issue, we first investigated in male Wistar rats whether the muscarinic receptor agonist oxotremorine administered into the dorsal striatum immediately after inhibitory avoidance training enhances 48-h retention of the training. Subsequently, we examined whether an attenuation of glucocorticoid signaling by either a systemic administration of the corticosterone-synthesis inhibitor metyrapone or an intrastriatal infusion of the glucocorticoid receptor antagonist RU 38486 would block the memory enhancement induced by oxotremorine. Our findings indicate that oxotremorine dose-dependently enhanced 48-h retention latencies, but that the administration of either metyrapone or RU 38486 prevented the memory-enhancing effect of oxotremorine. In the last experiment, corticosterone was infused into the dorsal striatum together with the muscarinic receptor antagonist scopolamine immediately after inhibitory avoidance training. Scopolamine blocked the enhancing effect of corticosterone on 48-h retention performance. These findings indicate that there are mutual interactions between glucocorticoids and the striatal cholinergic system in enhancing the consolidation of memory of inhibitory avoidance training.

## I. INTRODUCCIÓN

Desde hace muchos años se ha desarrollado una actividad constante en la investigación de la fisiología de la memoria. El desarrollo de opciones terapéuticas adecuadas depende de la investigación básica para conocer el funcionamiento de la memoria normal (Baddeley, 1995).

Existen varias estructuras cerebrales que participan en la consolidación de la memoria, como son la amígdala, el hipocampo y el estriado cada una de ellas funcionan independientemente pero a su vez influyen sobre otras estructuras. Asimismo cada estructura es importante para procesar diferentes tipos de información como son: señales en un contexto espacial, los movimientos que se deben realizar, la motivación, las sensaciones, etc. La integración y el funcionamiento adecuado de estas estructuras son indispensables para una consolidación adecuada de la memoria (White & McDonald, 2002).

Una de las estructuras cerebrales más estudiadas en relación a los procesos del aprendizaje y la memoria es el estriado. Las primeras evidencias señalaron que cuando se interfiere con su actividad normal, ya sea a través de su lesión (Divac & Oberg, 1979; Dunnett & Iversen, 1981; Glick & Greenstein, 1973; Kirkby & Kimble, 1968; Mitcham & Thomas, 1972; Sandberg, Sanberg, Hanin, Fisher, & Coyle, 1984) o con la actividad electrofisiológica de la estructura (Prado-Alcalá et al., 1972; Prado-Alcalá et al., 1975; Prado-Alcalá, Kaufmann, & Moscona, 1980b; Wyers, Deadwyler, Hirasuna, & Montgomery, 1973), el sujeto presenta una deficiencia en la respuesta condicionada estudiada.

Otros grupos de estudios, han reportado que si se altera la actividad neuroquímica del estriado, como la dopaminérgica (Fibiger, Phillips, & Zis, 1974; Kim & Routtenberg, 1976; Staubli & Huston, 1978), la GABAérgica (Salado-Castillo, Díaz del Guante, Alvarado, Quirarte, & Prado-Alcalá, 1996), la colinérgica (Gold, 2003; Haycock, Deadwyler, Sideroff, & McGaugh, 1973; Neill & Grossman, 1970; Prado-Alcalá et al., 1972) y la de los glucocorticoides (Medina et al., 2007; Quirarte, de la Teja, Casillas, Serafín, Prado-Alcalá, & Roozendaal, 2009) también se modifica la respuesta aprendida.

Una de las tareas más utilizadas, en la cual se sabe que está involucrado el estriado, es la de evitación inhibitoria. Se ha reportado que sí se administra en el estriado antero-dorsal, poco después del entrenamiento, escopolamina o atropina (bloqueadores colinérgicos), la retención medida 24 horas después disminuye (Giordano & Prado-Alcalá, 1986; Haycock et al., 1973; Prado-Alcalá, 1985; Prado-Alcalá, Signoret-Edward, Figueroa, Giordano, & Barrientos, 1984b; Prado-Alcalá, Signoret, & Figueroa, 1981; Rosenzweig, 1996). Además, se ha observado que al incrementar la dosis de atropina aumenta la magnitud de la amnesia producida; y sí el bloqueo intraestriatal es más cercano en tiempo al momento del entrenamiento se observa el mismo efecto (Giordano & Prado-Alcalá, 1986; Prado-Alcalá, 1985; Prado-Alcalá, Cruz-Morales, & Lopez-Miro, 1980a; Prado-Alcalá et al., 1972; Prado-Alcalá et al., 1981). Por el contrario, si se administra colina, un precursor de la acetilcolina, se mejora la adquisición, la consolidación y el desarrollo de la respuesta condicionada instrumental (Díaz del Guante et al., 1993).

Se sabe que las hormonas adrenales afectan los procesos tanto del aprendizaje como de la memoria en tareas aversivas (Cahill, Roozendaal, & McGaugh, 1997). Gold y van Buskirk (1976) inyectaron la hormona epinefrina en ratas entrenadas en un paradigma aversivo de un solo ensayo (evitación inhibitoria). La epinefrina administrada inmediatamente después del aprendizaje mejoró la memoria. Sin embargo los efectos se encontraron solamente cuando se administró inmediatamente después del entrenamiento. Se obtuvo una curva dosis-respuesta en forma de U invertida, en donde los efectos óptimos de la mejoría se encontraron con las dosis medianas, mientras que las bajas o altas fueron menos efectivas.

También las hormonas adrenocorticales están involucradas en el almacenamiento de la memoria (Luine, 1994; Park et al., 2006; Sandi, 1998; Sapolsky, 1985). Se ha observado que la adrenalectomía deteriora la memoria espacial de ratas entrenadas en una tarea de laberinto de agua similar a lo que ocurre con la epinefrina. En un paradigma de evitación inhibitoria se ha encontrado que los efectos de los corticosteroides sobre la memoria son dosis dependientes, y presentan una curva de U invertida en donde dosis bajas no tienen efecto, dosis medianas producen mejoría, mientras que dosis altas producen deterioro en la retención de la memoria (Cottrell & Nakajima, 1977; Kovács, Telegdy, & Lissák, 1977).

Los corticosteroides liberados entran rápidamente al cerebro. En el cerebro de la rata existen dos tipos de receptores para los corticosteroides: los receptores a mineralocorticoides (MR o Tipo I) y los receptores a glucocorticoides (GR o Tipo II) (de Kloet, 1991; McEwen, Weiss, & Schwartz, 1968). Estos receptores difieren en su afinidad a la corticosterona, y sus ligandos sintéticos. Los MR tienen mayor afinidad a la corticosterona, mientras que los GR tienen alta afinidad a la dexametasona y al RU 28362, pero 10 veces menor afinidad que los MR a la corticosterona natural (Reul & de Kloet, 1985; Reul, de Kloet, van Sluijs, Rijnberk, & Rothuizen, 1990; Sutanto & de Kloet, 1987). Los MR son ocupados, cuando el organismo se encuentra en situaciones basales, por la corticosterona circulante, mientras que los GR llegan a ser ocupados durante el estrés (Abrari, Rashidy-Pour, Semnani, & Fathollahi, 2009; Khaksari, Rashidy-Pour, & Vafaei, 2007).

Con métodos inmunohistoquímicos y de hibridación *in situ* se conoce la topografía de los MR y los GR en ratas intactas y se sabe que existen GR en el sistema límbico (hipocampo y septum) en el núcleo paraventricular del hipotálamo, en algunos núcleos talámicos, en el núcleo central de la amígdala y en las áreas estriatales en parche (de Kloet, Oitzl, & Jöels, 1993; Fuxe et al., 1985). Los MR existen en alta densidad en el área CA2, en el subículo dorso medial CA1, CA3, CA4 y en el giro dentado. También se han observado en el hipotálamo anterior, en el plexo coroideo y en el estriado. En el caudado-putamen un subgrupo de neuronas mostró incremento, principalmente citoplasmático, de receptores tipo II. La inmunorreactividad en esas neuronas fue abolida por el tratamiento con corticosterona a los 5 minutos y con aldosterona a los 2 minutos (Ahima, Krozowski, & Harlan, 1991; Ahima & Harlan, 1991).

A pesar de las evidencias que indican que los corticosteroides intervienen en el establecimiento de la memoria, poco se sabe acerca de la participación directa en los procesos de la memoria de los GR y de los MR en las diferentes estructuras cerebrales (Khaksari et al., 2007). En el presente estudio realizamos experimentos encaminados a investigar la posible participación de los GR estriatales en los procesos mnemónicos, así como la posible interacción de estos receptores con la actividad colinérgica estriatal.

## II. ANTECEDENTES

### 1. Conceptos básicos sobre el aprendizaje y la memoria

Los organismos vivos que constituyen el reino animal pueden cambiar sus respuestas ante cada evento que se presenta en el transcurso de su vida y de esta manera han podido adaptarse y sobrevivir en el medio ambiente que los rodea. El organismo además de recibir información, codificarla, procesarla y generar una respuesta, tiene que retenerla con la finalidad de que le sea útil en otra situación similar y así poder enriquecer su repertorio conductual o simplemente condicionar una respuesta de reflejo. A estos procesos se les conoce como aprendizaje y memoria. El aprendizaje es un cambio más o menos permanente de la conducta, derivado de cuando menos una experiencia previa y que no depende de procesos de maduración, fatiga o efectos pasajeros de algún fármaco. El proceso de la memoria hace referencia a la persistencia del aprendizaje en un estado que puede ser revelado después, en otro momento. La memoria es la usual consecuencia del aprendizaje. Ambos procesos permiten al organismo dar continuidad a la serie de experiencias pasadas y presentes, y como consecuencia tiene mayor éxito en seguir siendo parte del ecosistema al que pertenece. El estudio de los procesos del aprendizaje y de la memoria se inicia a finales del siglo XIX. Hermann Ebbinghaus (1885) propone que existe una memoria de corta vida que es retenida por algunos minutos y una de larga vida que persiste por días o meses. Más tarde William James (1890) distingue entre memoria primaria y secundaria. La memoria primaria descrita por él actualmente es llamada inmediata y se refiere a la información que se extiende a nuestros pensamientos inmediatos y puede extenderse a lo que llamamos memoria de trabajo (Baddeley, 1995). La memoria secundaria es ahora conocida como memoria de largo plazo (James, 1890).

La memoria de corto plazo tiene varias características: es transitoria, no requiere de cambios estructurales ni síntesis de proteínas. Un hecho puede ser representado inicialmente en la memoria inmediata, su representación pasa a la memoria de trabajo y si persiste se puede convertir en memoria de largo plazo. La memoria de largo plazo puede

ser estabilizada por cambios estructurales, y se sabe que en este proceso es indispensable la síntesis de proteínas. Muchos investigadores han buscado el lugar donde se encuentra la memoria (engrama), entre ellos, Karl Lashley (1950) que pensó que sí el aprendizaje depende de nuevas conexiones entre dos áreas del cerebro, al cortar en algún lugar interrumpiría esas conexiones y aboliría la respuesta aprendida, con esta finalidad realizó múltiples cortes en diferentes áreas de la corteza cerebral en ratas y sin embargo no pudo abolir dicha respuesta. Él propuso la teoría de acción de masas que menciona que los daños en la memoria están correlacionados con la dimensión del área dañada o removida en el cerebro, más que con una localización específica. Donald Hebb (1949) sugirió que la conexión de las células distribuidas en la corteza cerebral trabajan juntas para representar y procesar la información, y que no existe una simple región de la memoria pues muchas partes del cerebro participan en la representación de un evento (Figura 1) (Kandel & Squire, 2000).

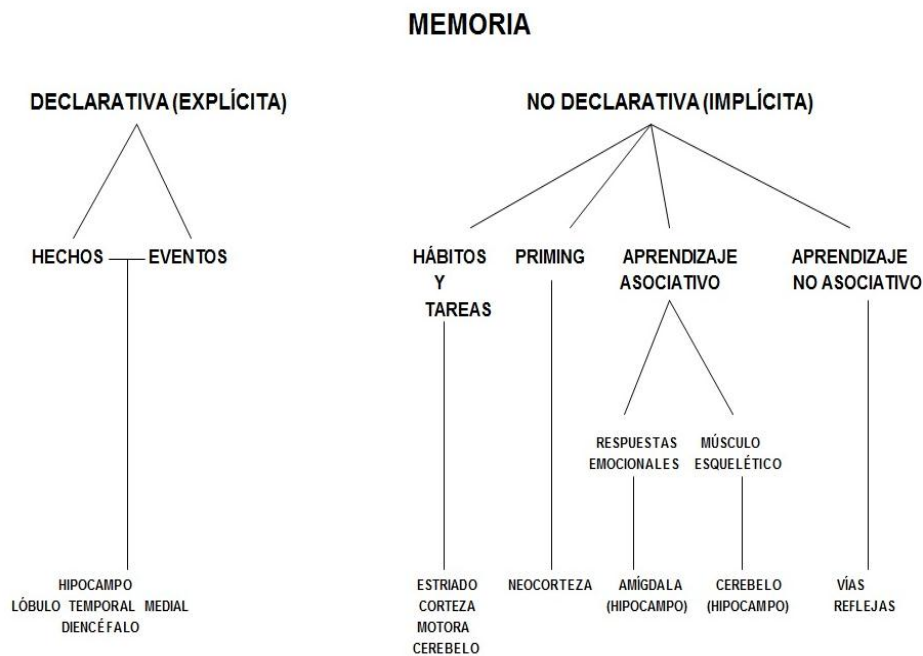


Figura 1. Clasificación de la Memoria. (Modificado de Squire, 1998).



El aprendizaje se clasifica en dos categorías: No asociativo y asociativo. La forma más simple de aprendizaje es el no asociativo, en este no es indispensable que se establezca una relación entre el estímulo y la respuesta, o entre dos estímulos. Los ejemplos más comunes son la habituación y la sensibilización. La habituación es el decremento de una respuesta ante la presencia repetida de un estímulo que carece de contenido emocional para el individuo y sus características son:

1. La estimulación repetida decrementa la respuesta
2. Ocurre recuperación espontánea cuando cesa la estimulación
3. Con series repetidas del estímulo existe mayor habituación
4. Es inversamente proporcional a la intensidad del estímulo
5. Es directamente proporcional a la frecuencia del estímulo
6. La presentación de otro estímulo, generalmente de mayor intensidad, produce la reaparición de la respuesta (deshabituación).

En la sensibilización hay un incremento de la respuesta ante un estímulo que es aplicado después de otro estímulo intenso o nociceptivo. Por otra parte el aprendizaje asociativo implica el establecimiento de una asociación entre un estímulo y una respuesta. En los inicios del siglo veinte el ruso Ivan Pavlov describió el condicionamiento clásico (Pavlov, 1927) y su contemporáneo, el estadounidense Edward Thorndike describió el condicionamiento instrumental (Thorndike, 1911). Actualmente se reconoce que los principales aprendizajes asociativos son el condicionamiento clásico y el condicionamiento operante o instrumental.

El condicionamiento clásico se establece apareando un estímulo neutro que no produce respuestas específicas (estímulo condicionado) con un estímulo que produce una respuesta refleja específica (estímulo incondicionado), a la respuesta refleja producida se le llama respuesta incondicionada, después de cierto número de asociaciones el estímulo condicionado es capaz de producir la respuesta por si solo, entonces se le llama respuesta condicionada. La situación óptima para establecer el condicionamiento clásico es cuando el estímulo condicionado precede 0.5 segundos al estímulo incondicionado. El condicionamiento operante ocurre cuando a los organismos al estar emitiendo respuestas

espontáneas (operantes) como parte del repertorio conductual natural del individuo, se les presenta un estímulo que puede ser o no ser favorable para el organismo (reforzador o castigo), y después de varios ensayos la conducta tiende a repetirse ó a disminuir su frecuencia de aparición (Díaz del Guante, Cruz-Morales, & Prado-Alcalá, 1991).

Muchos de los conocimientos sobre el aprendizaje y la memoria fueron obtenidos por observaciones en humanos; un ejemplo clásico es el caso H.M., siglas con las que se conoce a un paciente a quién se le extirparon ambos hipocampos en una intervención quirúrgica en el cerebro. Él fué ampliamente estudiado por Brenda Milner de la Universidad de McGill, y gracias a este caso se ha aprendido mucho sobre los procesos de la memoria. Brenda Milner propone cuatro importantes principios:

- La habilidad para adquirir nuevas memorias es una función cerebral que está localizada en la porción media del lóbulo temporal del cerebro y es distinta de otras habilidades perceptuales y cognitivas.
- El lóbulo temporal no es requerido para la memoria inmediata o de corto plazo.
- El lóbulo temporal y el hipocampo no pueden ser los últimos sitios de almacenamiento de la memoria de largo plazo de un conocimiento adquirido en forma previa a una lesión en este.
- Existen tipos de memoria que no se afectan con las lesiones del hipocampo como la memoria de procedimiento.
- Estos antecedentes sugieren que existen dos formas de almacenamiento de la memoria (Milner, Corkin, & Teuber, 1968).

Más tarde se propuso otra clasificación en donde la memoria declarativa es aquella información de hechos o eventos que pueden ser concientes y expresados como una proposición verbal o una imagen visual, y la memoria no declarativa es aquella que no es conciente y que está relacionada con habilidades y hábitos. La memoria declarativa es proposicional y la de procedimiento es procedimental (Squire, 1998).

Tulving divide a la memoria declarativa en memoria semántica y episódica. La memoria episódica se refiere a los eventos pasados de la vida individual, es una autobiografía. La memoria semántica se refiere al conocimiento del mundo (este sistema representa información organizada de hechos, conceptos y vocabulario) (Tulving, 1999). El

contenido de la memoria semántica es explícito y disponible para ser llamada (Baddeley, 1995).

Para estudiar los procesos de la memoria, se han empleado tareas sencillas y complejas de entrenamiento, en las cuales se asocian estímulos (aversivos o agradables) y respuestas (reflejas o más complejas) que incrementan o disminuyen la presentación de una conducta. Una alternativa para el estudio experimental es el uso de modelos animales que pueden proveer datos que puedan relacionarse directamente con la actividad nerviosa superior que es característica de la especie humana. Se pueden realizar estudios descriptivos y correlativos en el humano o bien estudios experimentales en animales que permiten conocer los mecanismos fisiológicos pero que dificultan el estudio de funciones mentales propias del humano. Existen pruebas que permiten al investigador inferir que los animales son capaces de adquirir, procesar, almacenar y evocar información equivalente a como lo hace el humano. La mayoría de las tareas de aprendizaje se llevan a cabo con múltiples ensayos pero hay varias tareas que se pueden realizar en un solo ensayo, una de ellas es la evitación inhibitoria. Ésta y otras pruebas conductuales, así como investigaciones anatómicas y del campo de la biología molecular nos permitirán acercarnos al conocimiento de los complejos mecanismos que rigen los procesos de la memoria y del aprendizaje (Prado-Alcalá & Quirarte, 1993).

## 2. Aspectos básicos de la neurotransmisión y la LTP

Las propiedades de cada neurona en el cerebro son determinadas tanto por las proteínas que producen, como además por los neurotransmisores que liberan, su localización e interconexiones con las diferentes estructuras del cerebro (Kandel, Schwartz, & Jessell, 2000). Una vez que las neuronas llegan a su posición definitiva durante el desarrollo embrionario comienza la etapa final o de diferenciación, en esta etapa cada neurona tiene un crecimiento de sus dendritas y axones, adquiere enzimas específicas y se interconecta con otras neuronas (Nowakowski, 1987).

Antes de considerar los efectos del potencial de acción en la sinapsis, debemos considerar el potencial de reposo que es la diferencia eléctrica entre el interior y el exterior de la célula el cual es de -65 milivolts, producido por las diferentes concentraciones de sodio, potasio y otros iones en los dos compartimientos. Esto hace que el interior de la célula sea negativo en relación al exterior. Un incremento del potencial de membrana de -65 milivolts a -75 milivolts es llamado hiperpolarización y una reducción de -65 milivolts a -50 milivolts despolarización. Estos cambios se acompañan de movimientos a través de la membrana de Na y K a través de poros en la membrana llamados canales iónicos. El potencial de acción en la neurona se mueve a través del axón con una amplitud de 100 a 120 milivolts en un disparo de 1 a 10 milisegundos. El potencial de acción no puede brincar a través del espacio sináptico sino que requiere una señal química por medio de los neurotransmisores. Estos mecanismos deben ser regulados de diferente forma según el estímulo recibido, y de acuerdo a la respuesta reflejada, los resultados conductuales en la memoria son diferentes.

1. El potencial de acción llega al botón terminal y abre los canales de calcio sensibles al voltaje.
2. Los iones de calcio entran en el botón y permiten que las vesículas (llenas de moléculas del neurotransmisor) se unan a los lugares sinápticos de liberación. A continuación la vesícula se fusiona en la membrana y libera su contenido en la hendidura sináptica.
3. La membrana de la vesícula se invagina en sentido retrogrado en la terminal presináptica y se utiliza para formar más vesículas que se llenan de neurotransmisor.

4. El neurotransmisor se difunde en el espacio hasta llegar a los receptores postsinápticos para producir su efecto.

El efecto finaliza con:

- La destrucción enzimática del neurotransmisor.
- La recaptación en el botón terminal.
- Captación por células de la glía.
- Difusión fuera de la hendidura.

Existen varios neurotransmisores y los podemos dividir en grupos:

1. Acetilcolina.
2. Aminas (dopamina, noradrenalina, 5-hidroxitriptamina)
3. Aminoácidos (glutamato, glicina, ácido gamma amino butírico, aspartato).
4. Péptidos (opiáceos, sustancia Y, sustancia P, somatostatina).

Pueden existir diferentes fenómenos regulatorios en la neurotransmisión por medio de las neuronas inhibitoras o facilitadoras conectadas a los axones de neuronas presinápticas. La inhibición presináptica está localizada en el botón terminal y puede reducir la despolarización de la membrana causada por un potencial entrante, probablemente a través del incremento de la permeabilidad del cloro, de modo que cuando el interior de la célula se hace más positivo con la corriente de sodio, el cloro comienza a desplazarse hacia el botón (Lasserson, Basil, Gabriel, & Horton-Szar, 1998).

La actividad postsináptica es regulada continuamente en términos del número de receptores y frecuentemente es dependiente de la concentración de agonistas a la cual la célula blanco es expuesta, aunque un exceso de agonista puede causar un efecto de retroalimentación negativa (Bloom, 1996). En la célula postsináptica existen diferentes receptores: ionotrópicos y metabotrópicos. En los receptores ionotrópicos la acción es rápida, de pocos milisegundos. Los canales están cerrados en reposo, los iones no pueden pasar a través de ellos y cuando un neurotransmisor, como el glutamato, es liberado por la célula presináptica, el receptor lo reconoce uniéndose a él, entonces el receptor sufre cambios conformacionales y se abre permitiendo el flujo de iones a la célula postsináptica. Existe un segundo tipo de receptor, llamado metabotrópico. Cuando un neurotransmisor se

une a este tipo de receptor se activa una enzima dentro de la célula que a su vez activa una molécula llamada segundo mensajero. El adenosin monofosfato cíclico (AMPC), uno de los segundos mensajeros más importantes, es sintetizado a partir del adenosin trifosfato (ATP) por una enzima llamada adenilatociclasa (inactiva durante el reposo). El segundo mensajero actúa por lo menos en tres funciones: trae señales extracelulares al interior de la célula; amplifica esas señales y regula varias de las funciones celulares como resultado de esas señales.

El calcio también puede actuar como segundo mensajero modulando la actividad del cAMP. Todos ellos actúan sobre los canales de potasio ( $K^+$ ), que están abiertos en reposo y se cierran con la presencia de cAMP, al mismo tiempo aumenta el paso de calcio ( $Ca^{2+}$ ) incrementando la liberación del transmisor. En la habituación al parecer disminuye la afluencia del calcio, la liberación del neurotransmisor en el botón presináptico y la disminución en los potenciales postsinápticos excitatorios (Rosenzweig, 1996).

Kandel y Squire (2000) han descrito otro mecanismo involucrado en el condicionamiento clásico, este inicia en la célula postsináptica, al parecer esta manda una señal de regreso a la célula pre sináptica. La neurona sensorial usa glutamato como transmisor y este activa dos tipos de receptores ionotrópicos: uno llamado alfa-amino-3-hidroxi-5-metil-4 ácido isoazolepropiónico (AMPA) y otro dependiente de  $Ca^{2+}$  llamado N-metil-D-Aspartato (NMDA). Durante la neurotransmisión normalmente solo el AMPA es activado por el glutamato, porque el NMDA es bloqueado por el magnesio ( $Mg^{2+}$ ), pero cuando el estímulo condicionado y el estímulo incondicionado son apareados se produce un tren de potenciales de acción que provocan una reducción del potencial eléctrico de la membrana, expulsando el magnesio y como resultando el  $Ca^{2+}$  puede pasar a través de los receptores NMDA en la célula postsináptica y este activa varios pasos moleculares que se constituyen en una señal regulatoria para la neurona presináptica y así liberar más neurotransmisor .

Se sabe que el hipocampo juega un papel central en la memoria declarativa a través de un fenómeno conocido como potenciación de largo plazo (LTP). La noción de LTP fue un importante factor que Richard Morris lo estudió en el hipocampo de ratas entrenadas en un laberinto de agua, aplicó el antagonista de los receptores NMDA, D-AP5 (D-2-amino-5-phosphonopentanoate) el cual bloquea la inducción de LTP y disminuye el aprendizaje. La

relación fue dosis dependiente, menos LTP se correlacionó con pobre aprendizaje y más LTP con buen aprendizaje (Tranel & Damasio, 1995). En este fenómeno se sabe que el giro dentado recibe información de la corteza entorrinal, la información llega a las células granulosas del hipocampo y estas mandan axones a través de las fibras musgosas que terminan en la región CA3 del hipocampo, liberando glutamato como neurotransmisor (Thompson & Kim, 1996). Esto provoca un aumento en el flujo de calcio que activa la adenilatociclasa dependiente de la calmodulina e incrementa los niveles de cAMP desencadenando los fenómenos ya descritos. Al parecer la LTP es influida por la actividad de las interneuronas en las que el neurotransmisor más importante involucrado es la norepinefrina. En las vías de Schaffer los mecanismos son a través de los receptores NMDA y el neurotransmisor involucrado es el glutamato, la célula postsináptica produce otro mensajero que regula la liberación del neurotransmisor en la célula pre sináptica que es el óxido nítrico. Para que la memoria de corto plazo se convierta en memoria de largo plazo, la serotonina juega un papel de gran importancia pues esta facilita que a través de fosfocinasa A en el núcleo celular sean fosforilados factores de transcripción como CREB-1, lo cual activa genes que son necesarios para formar la memoria de largo plazo. Pero también actúa a través de un factor inhibidor llamado CREB-2 dependiente de MAP quinasa. Los dímeros CREB se unen a secuencias específicas de ADN (llamadas elementos de respuesta CREBs o cAMP) en genes blancos en regiones reguladoras. La actividad transcripcional de esos dímeros es estimulada por la fosforilación de CREB en Ser133 por varias proteínas quinasas, incluyendo la proteína quinasa A, calmodulina quinasa IV y otras varias quinasas en la cascada de proteínas quinasas con actividad activadora mitogénica. Así, CREB representa el sitio de convergencia en la cual diversas señales y estímulos externos producen plasticidad al alterar la expresión genética (Nestler, 2002).

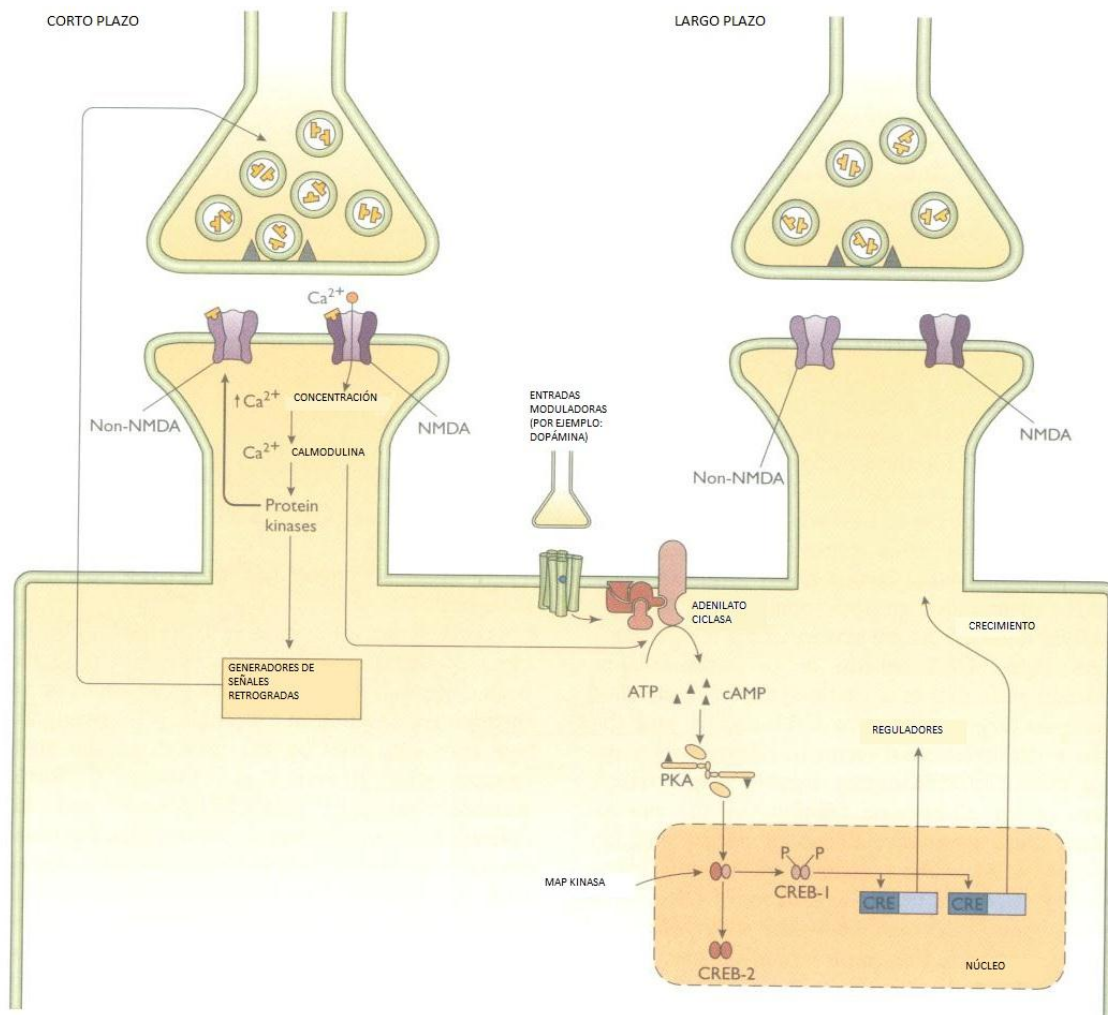


Figura 2. Vías celulares y moleculares de la LTP (Potenciación de largo plazo) (Modificado de Bailey, Bartsch, & Kandel, 1996).

También se producen otros factores: una enzima llamada ubiquitina hidroxilasa y un factor de transcripción llamado C/EBP y al bloquear cualquiera de estos dos, se bloquean los procesos de almacenamiento de la memoria de largo plazo sin afectar los de corto plazo y al menos C/EBP esta involucrado en el crecimiento de nuevas sinapsis. Los rearrreglos génicos podrían ser usados como un mecanismo para generar producción de proteínas involucradas en el almacenamiento de la memoria y los nuevos ARN mensajeros y las proteínas generadas podrían ser transportadas a cualquier compartimento neuronal donde su función es requerida para el mantenimiento de la memoria en forma permanente (Figura 2) (Bailey et al., 1996; Peña de Ortiz & Arshavsky, 2001).



### 3. Bioquímica de los corticosteroides

Las glándulas adrenales producen hormonas que pertenecen al grupo de los esteroides: los glucocorticoides, los mineralocorticoides y los andrógenos. Su secreción es regulada por el factor liberador de corticotropina en el hipotálamo (CRF) y la hormona adrenocorticotropina en la hipófisis (ACTH). La corteza adrenal obtiene el colesterol de múltiples fuentes para la síntesis de esteroides, como son el colesterol circulante vía lipoproteínas de baja densidad (LDL), vía activación de ésteres de colesterol almacenados y la biosíntesis de novo. La vía más conocida para la síntesis de esteroides se inicia con la conversión del colesterol, por medio de hidroxilación 20-22 a pregnenolona (Figura 3). Existen varios pasos intermedios en la producción final de los esteroides, uno de ellos es la hidroxilación en la posición 11 de la desoxicorticosterona a corticosterona, el cual es un paso importante para la producción de este último que es el glucocorticoide natural más importante en la rata.

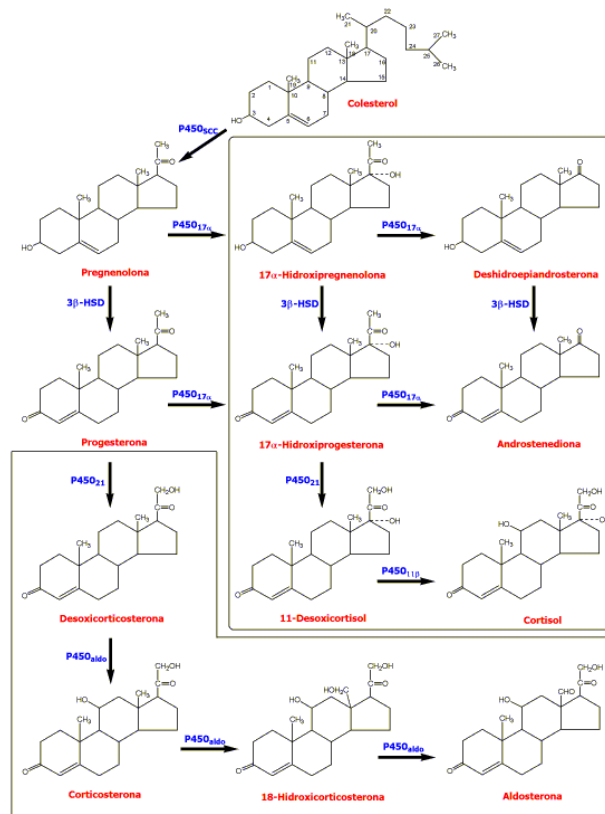


Figura 3. Vía metabólica de los esteroides (Modificado de Schimmer & Parker, 2006).

Los corticosteroides pasan al torrente circulatorio y se pueden encontrar en forma libre o unirse a proteínas transportadoras. El eje hipotálamo-hipófisis-adrenal tiene dos modos de acción, un ritmo circadiano y una respuesta al estrés. El ritmo circadiano está precedido por un incremento de la hormona liberadora de corticotropina (CRH) en el núcleo paraventricular del hipotálamo. Este ritmo, en los roedores, se caracteriza por un aumento de secreción que se inicia en la tarde, alcanza su máximo durante la noche, disminuye paulatinamente durante el periodo nocturno y desciende a valores mínimos durante la mañana.

Una importante acción de los corticosteroides sobre el cerebro y la pituitaria es dirigir la producción y la secreción de las hormonas del sistema hipotálamo-hipófisis-adrenal. Este sistema de retroalimentación negativa ha sido dividido en tres categorías: el de retroalimentación rápida, el de retroalimentación intermedia y el de retroalimentación lenta. El primero depende de los niveles séricos de la hormona, es independiente del ARN o de síntesis proteica y está localizado en la membrana celular. La segunda categoría involucra al ARN y la síntesis de proteínas pero no involucra acciones sobre hormonas polipeptídicas. La tercera categoría suprime la síntesis de péptidos como CRF, vasopresina, y ACTH además involucra al ARN y la síntesis de proteínas (Conrad, Lupien, Thanasoulis, & McEwen, 1997; McEwen, de Kloet, & Rostene, 1986).

La aldosterona es el principal y más potente mineralocorticoide, el 60% se fija a la albúmina y solo la aldosterona libre parece ser fisiológicamente activa. La desoxicorticosterona (DOC) también tiene actividad mineralocorticoide (300 veces menos que la aldosterona) tiene concentraciones plasmáticas similares a las de la aldosterona y en la rata es el principal mineralocorticoide. Las principales células blanco de la aldosterona están en las células renales (tubulares distales) y células blanco no renales (gástricas, salivales, glándulas sudoríparas, células secretoras del ileon y el colon). Tiene una vida media de 15-30 minutos. Su catabolismo es por hidrogenación sucesiva (hígado, riñón) y los metabolitos se conjugan con ácido glucoronico.

Las células de la zona fasciculada producen cortisol y corticosterona, en la mayor parte de los mamíferos predomina el cortisol. La corticosterona es el principal glucocorticoide secretado por las aves y los roedores, aunque en embriones de pollo se

produce un poco de cortisol. La actividad de la zona fasciculada es regulada por la hormona adrenocorticotropina (ACTH), una hormona peptídica de 39 aminoácidos, de los que al parecer del 1 al 24 tienen alta afinidad con el receptor adrenal. La producción de cortisol es pulsátil y sigue un ritmo circadiano, disminuye en la noche y aumenta después de un periodo de reposo continuo (máximo en la mañana). En sangre, el 70% del cortisol se une a una globulina alfa llamada transcortina, el 20% se fija a la albúmina y el 10% es libre. El estrés aumenta la concentración de cortisol plasmático libre. La vida media del cortisol es de 60 a 90 minutos y la de la corticosterona, 50 minutos. Sus principales blancos son el timo, y el hígado, donde induce enzimas glucogénicas como la fructosa 1-6 difosfatasa, la glucosa-6- fosfatasa y el piruvato carboxilasa.

El cortisol produce varios efectos: promueve la gluconeogénesis hepática, aumenta la actividad de hexocinasa y modifica la glucólisis anaeróbica con lo que aumentan los niveles circulantes de la glucosa en plasma y disminuyen la utilización periférica de la glucosa por su acción antagónica con la insulina. También aumentan de manera selectiva el paso de noradrenalina a adrenalina, induciendo la síntesis de la feniletanolamina-n-metiltransferasa (PNMT) por lo que los glucocorticoides actúan modulando la proporción de adrenalina y noradrenalina sintetizada en las células cromafines (Lopez-Calderon, 1992).

Entre los esteroides sintéticos, la dexametasona tiene un efecto glucocorticoide 25 veces mayor que el cortisol y una mínima actividad mineralocorticoide. La metirapona inhibe la 11-beta hidroxilación y disminuye la producción adrenocortical de corticosterona y cortisol. La aminoglutetimida inhibe las desmolasas y las aromatasas incluidas en la síntesis y conversión de adrenoesteroides y produce una acumulación de colesterol en las glándulas adrenales (Dexter, Fishman, Ney, & Liddle, 1967). Los corticosteroides cruzan la membrana celular por difusión y forman un complejo hormona-receptor en el citoplasma, este complejo es activado antes de que pase al núcleo en un plazo de 60 a 120 minutos, con lo que disminuye la cantidad del complejo en el citoplasma y aumenta en el núcleo (Haynes, 1990). La cantidad de los complejos receptor-esteroide depende de la concentración de las hormonas y del número de receptores moleculares. La concentración de esteroides que llega al núcleo celular está sujeta a la competencia de antagonistas y agonistas. El complejo hormona-receptor se une a una región específica del ADN y activa a genes específicos. Al afectar de manera selectiva la transcripción del gen y la producción

de los mRNA respectivos, se expresan proteínas específicas que influyen en los procesos metabólicos. Existen elementos reguladores de esa respuesta entre ellos está el elemento de respuesta a hormonas (HRE) (Granner, 1997; Lopez-Casillas, 2002).

Los receptores GR han sido mapeados en la rata usando anticuerpos monoclonales y se ha observado que estos receptores son típicamente nucleares con un débil componente citoplasmático. En ratas adrenalectomizadas se encontró reducción de los receptores nucleares tipo GR y el uso de corticosterona produjo un incremento en la densidad de esos receptores tan pronto como a los 5 minutos y fue significativamente mayor 2 horas después. Estos receptores fueron identificados en varias regiones del cerebro como el hipocampo, el caudado-putamen, el globo pálido, el septum lateral, el núcleo entopedunculado y la habénula (Figura 4) (Ahima & Harlan, 1991; Jöels & de Kloet, 1994; Kellendonk, Gass, Kretz, Schutz, & Tronche, 2002; Morimoto, Morita, Ozawa, Yokoyama, & Kawata, 1996). Después de la adrenalectomía los GR nucleares disminuyeron, mientras los GR-intracitoplasmáticos aumentan (McGimsey, Cidlowski, Stumpf, & Sar, 1991).

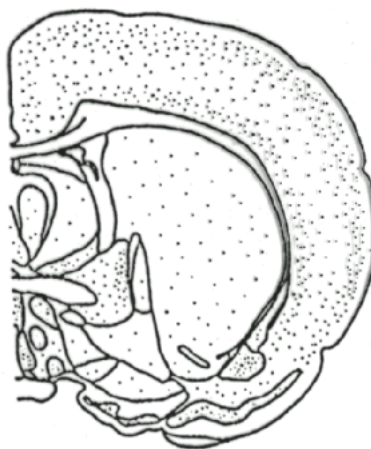


Figura 4. Localización de receptores a glucocorticoides en cerebro de rata (Modificado de Ahima et.al., 1991).

En el hipocampo la activación predominante de MR en neuronas CA1 es necesaria para el mantenimiento de las entradas sinápticas mediadas por aminoácidos, situación asociada con un flujo bajo de iones de  $Ca^{+}$ . Cuando los GR llegan a ser activados en adición a los MR, por altos niveles de corticosterona, la transmisión sináptica por aminoácidos es reducida y el flujo voltaje-dependiente del  $Ca^{+}$  es incrementado, resultando

en una reducción de la excitabilidad local (Datson, van-der-Perk, de-Kloet, & Vreugdenhil, 2001).

En el estrés los GR son depletados en la eminencia media por activación de la ACTH y la secreción de corticosterona. La retroalimentación es lenta y toma de 45 a 90 minutos para desarrollarse dependiendo de la intensidad del estrés (de Kloet, 1991).

Feldman (1985) en estudios electrofisiológicos en hipotálamo e hipocampo observó que el cortisol administrado intraventricular o intracerebralmente en la rata producía alteraciones eléctricas en el hipocampo, acortaba la latencia y los ciclos de recuperación de los potenciales evocados subcorticales, mientras que la adrenalectomía causaba un efecto inverso. En otros experimentos, a corto plazo se observó que la administración de cortisol en las ratas incrementa la concentración intracelular de sodio en el cerebro, disminuyendo el cociente de sodio e incrementando la excitabilidad cerebral. Sin embargo, a largo plazo no se observan efectos electrolíticos cerebrales. En vista del posible papel de varios neurotransmisores en la regulación hipotalámica de la secreción de ACTH, se intentó caracterizar las células hipotalámicas en relación con su sensibilidad a los neurotransmisores y se observó que la mayoría de las células cuya descarga era inhibida por el cortisol también respondían a la aplicación de acetilcolina e histamina. El efecto predominante de la acetilcolina sobre las células hipotalámicas fue la inhibición de la tasa de descargas. Un efecto facilitador de la acetilcolina se encontró en neuronas hipotalámicas sensibles a la dexametasona y se observó que el cortisol inhibía los efectos activadores de la acetilcolina (Feldman, 1985; Mizoguchi et al., 2008) .

#### **4. Los ganglios basales**

##### **a) Conceptos generales**

Los ganglios basales son agrupaciones neuronales que forman parte de grandes circuitos que conectan estructuras corticales y subcorticales, involucran al estriado como el principal núcleo de entrada de la información y a la sustancia nigra reticulada y el globo pálido interno como las vías de salida. El estriado funcionalmente se encuentra dividido en una porción dorsal considerada como la más importante y una porción ventral que, aunque comparten muchas características de citoarquitectura y neuroquímica, difieren en cuanto al tipo de información que procesan, la topografía particular de sus eferentes y de los neurotransmisores involucrados (Mena-Segovia & Giordano, 2001).

Los ganglios basales en los roedores comprenden las siguientes estructuras:

- Caudado-putamen (juntos forman el estriado)
- Globo pálido
- Núcleo subtalámico
- Núcleo entopeduncular
- Sustancia Nigra (Smith, Bevan, Shink, & Bolam, 1998).

El estriado junto con el globo pálido (interno y externo) se denomina cuerpo estriado o estriado dorsal, debido a que las fibras corticales descendentes que los atraviesan en su camino les dan una apariencia estriada. El pálido ventral está situado anterior al globo pálido (externo e interno) y se separa mediante la comisura anterior. El núcleo accumbens y el pálido ventral forman el estriado ventral.

## **b) Orígenes evolutivos**

En décadas pasadas se había llegado a la conclusión de que hay similitudes en la organización de los ganglios basales entre los reptiles, las aves y los mamíferos (vertebrados amnióticos), sugiriendo que los ancestros de estas especies poseían tal característica en común (Reiner, Medina, & Veenman, 1998). Por otro lado, se postula que hay diferencias en la organización de los ganglios basales entre los anamniotes y los amniotes (peces y anfibios), sugiriendo que el desarrollo de los ganglios basales evolucionó durante la transición anamniote-amniote. En los amniotes hay neuronas locales (interneuronas) que son GABAérgicas y colinérgicas. La existencia de interneuronas colinérgicas parece ser otra característica primitiva, porque también existe en los anfibios. Las interneuronas GABAérgicas se distinguen con base en su contenido químico, en proteínas que ligan a  $Ca^{++}$  (parvalbumina, calretinina), neuropéptidos (somastostatina, neuropéptido Y) ó sintetasa de óxido nítrico. Esta es otra característica primitiva, pues también se ha encontrado en anfibios. La existencia de entradas sensoriales procedentes del tálamo al estriado parece ser otra característica primitiva de los tetrápodos. Existe una tendencia evolutiva en el progresivo involucramiento de la corteza en el procesamiento de la información sensorial talámica relevada hacia los ganglios basales en los tetrápodos. En los mamíferos, la sustancia nigra es una estructura muy heterogénea que se divide en sustancia nigra compacta y sustancia nigra reticulada. La sustancia nigra compacta es la mayor fuente de dopamina y la sustancia nigra reticulada contiene GABA siendo el principal aceptor de las vías estriado-nigrales. Hay proyecciones dopaminérgicas muy organizadas hacia el estriado ventral y dorsal, en todos los tetrápodos, lo cual sugiere que hay un mecanismo modulador de la función estriatal que está muy conservado durante la evolución. El pálido y el subtálamo están recíprocamente conectados en reptiles y anfibios, lo cual sugiere la existencia de una estructura subtalámica involucrada en el procesamiento de salida en los ganglios basales. Esta es otra característica primitiva de los tetrápodos (Marin, Smeets, & Gonzalez, 1998).

### c) Anatomía e histología

Se ha encontrado que los ganglios basales en el hemisferio cerebral derecho tienen aproximadamente 2.79 millones de neuronas en el caudado-putamen, 46000 en el globo pálido externo, 32000 en núcleo entopeduncular, 13600 neuronas en subtalámico y 26300 en pars reticulata de la sustancia nigra (Oorschot, 1998). El estriado está compuesto por neuronas de proyección (Golgi I) e interneuronas locales (Golgi II). En las ratas la razón de neuronas de proyección *versus* interneuronas es 9:1 y en los primates 3:1.

#### Tipos neuronales

Las neuronas espinosas medianas son las más abundantes en el estriado (95%), sus dimensiones son de 12 a 20  $\mu\text{m}$  e irradian 4 a 5 dendritas, se caracterizan por tener una densa población de espinas en sus dendritas distales, pero no en sus dendritas proximales. Sus axones salen de los límites del estriado proyectando hacia los núcleos de salida de los ganglios basales. Sus proyecciones pueden emitir colaterales al globo pálido, la sustancia nigra y algunas de estas alcanzan hasta 3 sitios blanco. Todas las neuronas estriatales de proyección son GABAérgicas pero las que proyectan al globo pálido externo son además mediadas por encefalina, mientras que las que proyectan al globo pálido interno (llamado núcleo entopeduncular en la rata) y a la sustancia nigra lo son por la sustancia P y la dinorfina (Bargas, Galarraga, & Aceves, 1998; Mena-Segovia & Giordano, 2001).

Existen gran cantidad de interneuronas y pueden ser divididas en dos grandes categorías:

- a) Interneuronas gigantes aspínicas (tipo II de DiFiglia).
- b) Interneuronas de dimensiones medias (tipo I y III de Di Figlia).

Las interneuronas gigantes tienen cuerpos celulares elongados (50-60 X 15-25  $\mu\text{m}$ ) de las cuales emergen pocas dendritas que se extienden hasta 759  $\mu\text{m}$  de su soma y su arborización consiste en densos plexos, son neuronas colinérgicas y representan menos del 2% de todas las células estriatales. Las interneuronas de dimensiones medias pueden ser de dos tipos: el primer tipo produce GABA, parvalbúmina y calretinina, estas interneuronas representan el 1% de la población celular estriatal y tienen cuerpos celulares redondos (14-15  $\mu\text{m}$ ) con 5-8 dendritas varicosas (tipo I DiFiglia y V de Chang). El segundo tipo (tipo



III de Di Figlia) produce somatostatina y contienen NADPH, la cual está involucrada en la producción de óxido nítrico, tienen un cuerpo celular esferoide (12  $\mu\text{m}$ ) y poseen 3-4 dendritas largas de 150  $\mu\text{m}$  (Kawaguchi, 1993; Parent & Hazrati, 1995).

#### **d) Circuitos de entrada**

Los núcleos: caudado, putamen y accumbens se consideran la región receptiva de los ganglios basales, hacia ellos convergen las fibras aferentes que vienen de las siguientes regiones:

- Las regiones de la corteza cerebral y en especial las áreas sensoriales, motoras, premotoras, de asociación, límbicas, amigdalinas e hipocámpicas.
- La sustancia nigra compacta y el tegmento ventral anterior.
- Los núcleos intralaminares del tálamo.
- Los núcleos del rafé de la formación reticular del puente y del tallo cerebral (Oorschot, 1998; Reiner et al., 1998).

Las estructuras de entrada de los ganglios basales reciben las fibras corticales ordenadas topográficamente. Hay una gran convergencia conforme se pasa de la corteza cerebral (nivel I) a las estructuras de salida (nivel III). Sin embargo, cada nivel conserva el mapa de las distintas partes del cuerpo y los núcleos se conectan de manera topográfica. Las neuronas piramidales de proyección glutamatérgicas hacen sinapsis con las neuronas espinosas medianas utilizando receptores N-metil-D-aspartato (NMDA). El caudado recibe más fibras relacionadas con los movimientos oculares, del cuello y de asociación; el putamen se relaciona con áreas sensorio motoras del tronco y las extremidades y el núcleo accumbens con áreas límbicas.

Además de recibir aferentes de toda la corteza cerebral, los ganglios basales modulan a la corteza cerebral a través del tálamo, concentran e integran información de toda la corteza y la dirigen hacia el área encargada de planear y ejecutar movimientos.

Existen dos teorías en la forma de su funcionamiento:

a) Procesamiento en paralelo

b) Información en túnel

La hipótesis del procesamiento en paralelo infiere que diferentes tipos de información cortical son procesados a través de vías múltiples independientes, paralelas, segregadas. Más de 5 circuitos han sido identificados: motor, oculomotor, orbitofrontal, dorsolateral prefrontal, orbito frontal lateral y cíngulo anterior. Cada uno de esos circuitos recibe fibras de diferentes áreas separadas de los ganglios basales y el tálamo, y proyectan de retorno a la corteza cerebral para formar un circuito cerrado.

La hipótesis de información en túnel, propone que existe una absoluta convergencia de la información cortical a lo largo de este eje. Este pudiera iniciar en amplias y separadas zonas corticales que pasan al estriado y podrían ser mejoradas por la llamada recepción convergente a nivel del pálido y la sustancia nigra. Otra característica es que áreas no adyacentes (prefrontal, y parietal) proyectan a territorios adyacentes del estriado. Esto hace suponer que el estriado puede ser diferenciado en áreas funcionales. Las áreas de asociación sensoriomotoras y límbicas proyectan en tres distintas regiones referidas como asociativa, sensoriomotora y límbica. El territorio asociativo comprende una gran parte rostral del putamen a la comisura anterior y parte de la cabeza, tallo y cola del caudado excepto una pequeña parte dorsolateral cerca de la cápsula interna, que recibe proyecciones de varias vías de asociación corticales de los lóbulos frontal, temporal y parietal. El territorio sensoriomotor del estriado comprende el sector dorso lateral de la porción postcomisural del putamen y la parte dorsolateral de la cabeza del núcleo caudado. El territorio límbico comprende el núcleo accumbens, la porción profunda del tubérculo olfatorio y la parte más ventral del núcleo caudado-putamen y recibe fibras de la corteza límbica y paralímbica, así como de la amígdala y el hipocampo. Kemp y Powell (1971) sugieren que ambas aferentes talámicas y corticales convergen en las mismas neuronas espinosas medianas, y los datos electrofisiológicos han indicado que una simple neurona espinosa mediana puede responder a señales talámicas y corticales. Algunas aferentes originadas del núcleo del rafé del cerebro medio usan serotonina como neurotransmisor. Las aferentes estriatales serotoninérgicas forman sinapsis asimétricas en las espinas dendríticas de neuronas espinosas estriatales en la rata y los monos (Parent & Hazrati, 1995).

### e) Conexiones e interneuronas

Las fibras corticales de la capa supragranular proyectan principalmente a la zona llamada matriz, mientras las procedentes de la capa cortical infragranular lo hacen hacia los denominados estriosomas.

Las interneuronas gigantes no espinosas colinérgicas ignoran los límites estriosomales, mandando sus dendritas y probablemente sus axones a ambos compartimientos. Las interneuronas GABAérgicas son también capaces de cruzar esos límites y pueden servir como una conexión entre los dos compartimientos.

Los hallazgos descritos revelan que las eferentes del núcleo caudado (territorio asociativo) y del putamen (territorio sensorio motor) siguen distintas trayectorias. Además los campos terminales de neuronas en el caudado y putamen ocupan diferentes sectores en sus estructuras blanco y muestran diferentes patrones de arborización.

Una de las más importantes fuentes de aferentes de la región receptiva de los ganglios basales proviene de sus propios núcleos intrínsecos. Las fibras dopaminérgicas que provienen de la sustancia nigra compacta y del tegmento ventral anterior inervan dicha región. También existe una relación topográfica, pues las neuronas de la región dorsal de la sustancia nigra compacta y las del tegmento ventral proyectan a la matriz estriatal, mientras que las neuronas de la región ventral de la sustancia nigra compacta proyectan a los estriosomas. Por último, los núcleos serotoninérgicos del rafé, situados en la formación reticular del puente y del tallo cerebral también proyectan al estriado (Bargas et al., 1998).

También el óxido nítrico actúa como un transmisor que afecta a la liberación de los otros neurotransmisores (dopamina, acetilcolina, etc.) (Kawaguchi, Wilson, Augood, & Emson, 1995).

Las interacciones entre los sistemas colinérgicos y dopaminérgicos son muy importantes en el funcionamiento de los ganglios basales y parecen ser necesarias para la función estriatal. Se conoce que la dopamina inhibe en forma tónica la liberación de la acetilcolina en el estriado y esta inhibición pudiera ocurrir en las neuronas de proyección espinosas medias. La dopamina parece atenuar el efecto de la estimulación cortical y la acetilcolina parece facilitar los disparos de las neuronas espinosas medias. La activación de

los receptores D1 disminuye la excitabilidad de la membrana, mientras que la activación de los receptores D2 ocasiona la disminución de la liberación de la sustancia neurotransmisora en las terminaciones sinápticas (Carpenter, 1996).

#### **f) Circuitos de salida**

El globo pálido interno, la sustancia nigra reticulada y el pálido ventral constituyen las regiones de salida de información de los ganglios basales, gran parte de sus neuronas son de proyección, GABAérgicas y disparan espontáneamente a frecuencias de 20 y 100 Hz. Las fibras del globo pálido interno son altamente colateralizadas y están organizados de acuerdo a patrones complejos de 2 zonas concéntricas: una parte central (núcleo) donde las neuronas envían axones al tálamo y al tegmento mesopontíneo; y una zona periférica (concha) en la que sus neuronas proyectan a la habénula. Ambas están embebidas en una red neuronal compuesta de grandes neuronas colinérgicas que proyectan a la corteza cerebral. La mayoría de las neuronas estriatopálidas expresan además encefalinas y receptores D2 y la sustancia estriato nigral expresan sustancia P, dinorfina y receptores a dopamina D1 (Gerfen, 1992).

La sustancia nigra reticulada proyecta al tálamo, al colículo superior y al tegmento mesopontíneo; y existen al menos tres diferentes poblaciones nigro talámicas, nigrotectales y nigrotegmentales, siendo las más abundantes las nigrotalámicas. La mayoría de las fibras nigrotegmentales terminan en el núcleo tegmental pedúnculo pontíneo el cual se subdivide en *pars dissipata* y *pars compacta* (Reiner et al., 1998).

Las fibras nigrotegmentales terminan en neuronas grandes de la capa intermedia del colículo superior, la cual sube a la vía tecto espinal que controla los movimientos de la cabeza. El 90% de las neuronas entopedunculares y el 50% de la sustancia nigra reticulada proyecta a neuronas del tálamo ipsilateral y originan el 10% de las neuronas del núcleo entopeduncular. Las conexiones cruzadas de la sustancia nigra han sido encontradas en ratas y parecen terminar en el tálamo medio dorsal y el núcleo tálamo ventromedial y el colículo superior.

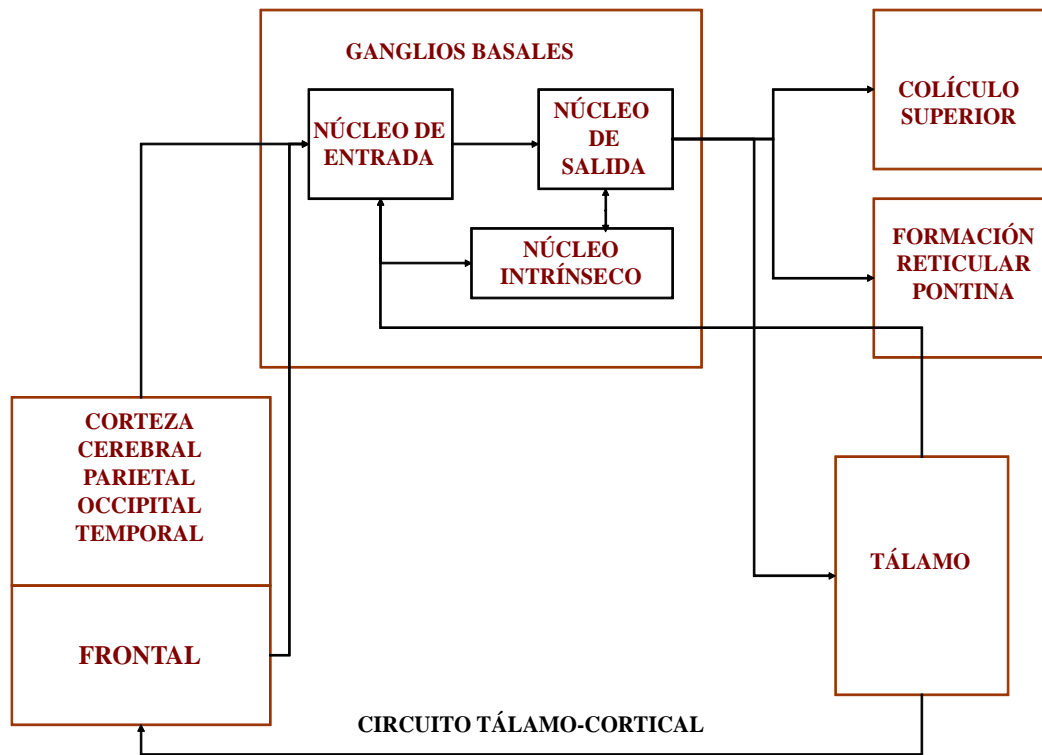


Figura 5. Circuitos de entrada y salida del estriado (Modificado de Smith y col., 1998).

El globo pálido externo funciona como una estructura de control de salida de los ganglios basales, tiene conexiones con el núcleo subtalámico y proyecta al globo pálido interno y a la sustancia nigra reticulada así como al núcleo talámico reticular y es GABAérgico (Figura 5). Las proyecciones pálido talámicas y nigro talámicas tienen 2 sistemas paralelos:

- a) Sistema directo: con proyecciones del globo pálido interno o la sustancia nigra reticulada al tálamo.
- b) Sistema indirecto: compuesto de proyecciones del globo pálido externo al núcleo talámico reticular, provee salidas inhibitorias GABAérgicas al globo pálido y núcleo subtalámico. El núcleo subtalámico provee una salida excitatoria a la sustancia nigra (Parent & Hazrati, 1995).

El núcleo subtalámico también recibe fibras del área motora de la corteza cerebral; las proyecciones subtalámicas se dirigen al globo pálido interno y la sustancia nigra reticulada y estas neuronas de proyección son glutamatérgicas. Es importante mencionar que los núcleos de salida están sometidos a la doble influencia del estriado que es inhibitoria GABAérgica y del subtálamo que es excitatoria glutamatérgica. La información procesada que se origina en los núcleos de salida, va hacia el tálamo (los núcleos ventrolaterales, dorsomediales y anteroventrales) y al colículo superior (de ahí salen las vías que modulan los movimientos oculares) y reciben información del circuito cerebeloso. También existen vías descendentes que parten del colículo a las vías tecto espinales y la formación reticular pontina (en particular el complejo nuclear pedúnculo pontino). Las proyecciones hacia el tálamo modulan la actividad de las neuronas de los circuitos tálamo cortical que parecen ser esenciales para mantener la actividad de las vías cortico-espinales durante los actos motores voluntarios o el mantenimiento de la postura. Las proyecciones al colículo superior y la formación reticular influyen en las vías que descienden hacia la médula espinal. Estas vías regulan la actividad de las motoneuronas espinales y, al actuar sobre la corteza motora y las vías descendentes, modulan la actividad motora (Bargas et al., 1998).

## **5. Aspectos neuroanatómicos y neuroquímicos del estriado**

### **a) Origen embrionario**

Los orígenes de los compartimientos estriatales (parches y matriz) los encontramos en una etapa temprana del desarrollo de la rata (el día gestacional E 14), se observa una distribución homogénea en la porción tardía del periodo gestacional 21 y después los receptores opioides toman una distribución de parches.

El desarrollo embriológico sugiere que 2 distintas oleadas de conexiones estriato nigrales ocurren. Una temprana la cual inicialmente se distribuye homogéneamente en el estriado, que hace conexiones con la sustancia nigra en la etapa E17 a E19. Una segunda población (matriz) se genera durante los periodos E18-E21, migra fuera del estriado, separando las neuronas estriato nigrales en parches. La segunda población de neurona en la matriz del estriado manda sus proyecciones axonales a la sustancia nigra hasta periodos postnatales tempranos.

El hecho de que hay dos zonas mitóticas concurrentemente activas en el estriado, la zona ventricular (VZ) y la zona subventricular (SVZ) podría sugerir que hay al menos dos diferentes orígenes del estriado (Halliday & Cepko, 1992). Hay dos zonas en forma de anillos en el telencéfalo en la embriogénesis temprana que son fuentes del estriado, el globo pálido y, posiblemente, la amígdala; se especula que el putamen se podría originar de la parte posterior de esos anillos mientras que el caudado de la parte anterior (Bayer, 1984).

### **b) Características neuronales y tipos de conexiones neuronales del estriado**

La región receptiva del estriado no posee una densidad celular uniforme, a pesar de que la mayor parte de sus células son del mismo tipo. Algunas de ellas tienden a aglomerarse formando islas o parches, mientras que la mayoría queda situada entre dichas islas, formando un tejido menos denso llamado matriz estriatal. Así como la corteza

cerebral está dispuesta en láminas o capas, el estriado se dispone en parches o acúmulos neuronales, rodeados de una matriz celular menos densa (Parent, 1990).

### **c) Compartimentalización**

La división en parches y matriz del estriado está relacionada con sus conexiones aferentes y eferentes y con la organización laminar de la corteza, existe la teoría de una proyección cortical de la capa supragranular y la capa 5 superficial a la matriz y de la proyección de las capas 5 profunda y 6 a los parches.

Las zonas de tinción pobre a acetilcolinesterasa se encuentran en estrisomas (parches), que se encuentran dentro de un laberinto tridimensional a lo largo del estriado y comprenden entre 10 y 20% del territorio estriatal en relación con la matriz (Mena-Segovia & Giordano, 2001). La organización parche-matriz ha sido asociada a funciones límbicas y no límbicas basados en sus aferencias de las áreas límbicas como la amígdala y la corteza prelímbica, y a la matriz de áreas cortico-sensorio-motoras (Gerfen, 1992).

### **d) Concepto de vía directa e indirecta**

En los mamíferos el globo pálido interno y la sustancia nigra son estructuras de control de los ganglios basales y forman parte de una vía llamada "vía directa". La salida de la información que constituye la vía directa consiste en descargas tónicas de alta frecuencia gabaérgica del estriado al pálido interno y la sustancia nigra reticulada hacia el tálamo.

La otra vía indirecta converge información estriatal hacia estructuras de salida de los ganglios basales a través de un relevo en el núcleo subtalámico. El núcleo segmento tegmental contiene células de proyección excitatorias (glutamatérgicas), por lo tanto su efecto parece servir como un balance de conducción inhibitoria del estriado hacia las estructuras de salida de los ganglios basales (Marin et al., 1998).

La primera comunicación en la vía indirecta es entre el estriado y el globo pálido externo, y tiene tres características:

- Patrón dual de arborización
- Alto grado de especificidad



- Alta densidad de inervación

El globo pálido y el pálido ventral tienen proyecciones que terminan en el núcleo subtalámico, son GABAérgicas, forman sinapsis con todas las partes del núcleo subtalámico y al parecer también envían al globo pálido, o sea hay comunicación recíproca (Smith et al., 1998).

**e) Funciones e integración**

La función estriatal ha sido definida como un proceso básico de desinhibición. Los núcleos de salida de los ganglios basales, la sustancia nigra y el globo pálido interno mantienen una inhibición tónica activa sobre los núcleos blancos de proyección de los ganglios basales. El aumento en la actividad estriatal produce la inhibición de los núcleos de salida y por lo tanto la desinhibición de las estructuras blanco. Normalmente cuando el animal se mantiene en descanso las neuronas estriatales están en reposo mientras las neuronas del globo pálido interno y la sustancia nigra mantienen disparos de hasta 100 por segundo. El incremento del disparo de las células estriatales inhibe al globo pálido interno y produce desinhibición de neuronas talámicas, coliculares y tegmentales.

Las neuronas de los ganglios basales descargan en un patrón rítmico en trenes de disparo oscilatorios, lo cual refleja un procesamiento interno previo a la salida de la información. Estos trenes de disparo oscilatorios pueden facilitar cambios en los estados funcionales del cerebro o pueden proveer una representación del tiempo. La actividad eléctrica oscilatoria, que se caracteriza por una frecuencia de 30-40 Mhz está relacionada con las propiedades de membrana de las neuronas de los ganglios basales, particularmente se ha descrito que dicho ritmo depende de los canales de potasio que han sido encontrados en las interneuronas estriatales, este ritmo se encuentra asociado a diferentes estados conductuales de alertamiento incrementado. El manejo de la información de los ganglios basales se procesa en vías paralelas y esta se mantiene segregada a lo largo de las proyecciones que los unen a la corteza cerebral y al tálamo, este circuito finalmente llega a la corteza frontal (Mena-Segovia & Giordano, 2001). El daño de las vías corticales que proyectan hacia el caudado-putamen interfiere con aspectos temporales del movimiento; los animales no saben cuándo responder, las lesiones asociadas a la cola del caudado

distorsionan el reconocimiento de escenas por lo que el movimiento pierde su contexto. Las lesiones en el pálido interno producen grandes fluctuaciones de las extremidades al tratar de realizar movimientos. El bloqueo del pálido externo produce extremidades flexionadas. La ablación del subtálamo produce movimientos discinéticos de las extremidades. Por lo anterior se han propuesto tres funciones básicas de los ganglios basales:

- Permiten que el cerebro lleve a cabo la planeación o los programas de las conductas motoras complejas; facilitan la secuencia de los actos motores filtrando acciones musculares inútiles.
- Determinan la precisión de la amplitud de los movimientos. Las lesiones palidales no impiden los movimientos voluntarios, pero estos son más amplios que lo normal en las extremidades contralaterales (Bargas et al., 1998).
- Actualmente al estriado se le relaciona con diversas funciones motoras tales como la regulación de la postura, la iniciación y el control de movimientos, la ejecución automática, los movimientos motores aprendidos y la transformación en diversas funciones cognitivas, tales como la memoria, el aprendizaje implícito o de hábito y la elaboración de estrategias de aprendizaje, teniendo además la capacidad de realizar un alto nivel de integración.

## 6. Los glucocorticoides y la memoria

En estudios realizados en cortes por congelación del cerebro se encontró afinidad de los receptores MR por la corticosterona entre 6 y 10 veces menor que la mostrada por los receptores GR. Los receptores GR tienen alta afinidad por el glucocorticoide sintético dexametasona y no se unen a la aldosterona. Se conoce que los corticosteroides tienen diversas acciones en el sistema nervioso central, entre ellos participan en los procesos de memoria (McEwen et al., 1986). Al estudiar el papel de los GR entrenando ratas en la tarea de condicionamiento de miedo al contexto se encontró que la administración de corticosterona inmediatamente después del entrenamiento produce facilitación en forma de U invertida, es decir dosis bajas no tienen efecto, dosis moderadas producen facilitación y dosis altas producen deterioro (Abrari et al., 2009). Asimismo se ha demostrado que la corticosterona produce facilitación de la memoria en una tarea de evitación inhibitoria (Bohus, Grubits, Kovács, & Lissák, 1970; Roozendaal y McGaugh (1996) demostraron que la administración de los agonistas a GR como la corticosterona y la dexametasona después del entrenamiento de evitación inhibitoria producen facilitación en la memoria de la tarea de evitación inhibitoria.

En animales adrenalectomizados se ha observado que las dosis altas de corticosterona deterioran la consolidación de la memoria, pero las dosis medianas mejoran la consolidación de la memoria. El factor hipotalámico liberador de corticotropina (CRH) es el principal regulador de la ACTH y aumenta su secreción en respuesta a la adrenalectomía o el estrés agudo. La síntesis de CRH está bajo la influencia de un número de factores estimulatorios e inhibitorios, estos factores incluyen catecolaminas, serotonina, acetilcolina, angiotensina II, interleucinas, GABA y glucocorticoides. Las catecolaminas tienen un efecto inhibitorio en la actividad del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal durante el estrés. Otros péptidos hipotalámicos como la vasopresina y la oxitocina también son secretados dentro de la circulación portal durante el estrés y tienen influencia en la secreción hipofisiaria de la ACTH. Hay evidencias de que la secreción adrenocortical de glucocorticoides no solo depende de los niveles de ACTH sino también de la sensibilidad

adrenal, el estrés de repetición ha mostrado que tiene efectos facilitatorios e inhibitorios en diferentes circunstancias.

Cuando existe exposición crónica del estímulo estresante, la ACTH retorna a niveles basales en 24 h a pesar de la persistencia del estresor. Esta paradoja sugiere que el estrés crónico reduce la sensibilidad del cerebro y de la hipófisis a la retroalimentación de los glucocorticoides o que la activación de diferentes vías neurales por diferentes estresores determina cambios en el grado de secreción y el tipo de reguladores hipotalámicos liberados. Estudios en animales indican que el estrés y los glucocorticoides influyen en la función cognitiva. Los efectos de los glucocorticoides en la cognición muestran un comportamiento de U invertida: niveles altos y bajos no tienen efectos en la consolidación de la memoria mientras que los niveles intermedios mejoran la memoria (de Quervain, Roozendaal, & McGaugh, 1998; McGaugh & Roozendaal, 2002; Roozendaal, 2002). Es posible que a determinadas dosis se ocupan todos los receptores y a dosis mayores probablemente exista fatiga de dichos receptores, otra explicación es que a dosis diferentes actúan sobre diferentes receptores teniendo efectos diferentes (Martinez, 1986).

La posible influencia de los glucocorticoides en la memoria podría deberse a varias causas: la depleción de glucocorticoides incrementa la liberación de catecolaminas y la expresión de ARNm de tirosina hidroxilasa en el hipotálamo así como en el sistema simpático-adrenal, es posible que los glucocorticoides contribuyan a la regulación de las catecolaminas adrenomedulares bajo condiciones basales a través de neuronas CRH hipotalámicas y neuronas catecolaminérgicas que inervan neuronas CRH (Laborie, Van Camp, Bernet, Montel, & Dupouy, 2003) también los corticosteroides tienen influencia actuando sobre la transmisión glutamatérgica y sobre moléculas de adhesión celular. Los glucocorticoides pueden incrementar las concentraciones de glutamato en el hipocampo así como en otras regiones del cerebro. El glutamato actúa a través de receptores NMDA y AMPA. Los glucocorticoides podrían actuar en la expresión genética, influyendo sobre la memoria de largo plazo que depende de la síntesis de proteínas que son implicadas en la reestructuración y la estabilización sináptica a través de ciertas glicoproteínas de superficie celular que tienen propiedades de reconocimiento y adhesión celular en las células neuronales (Lupien & McEwen, 1997; Sandi, 1998). La exposición crónica o dosis altas de glucocorticoides podrían producir atrofia sináptica y neurotoxicidad reversible,

probablemente relacionada con una inhibición en el transporte de glucosa y pérdida de ATP, lo cual podría conducir a una deficiente recaptura de glutamato, flujo de calcio y reparación del daño oxidativo, resultando en daño o muerte neuronal (Alderson & Novack, 2002; Wright, Lightner, Harman, Meijer, & Conrad, 2006).

## 7. La actividad colinérgica del estriado y la memoria

Múltiples estudios indican que existe un decremento de la memoria cuando se disminuye la actividad colinérgica en el cerebro. La administración de un agonista colinérgico, como la oxotremorina en forma sistémica, disminuye el deterioro producido por la administración en la amígdala de atropina o propanolol en una tarea de evitación inhibitoria, lo que sugiere la importancia del sistema colinérgico en la modulación de la memoria (Boccia, Blake, Baratti, & McGaugh, 2009; Introini-Collison, Dalmaz, & McGaugh, 1996).

Baratti y Kopf (1996) mostraron que el uso de anticolinesterasas como la fisostigmina o agonistas muscarínicos como la oxotremorina mejoraron la memoria cuando se administraron por vía subcutánea después de la tarea, pero cuando se administraron 30 minutos antes de la tarea no causaron ningún efecto.

En particular se ha descrito que la actividad colinérgica del estriado es indispensable para la consolidación de la memoria ya que la interferencia permanente o reversible en esta estructura produce un deterioro para adquirir y mantener una conducta, y cuando se administra un precursor colinérgico el efecto es inverso (Packard & Knowlton, 2002).

La matriz estriatal muestra una gran inmunorreacción a la acetilcolinesterasa. El estriado cuenta con la mayor concentración de acetilcolina y dopamina en el cerebro. Diversos investigadores han estudiado la acción de los agonistas y los antagonistas colinérgicos en el estriado y su acción sobre la memoria. Se ha observado que la aplicación de un antagonista colinérgico como la atropina o la escopolamina produce deterioro en la memoria en una prueba de evitación inhibitoria, mientras que cuando se administran en el estriado agonistas colinérgicos como la colina o inhibidores de la acetilcolinesterasa como la fisostigmina, se mejora la retención de la memoria. La actividad colinérgica del estriado depende de la actividad de las interneuronas locales, se ha demostrado que la síntesis de acetilcolina está incrementada en el estriado, cuando se mide momentos después de haber entrenado ratas en una tarea de evitación inhibitoria. (Prado-Alcalá, Cepeda, Verduzco, Jimenez, & Vargas-Ortega, 1984a). (Packard et al., 1996; Prado-Alcalá, 1985; Prado-Alcalá et al., 1984a; Solana-Figueroa & Prado-Alcalá, 1990).

Packard, Introini-Collison, y McGaugh (1996) administraron oxotremorina en el estriado y observaron mejoría en la retención en una tarea de evitación inhibitoria, pero esta se atenuó cuando lesionaron la estria terminalis, sin que se aboliera por completo la conducta. Díaz del Guante et al. (1993), al aplicar colina en el estriado dorsal observó que se produce mejoría en la retención en pruebas de evitación activa y pasiva. Esto sugiere que la actividad colinérgica en el estriado es esencial para el desarrollo de los procesos que intervienen en la consolidación de la memoria en una tarea de evitación inhibitoria (Prado-Alcalá et al., 1980<sup>a</sup>)

Existen reportes que sugieren la posibilidad de que el bloqueo de los receptores muscarínicos en el estriado dorso medial podría evitar una plasticidad neuronal similar a la LTP que produce un deterioro en el aprendizaje y la memoria. La activación de los receptores colinérgicos muscarínicos podrían facilitar el aprendizaje de una nueva respuesta cuando la situación demanda inhibir el uso de una estrategia y el aprendizaje de una nueva estrategia (Ragozzino, Jih, & Tzavos, 2002). Miranda, Ferreira, Ramírez-Lugo, y Bermúdez-Rattoni, (2003) estudiando la memoria a los sabores mencionan que el sistema colinérgico está involucrado en diferentes etapas de la formación de la memoria, al parecer la activación de los receptores muscarínicos facilita la fosforilación de receptores NMDA que pudieran estar involucrados en la consolidación de la memoria (Power, Vazdarjanova, & McGaugh, 2003).

## II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Conocemos bastante acerca de los mecanismos básicos de la memoria, así como de los procesos directos de su formación y se sabe que hay muchos otros factores que pueden alterarla, entre estos se incluyen: estimulantes (como las anfetaminas), depresores (como el fenobarbital), neuropéptidos, fármacos que afectan al sistema colinérgico o a las catecolaminas, péptidos opiáceos y hormonas. Esto ha llevado al concepto de modulación de los procesos de almacenamiento de la memoria (Palkovits et al., 1992; Rosenzweig & Leiman, 1998).

Entre estos agentes moduladores se ha observado que los glucocorticoides tienen complejas acciones sobre el miedo, la ansiedad, el aprendizaje y la memoria. La adrenalectomía produce efectos ansiogénicos y la administración de corticosteroides puede producir efectos ansiogénicos o ansiolíticos de acuerdo a la dosis utilizada

Bohus et al. (1970) realizaron un estudio para determinar la influencia de los corticosteroides en la memoria de una tarea de evitación pasiva en ratas, al comparar varios grupos de ratas que fueron entrenadas con diferentes intensidades de choque y diferentes dosis de corticosterona observaron que un choque más alto provocaba mejor retención de la memoria y dosis altas de corticosterona deterioraban la memoria.

Roberts, Singhal, y Roberts (1984) observaron que a las 2 horas de la administración sistémica de metirapona, se reducen los niveles de corticosterona en un 62%. También es interesante el efecto de los antagonistas a los receptores GR como el RU 38486 que al bloquear la retroalimentación negativa en forma secundaria incrementa los niveles séricos de ACTH y aumenta la producción endógena de esteroides adrenales. Gold y van Buskirk (1976) describieron mejoría de la memoria al administrar después del entrenamiento ACTH y además, al igual que su análogo ACTH 1-10, retardaron la extinción en un entrenamiento de evitación inhibitoria. Cuando se administró ACTH después del entrenamiento tuvieron latencias de retención más largas. En un segundo experimento se observó que la respuesta variaba con el momento del día y que con dosis altas las latencias fueron menores. Previos reportes han encontrado que los niveles de



esteroides son más altos en la tarde y que la dosis efectiva varía con la intensidad del choque, esto sugiere que la dosis inyectada se podría sumar a los niveles inducidos por el entrenamiento.

Roozendaal, Carmi, y McGaugh (1996) al administrar metirapona para inhibir la producción de corticosterona observaron que había una supresión, dosis dependiente de la elevación de la corticosterona inducida por el estrés. Con la finalidad de estudiar los efectos paradójicos de los corticosteroides los autores administraron metirapona (25 y 50 mg/kg) por vía subcutánea a ratas para bloquear la producción de corticosterona, 90 minutos antes del entrenamiento en una tarea de laberinto en agua y de evitación inhibitoria y administraron, en otros grupos, corticosterona o dexametasona (0.3 mg/kg) por la misma vía inmediatamente después del entrenamiento. Observaron que solamente las dosis altas de metirapona y no las bajas disminuyeron la inmovilidad inducida por miedo, las dosis bajas de metirapona bloquearon predominantemente la respuesta de MR y las altas afectan ambos GR y MR. El bloqueo de la liberación de GR produjo deterioro en la consolidación de la memoria (McGaugh, Cahill, & Roozendaal, 1996; McGaugh & Roozendaal, 2002; Roozendaal, Bohus, & McGaugh, 1996).

Conrad et al. (1997) usando un paradigma de laberinto en Y, compararon un grupo control de ratas adrenalectomizadas, un grupo con aldosterona y otro grupo que recibió RU 28362, encontraron que en el grupo que recibió aldosterona no presentó efectos en la memoria discriminativa o la habilidad inquisitiva. Los hallazgos son consistentes con la hipótesis de que los receptores MR están involucrados en la integración sensorial del ambiente espacial y los receptores GR, aunque no mejoran la memoria espacial, al parecer se asocian con los procesos de consolidación de la memoria espacial. Se sabe que en situaciones basales los receptores MR son ocupados por la corticosterona, pero en situaciones de estrés la corticosterona también ocupa los GR.

Roozendaal y McGaugh (1997b) estudiaron los efectos de la administración de drogas que afectan los receptores a los glucocorticoides en el núcleo basolateral y el núcleo central de la amígdala en una tarea de evitación inhibitoria y en el laberinto de agua. El agonista RU 28362 mejoró la retención probada 48 h después del entrenamiento de la tarea de evitación inhibitoria y cuando se administró en el núcleo central no existió ninguna diferencia. La administración de RU 38486 en el núcleo basolateral, pero no en el central,

deterioró la memoria de la tarea de laberinto acuático. En otro estudio Quirarte, Roozendaal, y McGaugh (1997) al administrar en el núcleo basolateral de la amígdala el agonista de receptores GR, RU 28362 observaron mejoría de la memoria, pero al aplicar propanolol (un bloqueador  $\beta$ -adrenérgico) en la misma región observaron bloqueo de la facilitación producida por dicho agonista a los glucocorticoides.

Estudios de nuestro laboratorio han demostrado que la activación de los receptores a glucocorticoides del estriado por medio de la administración de corticosterona inmediatamente después del entrenamiento en la tarea de evitación inhibitoria produce mejoría de la memoria. Los efectos son dependientes de la dosis utilizada, ya que bajas dosis no tienen efecto, dosis moderadas producen facilitación de la memoria y dosis altas producen deterioro. Además encontramos que que estos efectos son debidos a la interferencia con el proceso de consolidación, ya que el efecto es dependiendo del tiempo en que la corticosterona es administrada después del entrenamiento (Medina et al., 2007).

Muchos estudios en la amígdala muestran que cuando se administran dosis moderadas de glucocorticoides se mejora la memoria y hay evidencias de que la epinefrina interviene en forma importante en este proceso. Se cree que la noradrenalina tiene efectos involucrados en la memoria al activar el sistema colinérgico en la amígdala (McGaugh et al., 1996; McIntyre, Power, Roozendaal, & McGaugh, 2003).

En otros estudios al aplicar en ratas por vía intraventricular el antagonista GR, RU 38486 se observó que la consolidación de la memoria de tipo espacial se ve afectada (Oitzl & de Kloet, 1992). En otros experimentos en ratas adrenalectomizadas se encontró disminución en la retención de la memoria, sin embargo, mejoró al aplicar dexametasona, aunque esta mejoría no se observó si se administró RU 38486, ya sea subcutánea, intraventricular o en el giro dentado del hipocampo, mientras que la aplicación de un antagonista a MR, RU 28318 no tiene ningún efecto, esto sugiere que los glucocorticoides a través de los receptores GR influyen en la consolidación de la memoria en el hipocampo (de Kloet, de Kock, Schild, & Veldhuis, 1988). También en el hipocampo se ha observado una interacción entre la corticosterona y el sistema colinérgico; Douma et al. (1999) reportaron aumento de inmunoreactividad de receptores muscarínicos de acetilcolina en hipocampo en CA1 y CA3 en ratas adrenalectomizadas y cuando administraron corticosterona se previno el incremento de dichos receptores. Sin embargo, la lesión de las

neuronas colinérgicas del septo-hipocampal también disminuyó los receptores a glucocorticoides en el hipocampo, lo cual fue medido a través de técnicas de hibridación *in situ* (Han, Bizon, Chun, Maus, & Gallagher, 2002).

Existen evidencias de que los esteroides adrenales modulan el AMPc que estimula la liberación de noradrenalina presináptica. La metirapona inhibe la síntesis de corticosterona y también causa una regulación positiva del sistema AMPc estimulante de noradrenalina. Al parecer en las ratas adrenalectomizadas existe un déficit en la hidroxilación del glicógeno y aumento del AMPc estimulante de noradrenalina, que tiene que ver con la energía (Roberts et al., 1984). Se sabe que en el hipocampo, estructura involucrada en la memoria espacial, los procesos de estímulos emocionales y la regulación del eje de las hormonas que intervienen en el estrés tienen efectos sobre la plasticidad, en la sinaptogénesis reversible que es regulada por los esteroides ováricos y los aminoácidos excitatorios por la vía de receptores NMDA (McEwen, de Leon, Lupien, & Meaney, 1999; Sapolsky, 1985).

Existe una interdependencia entre el sistema esteroideo y otros neurotransmisores como las aminas, la acetilcolina, etc. Así mismo, se han observado estas interacciones en diferentes estructuras como en el hipocampo, la amígdala y los ganglios basales. Extensos estudios indican que los sistemas colinérgico y noradrenérgico participan en la modulación de la consolidación de la memoria, la administración de agonistas muscarínicos o adrenorreceptores mejoran la retención en una prueba de evitación inhibitoria y la inactivación de cualquiera de los receptores bloquea la mejoría de la memoria. La activación de  $\beta$ -adrenoreceptores en el núcleo basolateral de la amígdala también juega un papel crítico en la memoria. Por ejemplo, la norepinefrina y los agonistas adrenérgicos administrados en la amígdala después del entrenamiento mejoran la retención (dosis dependiente). Estudios por microdiálisis indican que la norepinefrina es liberada en la amígdala al administrar choques eléctricos en ratas y también durante el entrenamiento de evitación inhibitoria, empleando diferentes intensidades con un choque eléctrico (Power & McGaugh, 2002; Quirarte, Galvez, Roozendaal, & McGaugh, 1998; Roozendaal, Nguyen, Power, & McGaugh, 1999). Se ha observado también que en situaciones en las que hay gran producción de glucocorticoides como el estrés crónico la oxotremorina ejerce efectos de facilitación sobre la consolidación de la memoria (Orsini, Castellano, & Cabib, 2001).

Se ha observado una disminución dosis dependiente en la retención de la memoria en una prueba de evitación inhibitoria cuando se administran drogas anticolinérgicas en la región anterior del estriado de ratas. Este efecto no se presenta en la memoria de corto plazo, solamente en la memoria de largo plazo (Prado-Alcalá et al., 1984b). Prado-Alcalá et al. (1980a) entrenaron ratas en una prueba de evitación inhibitoria y al administrar atropina (un antagonista de los receptores M1 de la acetilcolina) en la región antero dorsal del estriado la consolidación de la memoria se bloqueó, no ocurriendo esto cuando se administró en la región posterior del estriado. Esto demuestra que la actividad colinérgica del estriado anterior es importante en la consolidación de la memoria no así la parte posterior. Solana-Figueroa y Prado-Alcalá (1990) realizaron un experimento similar, aplicaron atropina intraestriatalmente a ratas entrenadas en una tarea de evitación inhibitoria, y en otros grupos aplicaron colina (un precursor de la acetilcolina) y observaron que el efecto de deterioro en la retención de la memoria, producido por la atropina, no se presentaba al administrar colina, los efectos fueron dependientes de la dosis utilizada. En otros estudios se han encontrado resultados similares, observando mejoría en la retención de la memoria al administrar agonistas colinérgicos como la colina y la oxotremorina (Baratti & Kopf, 1996; Prado-Alcalá, 1985). Esta influencia del sistema colinérgico en la memoria no solo ha sido observado en el estriado, también ha sido reportado en la amígdala. Introini-Collison et al. (1996) administraron oxotremorina (un agonista colinérgico de los receptores muscarínicos M1) por vía sistémica y en la amígdala, observando que cuando se aplicó en forma sistémica y al mismo tiempo se administró atropina en amígdala, empeoró la retención de la memoria (Introini-Collison, Dalmaz, & McGaugh, 1996). Giordano y Prado-Alcalá (1986) observaron un efecto interesante, que aun cuando se administra atropina, el deterioro de la memoria no se observa si el choque eléctrico aplicado durante el entrenamiento de la tarea es alto, sugiriendo que al parecer existen otros sistemas que modulan o interactúan con el sistema colinérgico (Giordano y Prado-Alcalá, 1986).

Estudiando esa interacción con otros sistemas hormonales, Power, Roozendaal, y McGaugh (2000) encontraron que la inactivación de los receptores colinérgicos con atropina, en el núcleo basolateral de la amígdala de la rata bloquea el mejoramiento de la memoria producido por la administración subcutánea de dexametasona utilizando dosis de 0.3, 1 ó 3 mg/kg. La administración inmediatamente después del entrenamiento del

agonista de GR, RU 28362 directamente en el núcleo basolateral de la amígdala produjo mejoría de la retención medida 48 h después del entrenamiento, aunque dicha mejoría no se observó si se administraba junto con atropina. Estos experimentos sugieren que en la amígdala existe una relación entre el sistema GR y el sistema colinérgico en la consolidación de la memoria (McGaugh, Ferry, Vazdarjanova, & Roozendaal, 2000). Al parecer los glucocorticoides en el cerebro tienen efectos moduladores más que absolutos, Oitzl, Flutterm, Sutanto, y de Kloet (1998) reportaron que la administración de dosis altas del antagonista RU 38486, redujo la disponibilidad de GR y la administración continua de dicho antagonista mejoró la función cognitiva, mientras el bloqueo de la función de GR causó deterioro en la cognición (Mizoguchi et al., 2008). Otros estudios han sugerido que la estimulación de receptores M2 induce la liberación de corticosterona (Hemrick-Luecke, Bymaster, Evans, Wess, & Felder, 2002).

Sin embargo, se conoce poco acerca de los efectos de los glucocorticoides sobre el sistema colinérgico. Dado que tanto los glucocorticoides como el sistema colinérgico del estriado dorsal juegan un papel importante en la consolidación de la memoria de una tarea de evitación inhibitoria, el presente estudio tuvo como finalidad determinar si los glucocorticoides y el sistema colinérgico estriatal interactúan modulando la consolidación de la memoria.

### **III. HIPÓTESIS**

1. La administración intraestriatal de un agonista colinérgico (oxotremorina) después de un entrenamiento de evitación inhibitoria en ratas, producirá mejoría en la retención probada a las 48 horas.
2. La inhibición sistémica de la síntesis de corticosteroides (inducida por metirapona subcutánea) en animales entrenados en una tarea de evitación inhibitoria impedirá la mejoría en la retención producida por la administración post-entrenamiento de oxotremorina en el estriado.
3. El bloqueo de los GR (producido por RU38486) en animales entrenados en una tarea de evitación inhibitoria impedirá la mejoría en la retención producida por la administración post-entrenamiento de oxotremorina en el estriado.
4. El bloqueo de los receptores colinérgicos en animales entrenados en una tarea de evitación inhibitoria impedirá la mejoría en la retención producida por la administración intraestriatal de corticosterona.

### **V. OBJETIVOS**

#### **a) Objetivo general**

Determinar si el sistema colinérgico estriatal que participa en la consolidación de la memoria puede ser influido por los corticosteroides.

#### **b) Objetivos específicos**

1. Producir facilitación de la memoria en ratas administrando oxotremorina en el estriado inmediatamente después del entrenamiento en una tarea de evitación inhibitoria.

2. Evaluar si el bloqueo de la síntesis de corticosterona afecta la facilitación de la memoria de una tarea de evitación inhibitoria producida por la administración intraestriatal de oxotremorina.
  
3. Evaluar si el bloqueo de los receptores a glucocorticoides estriatales afecta la facilitación de la memoria de una tarea de evitación inhibitoria producida por la administración intraestriatal de oxotremorina.
  
4. Evaluar si la facilitación producida por la administración intraestriatal de corticosterona es afectada por la administración intraestriatal de un antagonista colinérgico como es la escopolamina.

## VI. MATERIALES Y MÉTODOS

El protocolo experimental de la presente tesis fue aprobado por el Comité de Bioética del Instituto de Neurobiología, UNAM para el uso de animales experimentales y está acorde con la norma mexicana NOM-062-ZOO-1999 y las normas estipuladas en la “Guide for Care and Use of Laboratory Animals” de NIH (ILAR, 1996).

### a) Sujetos

Se utilizaron ratas machos de la cepa Wistar con un peso entre 250 y 350 g. Todas las ratas permanecieron en cajas individuales (45.5 cm de largo, 26 cm de ancho y 20 cm de profundidad), con alimento y agua ad libitum, en el bioterio del laboratorio con temperatura controlada ( $24^{\circ}\text{C} \pm 1$ ) y un ciclo de luz-oscuridad de 12 h, iniciando el período de luz a las 7:00 h. Los animales ingresaron al bioterio del laboratorio, por lo menos una semana antes de la cirugía con la finalidad de que se adaptaran a las condiciones ambientales del bioterio del laboratorio.

### b) Cirugía

Se realizó una intervención quirúrgica en las ratas para la implantación bilateral de cánulas en el estriado. Cada rata fue anestesiada utilizando una dosis de pentobarbital sódico (50 mg/kg; Sedalphorte; Salud y Bienestar Animal S.A. de C.V.) y se aplicó atropina con la finalidad de evitar secreciones traqueobronquiales que obstaculizaran la vía aérea de la rata (0.4 mg/ml; Atropisa; Laboratorio Pisa; S.A. de C.V.); ambos fármacos fueron administrados intraperitonealmente. Se inyectó en forma subcutánea 1 ml de solución salina isotónica antes de la intervención para evitar la deshidratación. Una vez anestesiada la rata, se rasuró la piel del cráneo y se fijó en un aparato estereotáxico (Stoelting, CO; Illinois). Se incidió la piel del cráneo a nivel de la línea media en una longitud aproximada de 1.5 cm, raspando el periostio. Con un taladro para uso fino se



realizaron dos orificios pequeños en el hueso del cráneo, cuidando no lesionar la duramadre, a través de los cuales se colocó una cánula guía, en cada estriado, de 11 mm de largo fabricada con tubo de aguja hipodérmica de acero inoxidable del número 23. La implantación de las cánulas fue en el estriado anterodorsal en forma bilateral de acuerdo a las coordenadas antero posterior (AP), bregma; mediolateral (ML),  $\pm 3.2$  mm de la línea media; dorsoventral (DV) – 4.2 mm de la superficie del hueso (Paxinos & Watson, 2005). Se colocaron 2 tornillos de acero inoxidable en el cráneo para fijar las cánulas con la ayuda de cemento dental. A cada cánula se le puso un tapón-estilete de 11 mm de longitud, que se retiró para administrar las drogas. Se permitió que las ratas se recuperaran de la cirugía durante una semana antes de ser entrenadas.

### c) Aparatos

El entrenamiento y la prueba se llevaron a cabo en una caja de evitación inhibitoria que consiste en dos compartimientos del mismo tamaño (30 x 30 x 30 cm cada uno) separados por una puerta deslizable. El compartimiento de seguridad está iluminado y tiene una rejilla en el piso. El otro compartimiento “de castigo”, está oscuro y el piso tiene 2 láminas de acero inoxidable que se encuentran separadas 1.5 cm y pueden ser electrificadas por un estimulador de corriente continua. La duración de la aplicación de los estímulos y las latencias de entrada y retención son medidas automáticamente con la ayuda de un equipo electromecánico. La caja de condicionamiento está ubicada en un cuarto sonoamortiguado y oscuro provisto de un enmascarador de ruido (Figura 6).

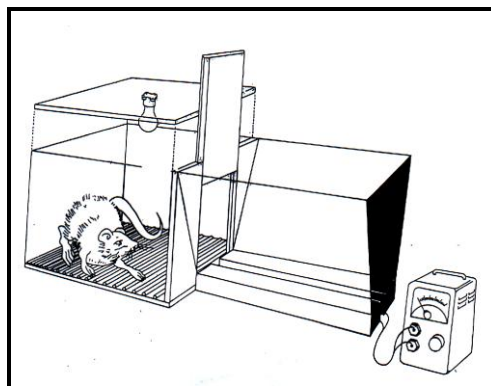


Figura 6. Diagrama del dispositivo de evitación inhibitoria.

#### **d) Entrenamiento**

En la tarea de evitación inhibitoria el sujeto en experimentación aprende a evitar un evento desagradable inhibiendo su movimiento. Para iniciar la sesión se colocó a la rata en el compartimiento de seguridad y 10 segundos más tarde se abrió la puerta que separa ambos compartimientos, permitiendo el paso de la rata al compartimiento de castigo, este tiempo se midió y se le nombró latencia de entrada. Una vez que la rata pasó al compartimiento de castigo se cerró la puerta y se aplicó un choque eléctrico en las patas a través de la rejilla. La duración de la administración del choque fue de 1 segundo, y la intensidad utilizada fue de 0.6 mA, ya que por estudios pilotos sabemos que los animales controles entrenados con esta intensidad presentan una retención baja. Inmediatamente después se retiró la rata y de ahí se trasladó a su caja habitación, y en un cuarto adyacente se administraron los fármacos a través de las cánulas implantadas en el estriado dorsal en forma bilateral. Cuarenta y ocho horas después del entrenamiento se evaluó la retención de la experiencia aversiva. Esta sesión se realizó de la manera como ya fue descrito, con la excepción de que no se aplicó el choque eléctrico. Se midió el tiempo que la rata tardaba en pasar al compartimiento de castigo (latencia de retención), si el animal no pasaba a los 600 segundos, se daba por terminada la sesión, y se le asignó 600 como latencia.

#### **e) Grupos y tratamientos**

**Experimento 1.** Este experimento tuvo como objetivo conocer la dosis efectiva que produjera facilitación de la memoria. Se entrenaron 8 grupos de ratas en la tarea de evitación inhibitoria con una intensidad de 0.6 mA. Para ello realizamos una curva dosis respuesta de oxotremorina en la que formaron siete grupos independientes de ratas que recibieron una dosis de oxotremorina ya sea 0.05, 0.1, 0.15, 0.3, 0.45, 0.6 o 1.0  $\mu\text{g}$  en 1  $\mu\text{l}$  (Sigma- Aldrich) en el estriado dorsal en forma bilateral inmediatamente después del entrenamiento de la tarea de evitación inhibitoria. Además se estudió un grupo control, al cual se le administró el vehículo que fue buffer de fosfato de sodio, con un pH de 7.4.

**Experimento 2.** La finalidad de este experimento fue conocer los efectos del bloqueo de los receptores a GR del estriado sobre la consolidación de la tarea de evitación inhibitoria. Para ello se realizaron grupos independientes de ratas a las que se les administró intraestriatalmente en forma bilateral vehículo, 5 o 10 ng de RU 38486 antagonista de los GR, 15 minutos antes del entrenamiento de la tarea de evitación inhibitoria.

**Experimento 3.** El objetivo de este experimento fue investigar si la atenuación de la liberación de los glucocorticoides podía alterar los efectos de facilitación de la activación colinérgica de tipo muscarínico en el estriado dorsal. Este experimento se dividió en dos partes: en la primera parte se realizaron tres grupos que recibieron vehículo de la metirapona (polietilenglicol diluido con solución de cloruro de sodio al 0.9%) 90 minutos antes del entrenamiento e inmediatamente después del entrenamiento recibieron vehículo de la oxotremorina, 0.3 o 1.0  $\mu\text{l}/\mu\text{l}$  de oxotremorina bilateralmente en el estriado dorsal. Además se estudiaron 3 grupos a los que se inyectó por vía subcutánea el inhibidor de 11- $\beta$ -hidroxilasa, metirapona (2-methyl-1,2-di-3-pyridyl-1-propanona; 50 mg/kg; Sigma-Aldrich) 90 minutos antes del entrenamiento, (la metirapona fue primero disuelta en 100% de polietilenglicol y después subsecuentemente diluido con solución de cloruro de sodio al 0.9% hasta llegar a la concentración apropiada) y que recibieron oxotremorina 0.3 o 1.0  $\mu\text{l}/\mu\text{l}$  o vehículo de la oxotremorina, en el estriado inmediatamente después del entrenamiento de la tarea de evitación inhibitoria en grupos independientes.

En la segunda parte del experimento se realizaron nuevamente tres grupos que recibieron vehículo de la metirapona 90 minutos antes del entrenamiento e inmediatamente después del entrenamiento recibieron vehículo de la oxotremorina, 0.3 o 1.0  $\mu\text{l}/\mu\text{l}$  de oxotremorina bilateralmente en el estriado dorsal. Además se estudiaron tres grupos a los que se les administró (10 ng/1 $\mu\text{l}$ ) del antagonista a los receptores a glucocorticoides RU 38486 (17 $\beta$ -hydroxy-11 $\beta$ -(4-dimetghylaminophenyl)-17 $\alpha$ -(1-propynyl)-estra-4,9-dien-3-one, Sigma Aldrich Inc.) bilateralmente en el estriado dorsal, 15 minutos antes del entrenamiento ya que se conoce que durante el entrenamiento se pueden liberar altos niveles de glucocorticoides que pudieran saturar los receptores a glucocorticoides, además se sabe que esta manipulación no afecta la adquisición (Rooszendaal & McGaugh, 1997b). Inmediatamente después del entrenamiento se administró en los mismos grupos vehículo

de la oxotremorina, 0.3 o 1.0 en un volumen de 1µl. El RU 38486 fue disuelto en etanol al 100% y subsecuentemente diluido en solución salina. (Roosendaal & McGaugh, 1997b)

Las dosis de oxotremorina fueron elegidas de acuerdo a los resultados del Experimento 1.

**Experimento 4.** Este experimento fue diseñado con la finalidad de investigar si la inactivación de los receptores colinérgicos muscarínicos podría alterar la facilitación de la consolidación de la memoria de la tarea de evitación inhibitoria provocada por la activación de los receptores a glucocorticoides estriatales ya reportada anteriormente. Para ello se administró bilateralmente en el estriado; vehículo, 10 o 30 ng de corticosterona inmediatamente después del entrenamiento de la tarea de evitación inhibitoria en grupos independientes de ratas. En una segunda parte del experimento se estudiaron otros tres grupos independientes de ratas que también recibieron vehículo, 10 o 30 ng de corticosterona y conjuntamente escopolamina (30 µg; Sigma-Aldrich) después del entrenamiento. El volumen total inyectado fue de 1µl y el vehículo utilizado fue etanol al 2% en buffer fosfato; pH 7.4.

#### **f) Administración de sustancias.**

Las sustancias se administraron en el estriado dorsal por medio de una bomba de perfusión lenta (WPI modelo sp200i), acoplada a una microjeringa Hamilton de 10 µl, conectada a través de un tubo de polietileno calibre PE-20 a un inyector de 12 mm fabricado con tubo de aguja hipodérmica de acero inoxidable del número 30.

#### **g) Histología**

Todos los animales fueron sacrificados con una sobredosis de pentobarbital sódico y perfundidos con solución salina isotónica seguida de formaldehído al 4%. Una vez terminada la perfusión se extrajo el cerebro y se colocó en un frasco con una mezcla de una solución de formaldehído al 4 %.

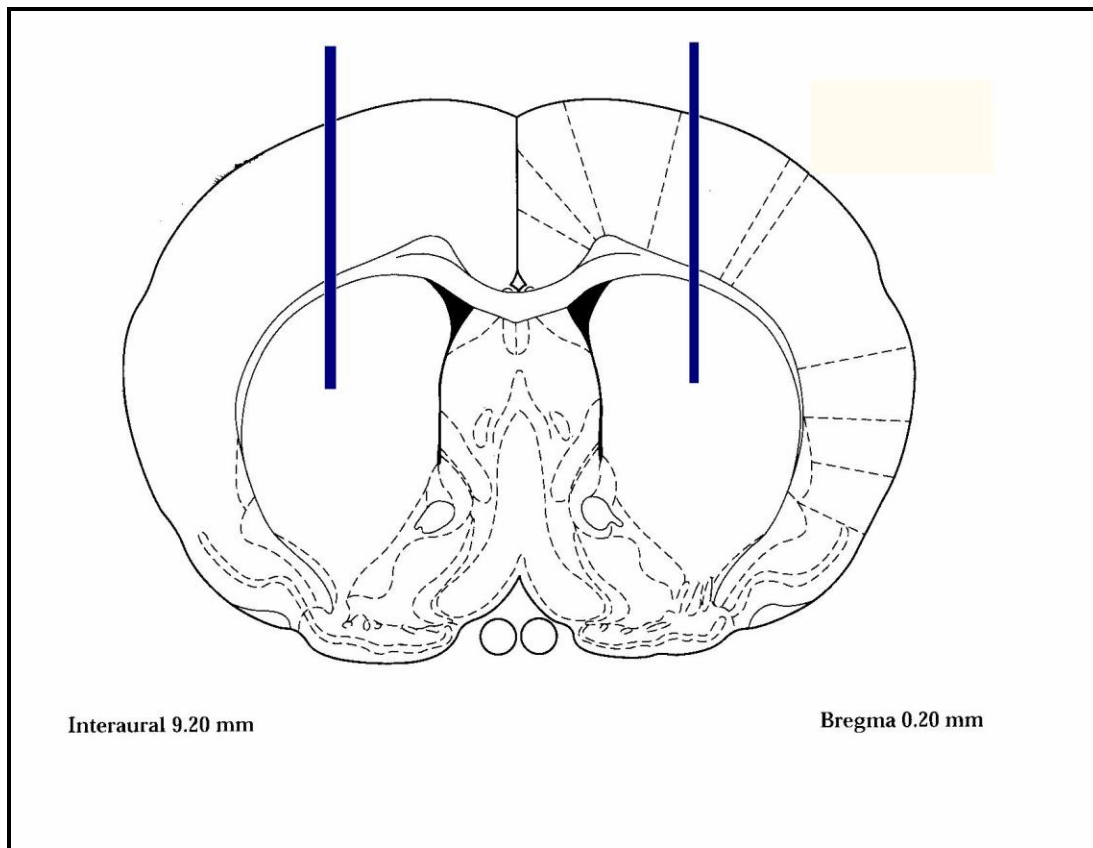


Figura 7. Corte sagital de estriado dorsal y posición de cánulas (Modificado de Paxinos & Watson, 2005).

Posteriormente se realizaron cortes coronales de 50  $\mu\text{m}$  de espesor que se tiñeron con la técnica de Nissl y fueron observados en el microscopio para localizar las puntas de las cánulas. Aquellos cerebros que no tuvieron las puntas de las cánulas en la región elegida fueron descartados para el análisis de resultados (Figura 7).

El desarrollo temporal de los experimentos se muestra en la Figura 8

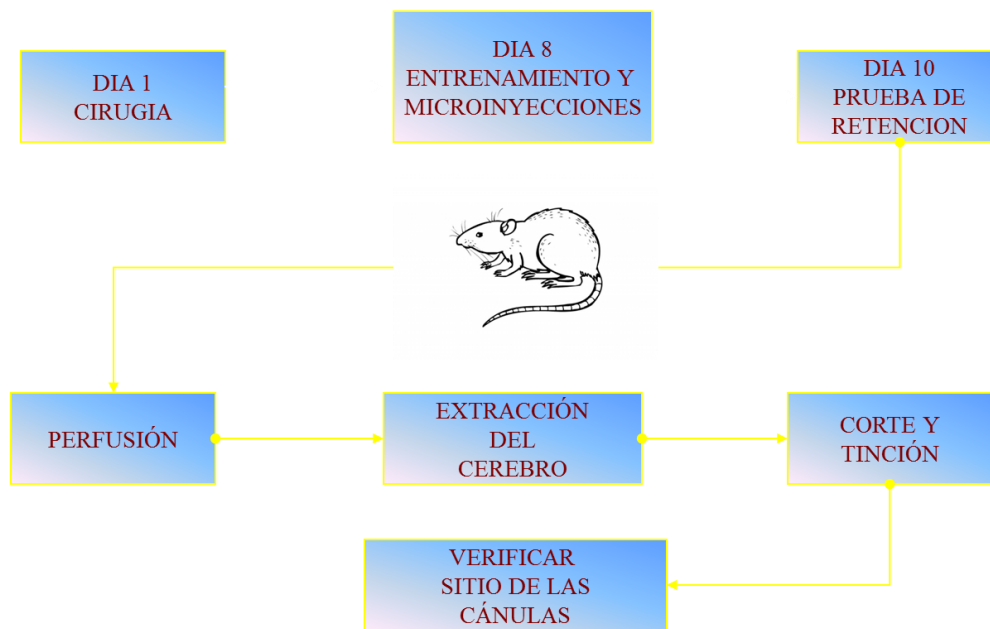


Figura 8. Desarrollo temporal de los experimentos

#### h) Análisis estadístico

En los experimentos realizados debido a que la variable dependiente no tiene una distribución normal, porque existe un valor de corte preestablecido arbitrariamente para la sesión de retención (600 segundos), se usó para el análisis la estadística no paramétrica. Se utilizó la prueba de Kruskal Wallis para identificar si existían diferencias significativas entre varios grupos, cuando el diseño fue de tres grupos o más. Para las comparaciones entre dos grupos se aplicó la prueba U de Mann-Whitney. Las hipótesis fueron evaluadas con un nivel de significancia menor o igual a 0.05.

## VII. RESULTADOS

### Experimento 1.

La finalidad de este experimento fue conocer la dosis efectiva del anticolinérgico muscarínico que produjera facilitación de la memoria. Para ello se realizó una curva dosis respuesta de oxotremorina estudiaron ocho grupos independientes de ratas que recibieron vehículo o una de las diferentes dosis de oxotremorina 0.05, 0.1, 0.15, 0.3, 0.45, 0.6 o 1.0  $\mu\text{g}$  en  $1\mu\text{l}$  en el estriado dorsal en forma bilateral inmediatamente después del entrenamiento de la tarea de evitación inhibitoria.

Al comparar las latencias de entrada durante el entrenamiento de todos los grupos no se encontraron diferencias estadísticamente significativas [ $H(5)=5.15$ ,  $P=0.39$ ] (Figura 9), como era de esperarse ya que las ratas no habían recibido tratamiento.

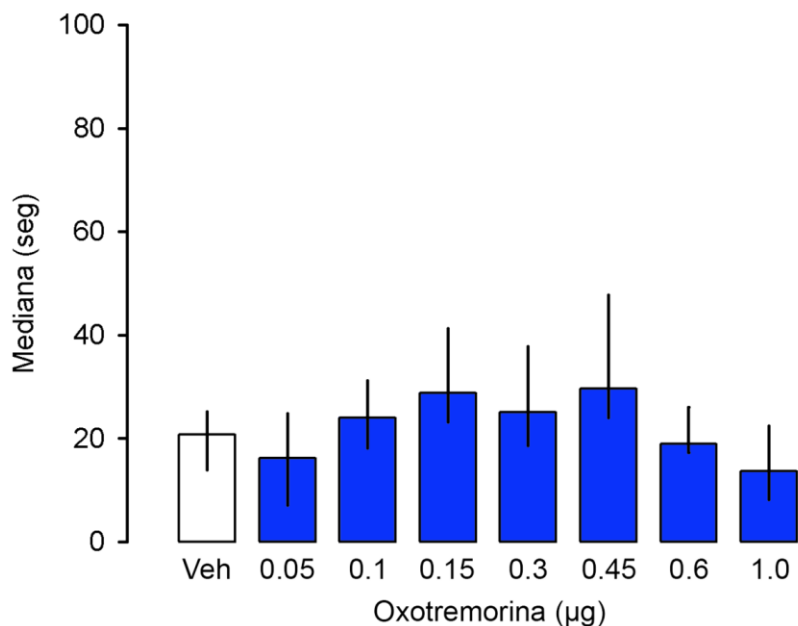


Figura 9. Experimento 1, Latencias de entrada. Las barras muestran la mediana y los rangos intercuantiles de las latencias de entrada al compartimento de castigo durante el entrenamiento de

los diferentes grupos. Se encuentran separados por grupos respecto a la dosis de oxotremorina que recibirían después del entrenamiento. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

Cuando se compararon las latencias de retención obtenidas 24 horas después del entrenamiento y la administración de la oxotremorina, utilizando el análisis estadístico no paramétrico Kruskal-Wallis, encontramos diferencias significativas [ $H(5)=18.24$ ,  $P<0.005$ ] y para identificar la diferencia entre grupos utilizando la prueba U de Mann-Whitney encontramos diferencias estadísticamente significativas entre el grupo que recibió 0.3  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  de y el resto de los grupos (Figura 10).

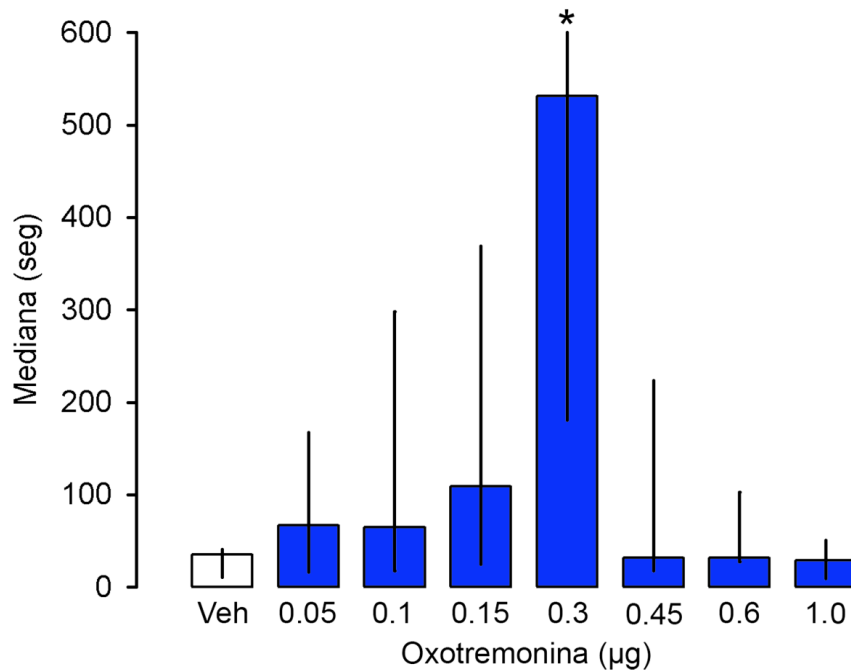


Figura 10. Experimento 1, Latencias de retención. Las barras muestran las medianas y los rangos intercuartilares de las latencias de retención de los diferentes grupos probados a las 48 horas después del entrenamiento. El choque eléctrico administrado fue de 0.6 mA. La oxotremorina fue administrada inmediatamente después del entrenamiento. El asterisco (\*) muestra diferencia significativa con  $P<0.005$ .



## Experimento 2.

La finalidad de este experimento fue conocer los efectos del bloqueo de los receptores a GR del estriado sobre la consolidación de la tarea de evitación inhibitoria. Se realizaron grupos independientes de ratas a las que se les administró intraestriatalmente en forma bilateral vehículo, 5 o 10 ng del antagonista de los GR RU 38486, 15 minutos antes del entrenamiento de la tarea de evitación inhibitoria. Al comparar las latencias de entrada de los diferentes grupos, durante el entrenamiento, no se encontraron diferencias significativas [ $H(2)=0.61$   $P=0.7365$ ] (Figura 11). Tampoco se encontraron diferencias significativas al comparar las latencias de retención de los diferentes grupos [ $H(2)=0.16$ ,  $P=0.9243$ ] (Figura 12) después del tratamiento con RU 38486.

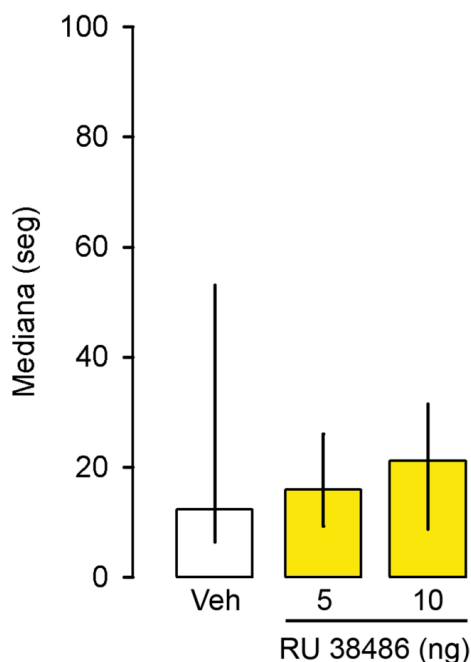


Figura 11. Experimento 2, Latencias de retención. Las barras representan las medianas y los rangos intercuartilares de las latencias de retención de los diferentes grupos probados a las 48 horas después del entrenamiento. Los grupos recibieron el RU 38486 o vehículo en el estriado 15 minutos antes del entrenamiento. El choque eléctrico administrado fue de 0.6 mA. No existieron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos.

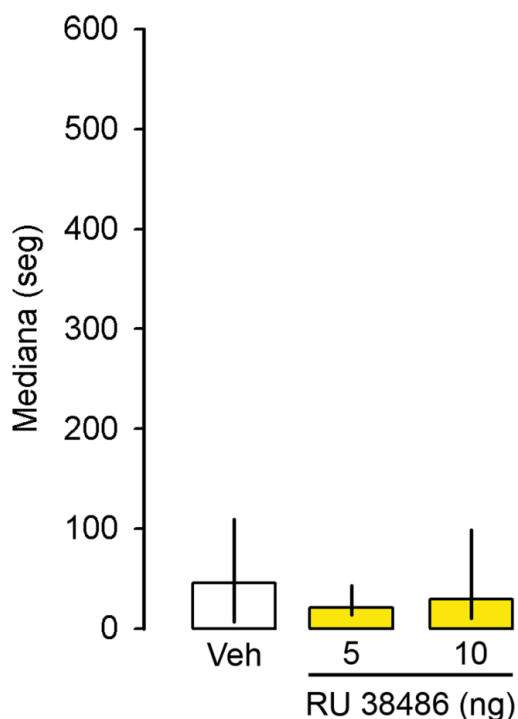


Figura 12. Experimento 2, Latencias de entrada. Las barras muestran la mediana y los rangos intercuantiles de las latencias de entrada al compartimento de castigo durante el entrenamiento de los diferentes grupos. Los grupos recibieron el RU 38486 o vehículo en el estriado 15 minutos antes del entrenamiento. No existieron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos.

### Experimento 3.

El objetivo de este experimento fue investigar si la atenuación de la liberación de los glucocorticoides podía alterar los efectos de facilitación de la activación colinérgica de tipo muscarínico en el estriado dorsal. En la primera parte (A) se estudiaron 3 grupos a los que se inyectó por vía subcutánea metirapona 90 minutos antes del entrenamiento seguidos de la administración de oxotremorina 0.3 o 1.0  $\mu\text{l}/\mu\text{l}$  inmediatamente después del entrenamiento. Cuando se analizaron las latencias de entrada utilizando la prueba de Kruskal-Wallis no se encontraron diferencias significativas entre los grupos [ $H(5)=6.45$ ,  $P=0.26$ ] (Figura 13).

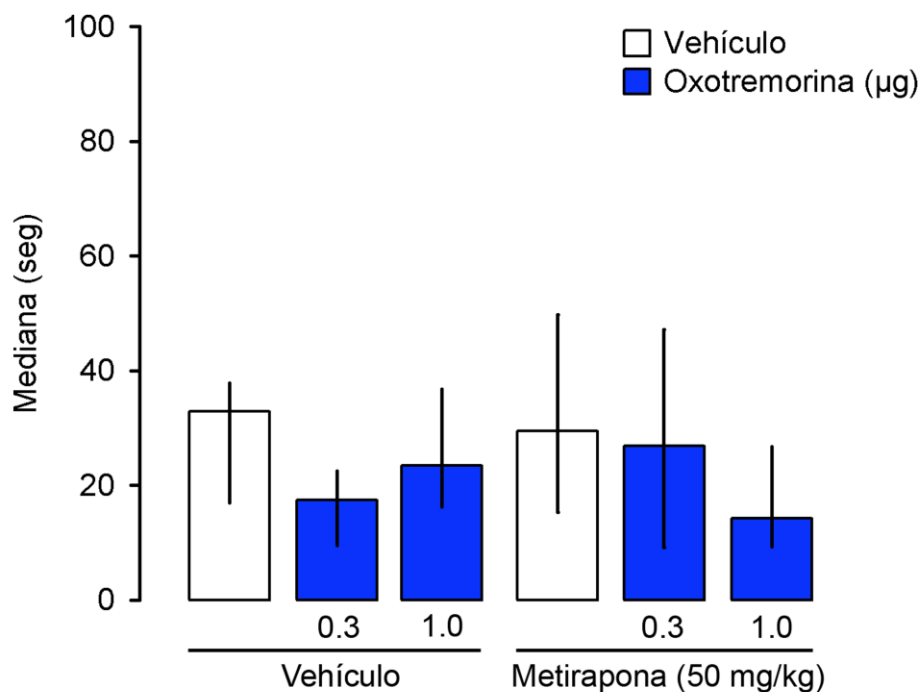


Figura 13. Experimento 3A. Latencias de entrada. Las barras muestran la mediana y los rangos intercuartilares de las latencias de entrada al compartimento de castigo durante el entrenamiento de los diferentes grupos. La metirapona o el vehículo fueron administrados por vía subcutánea 90 minutos antes del entrenamiento, y la oxotremorina o el vehículo fueron administrados en el estriado inmediatamente después del entrenamiento. El choque eléctrico fue de 0.6 mA. No existieron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos.

Al aplicar la prueba de Kruskal-Wallis a las latencias de retención encontramos diferencias estadísticamente significativas entre los grupos [ $H(5)=20.48$ ,  $P=0.001$ ]. De forma consistente con el primer experimento, la prueba de U de Mann Whitney reveló que el grupo de ratas tratadas con 0.3 μg de oxotremorina tuvo latencias mayores que al grupo que se le administró vehículo o 1.0 μg de oxotremorina, \*  $P<0.005$  (Figura 14).

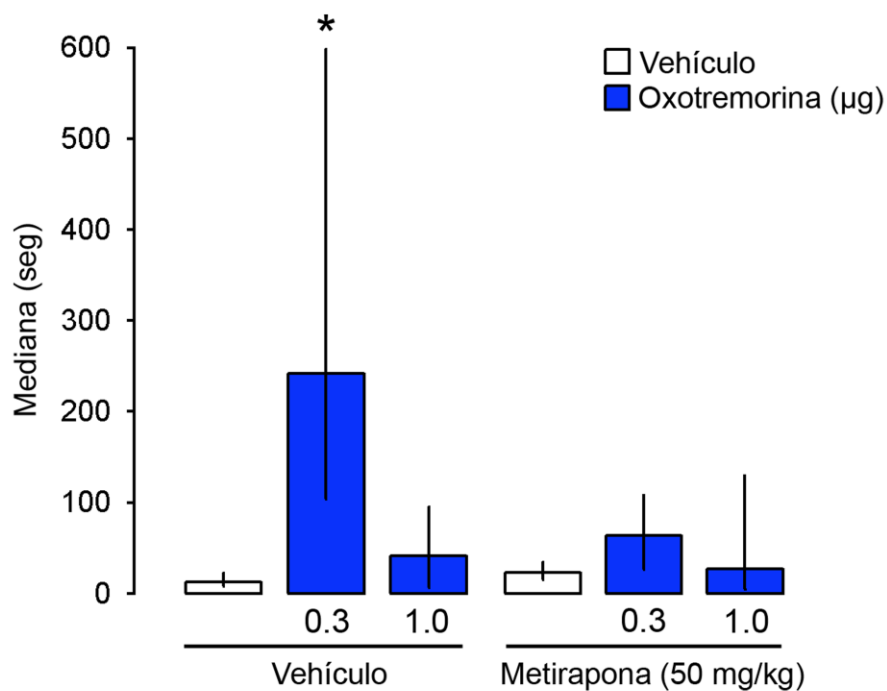


Figura 14. Experimento 3A, Latencias de retención. Las barras representan las medianas de las latencias de retención medidas a las 48 horas después del entrenamiento. Los grupos recibieron metirapona o vehículo por vía subcutánea 90 minutos antes del entrenamiento la oxotremorina o el vehículo se administraron bilateralmente en el estriado inmediatamente después del entrenamiento. El choque eléctrico fue de 0.6 mA. El grupo que presentó diferencias estadísticamente significativas  $P < 0.005$  con respecto al resto de los grupos se marca con \*.

En la segunda parte del experimento (B) el antagonista RU 38486 (10 ng) fue administrado bilateralmente en el estriado dorsal 15 min antes del entrenamiento e inmediatamente después del entrenamiento se administró oxotremorina (0.3 o 1.0 µg/µl). Cuando se analizaron las latencias de entrada durante el entrenamiento no se encontraron

diferencias estadísticamente significativas entre los grupos [ $H(5)=7.61$ ,  $P=0.017$ ] (Figura 15). Con respecto al análisis de las latencias de retención que se obtuvieron al probar en la tarea de evitación inhibitoria 48 horas después del entrenamiento al aplicar la prueba de Kruskal-Wallis encontramos diferencias estadísticamente significativas entre los grupos [ $H(5)=17.49$ ,  $P=0.005$ ]. De forma consistente con el primer experimento y la primera parte de este experimento, la prueba de U de Mann Whitney reveló que el grupo de ratas tratadas con 0.3  $\mu\text{g}$  de oxotremorina tuvo latencias mayores que al grupo que se le administró vehículo o 1.0  $\mu\text{g}$  de oxotremorina, \*  $P<0.005$  (Figura 16).

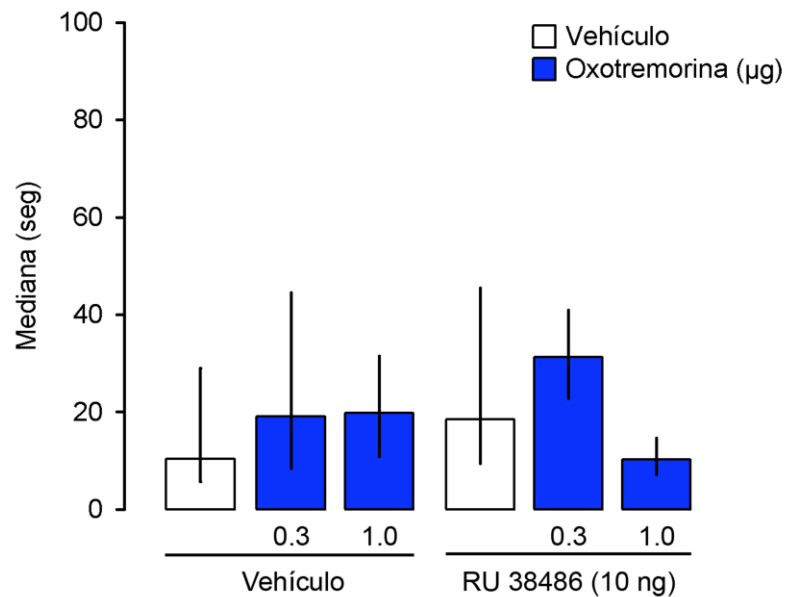


Figura 15. Experimento 3B, Latencias de entrada. Las barras muestran la mediana y los rangos intercuartilares de la latencia de entrada al compartimento de castigo durante el entrenamiento de los diferentes grupos. El RU 38486 o el vehículo fueron administrados en el estriado 15 minutos antes del entrenamiento y la oxotremorina o el vehículo fueron administrados en el estriado inmediatamente después del entrenamiento. El choque eléctrico administrado fue de 0.6 mA. No existieron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos.

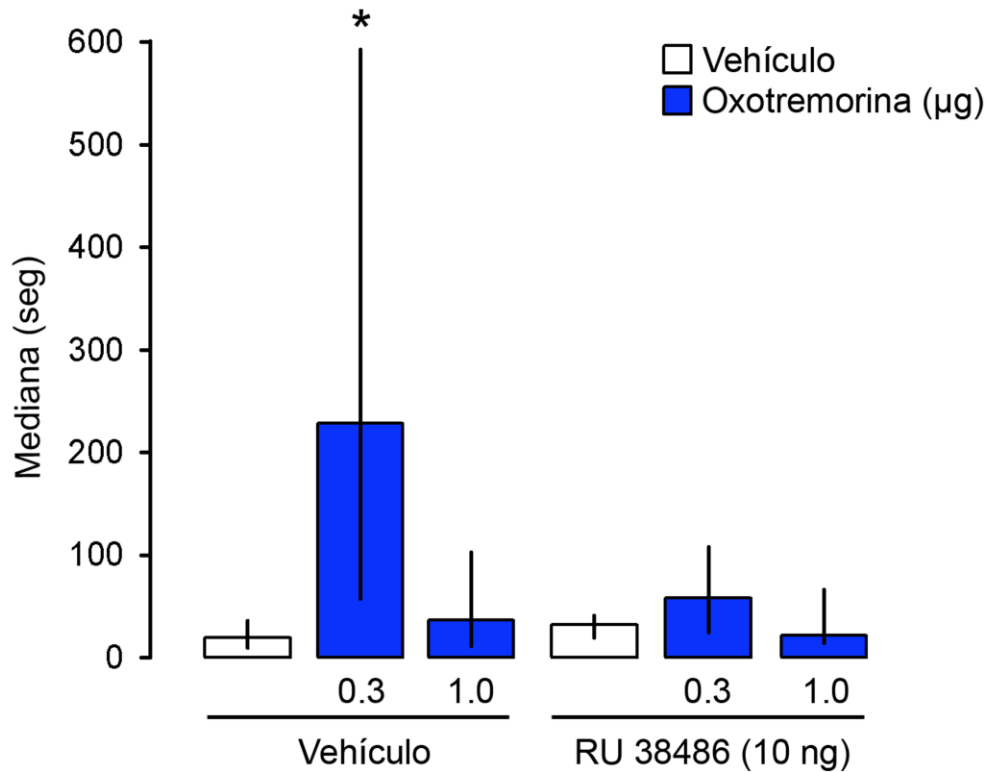


Figura 16. Experimento 3B, Latencias de retención. Las barras representan la mediana y los rangos intercuartilares de las latencias de retención medidas a las 48 horas después del entrenamiento. El RU 38486 o el vehículo fueron administrados en el estriado 15 minutos antes del entrenamiento y la oxotremorina o el vehículo fueron administrados en el estriado inmediatamente después del entrenamiento. El choque eléctrico administrado fue de 0.6 mA. El grupo con el asterisco (\*) fue estadísticamente diferente de los demás grupos.

#### Experimento 4.

Este experimento fue diseñado con la finalidad de investigar si la inactivación de los receptores colinérgicos muscarínicos podrían alterar la facilitación de la consolidación de la memoria de la tarea de evitación inhibitoria provocada por la activación de los receptores a glucocorticoides estriatales ya reportada anteriormente. Se formaron seis grupos de ratas; respectivamente recibieron vehículo de escopolamina más 10 ng de corticosterona, vehículo de escopolamina más 30 ng de corticosterona, vehículo de la corticosterona más

vehículo de corticosterona y vehículo de escopolamina, vehículo de corticosterona y escopolamina 30  $\mu\text{g}$ , corticosterona 10 ng y escopolamina 30  $\mu\text{g}$  ; corticosterona 30 ng y escopolamina 30  $\mu\text{g}$  ; inmediatamente después del entrenamiento en la tarea de evitación inhibitoria. Al comparar las latencias de entrada entre los grupos, durante el entrenamiento, no encontraron diferencias estadísticamente significativas [ $H(5)=5.15$ ,  $P=0.40$ ] (Figura 17).

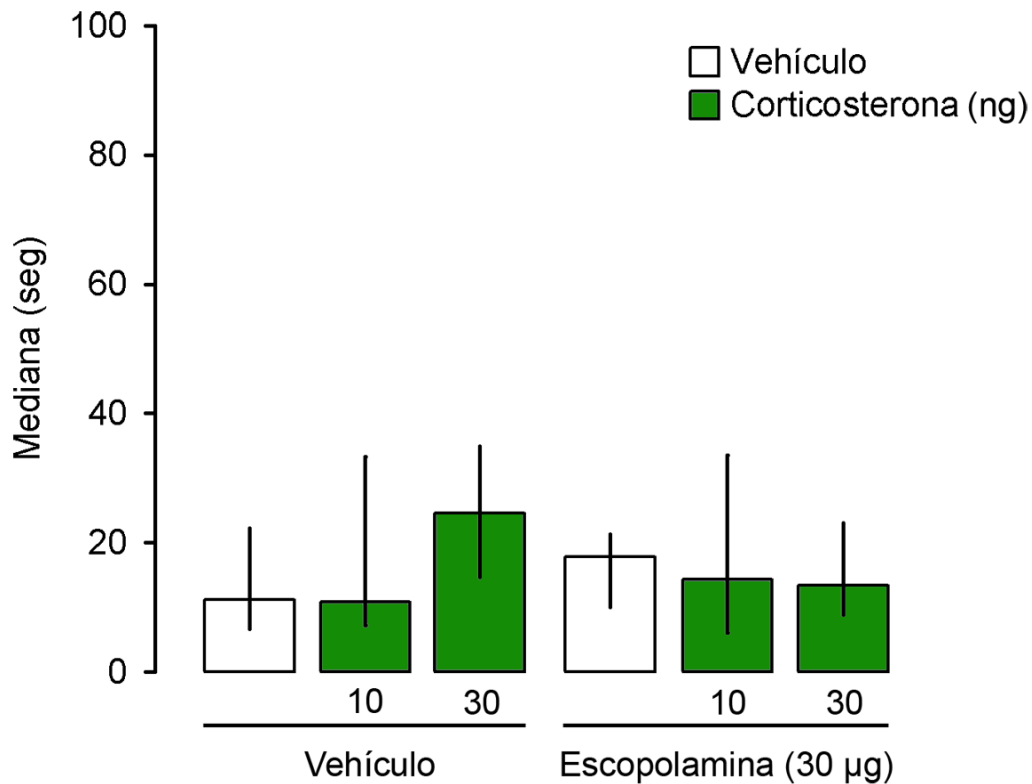


Figura 17. Experimento 4, Latencias de entrada. Las barras muestran la mediana y los rangos intercuartilares de las latencias de entrada al compartimento de castigo durante el entrenamiento de los grupos. La administración de los diferentes fármacos se realizó inmediatamente después del entrenamiento de la tarea de evitación inhibitoria. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

Cuando se analizaron los datos obtenidos de la prueba de retención utilizando la prueba de Kruskal-Wallis se encontraron diferencias estadísticamente significativas [H(5)=11.28, P<0.05]. Cuando se aplicó la U de Mann-Whitney para conocer entre que pares de grupos se encontraba la diferencia los datos arrojaron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo que recibió 10 ng de corticosterona con respecto a los demás grupos \* P<0.05. La dosis de 10 ng de corticosterona produjo facilitación de la consolidación de la memoria, mientras que la dosis de 30 ng fue inefectiva. El tratamiento de escopolamina administrado al mismo tiempo que la corticosterona bloqueó el efecto de facilitación de la memoria ya que este grupo presentó latencias de retención menores al grupo que recibió solamente corticosterona (Figura 18).

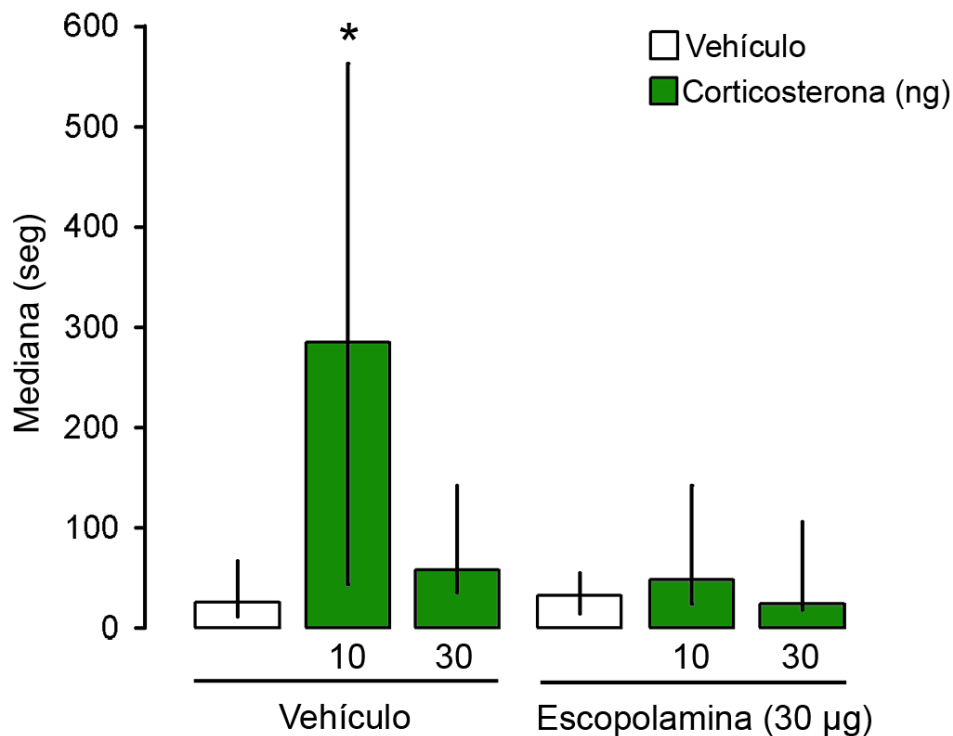


Figura 18. Experimento 4, Latencias de retención. Las barras representan la mediana y los rangos intercuartilares de las latencias de retención medidas a las 48 horas después del entrenamiento. La administración de los diferentes fármacos se realizó inmediatamente después del entrenamiento de la tarea de evitación inhibitoria. El choque eléctrico utilizado fue de 0.6 mA. El asterisco (\*) representa el grupo que fue estadísticamente diferente de los demás grupos.



## VIII. DISCUSIÓN

Los presentes hallazgos indican que los glucocorticoides y el sistema colinérgico del estriado dorsal interactúan en el mejoramiento de la consolidación de la memoria en una prueba de evitación inhibitoria.

Observamos que la administración intraestriatal de un agonista colinérgico (oxotremorina), inmediatamente después de una tarea de evitación inhibitoria, mejora la consolidación de la memoria dependiendo de la dosis, ya que 0.3  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  produjo facilitación de la memoria pero dosis mayores o menores no tuvieron efecto (Figura 10). Estos resultados coinciden con experimentos previos en los que se administraron otros fármacos colinérgicos en el estriado (Díaz del Guante et al., 1993; Haycock et al., 1973; Neill & Grossman, 1970; Packard et al., 1996; Prado-Alcalá et al., 1984a; Sandberg et al., 1984) en la amígdala (Power et al., 2000), en el hipocampo (Liu & Liang, 2009) y cuando se administran en forma sistémica (Baratti & Kopf, 1996). Al inhibir en forma sistémica la síntesis de corticosterona con metirapona (50 mg/kg) encontramos que se bloquea la facilitación de la memoria producida por oxotremorina en forma similar a los reportado previamente en la literatura (Oitzl & de Kloet, 1992; Oitzl et al., 1998; Roozendaal, Bohus, & McGaugh, 1996). Estos datos sugieren que el bloqueo sistémico de la producción de corticosterona, causa niveles séricos menores, e influye en forma importante en la respuesta al agonista colinérgico (oxotremorina) disminuyendo la mejoría en la consolidación de la memoria que encontramos por la administración estriatal de oxotremorina (0.3  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ) (Figura 14). Así mismo la mejoría de la retención de la memoria al aplicar un agonista de los receptores a glucocorticoides en estriado, se ve afectada al bloquear el sistema colinérgico estriatal con escopolamina. Esta interacción entre el sistema colinérgico y los corticosteroides, ya había sido sugerida en otras estructuras como en la amígdala pero no se conocía en el estriado. Power et al. (2000) observaron que la acción facilitadora de la memoria al administrar en la amígdala un glucocorticoide desaparecía al administrar un antagonista colinérgico (atropina), sugiriendo que el sistema colinérgico modula la respuesta de los glucocorticoides; nuestros resultados muestran que también existe una

modulación de los glucocorticoides y el sistema colinérgico. Estos resultados sugieren que más que una acción unidireccional, existe una acción bidireccional, y más que de antagonismo entre ambos sistemas, se trata de una posible modulación entre ambos. En el Experimento 2, cuando bloqueamos directamente los receptores a los glucocorticoides en el estriado (RU 38486), no encontramos diferencias estadísticamente significativas en la retención comparado con el grupo control (Figura 15), lo que nos muestra que la acción del antagonista de los receptores GR en el estriado no deteriora la memoria o dificulta la actividad motora con respecto al grupo control, por lo menos con un estímulo aversivo de 0.6 mA durante un segundo con la dosis del antagonista a GR utilizado. En el Experimento 3, al bloquear los receptores a glucocorticoides (RU38486) directamente en el estriado y activar los receptores a acetilcolina estriatales, observamos que disminuía, en forma importante, la mejoría de la retención observada con la oxotremorina. Esto sugiere que los glucocorticoides, a través de sus receptores GR en el estriado, podrían modular la respuesta de la actividad colinérgica en una prueba de evitación inhibitoria y que tal vez esas respuestas dependan de un equilibrio que exista entre los niveles de glucocorticoides y la ocupación de sus receptores en el órgano blanco, de la ocupación de receptores colinérgicos, de su equilibrio, dando como resultado una modulación bidireccional reflejándose finalmente en diferencias en las tareas conductuales.

Así estos hallazgos sugieren que los glucocorticoides podrían actuar en el estriado dorsal y selectivamente mejorar la consolidación de la memoria en una prueba de evitación inhibitoria. Aunque los glucocorticoides y el sistema colinérgico actúan en diferentes regiones del cerebro para mejorar la consolidación de la memoria en un entrenamiento de evitación, y cada una de esas regiones cerebrales pudieran contribuir en diferentes formas en el mejoramiento de la memoria de componentes específicos adquiridos durante la tarea.

Sin embargo el saber cómo ocurre dicha interacción o modulación implica fenómenos biológicos sumamente complejos que, al parecer, están relacionados con la respuesta de U invertida observada al administrar drogas como los adrenérgicos, los glucocorticoides, los agonistas y los antagonistas colinérgicos (Gold & van Buskirk, 1976). Hoy en día no se conoce la respuesta exacta sin embargo los hallazgos en diferentes experimentos en células en otros órganos (endotelio) (Limbourg et al., 2003; Simoncini et al., 2000), en sistema nervioso central (Kiss & Vizi, 2001; Pepicelli, Raiteri, & Fedele,

2004) y aún en el estriado (Hudson, Corbett, Howlett, & Klein, 2001; Ikarashi, Takahashi, Ishimaru, Shiobara, & Maruyama, 1998), en tareas que estudian la memoria (Rickard & Gibbs, 2003), sugieren un mecanismo complejo en el que juega un papel de suma importancia el óxido nítrico como lo habían sugerido ya otros investigadores entre ellos Bailey et al. (1996), al parecer actuando directamente sobre los receptores a glutamato NMDA, los canales de calcio y el sistema de segundos mensajeros relacionados a la proteína G (Centonze et al., 2001; Eguiagaray, Egea, Bravo-Cordero, & Garcia, 2004), el cual podría ser el punto crucial de la interacción entre glucocorticoides y el sistema colinérgico (Melo, Agostinho, & Oliveira, 2003) como seguramente de otros neurotransmisores como la serotonina, la dopamina, norepinefrina y otros esteroides como los estrógenos y la progesterona (Audesirk, Cabell, Kern, & Audesirk, 2003a, 2003b; Plech, Klimkiewicz, & Maksym, 2003; Simoncini et al., 2002). Para resolver este problema será necesario continuar la investigación combinando diferentes dosis de glucocorticoides, agonistas y antagonistas colinérgicos en tareas conductuales y así mismo bloquear o facilitar las vías bioquímicas del óxido nítrico en el estriado (Titheradge, 1998) o medir sus productos metabólicos con técnicas de biología molecular (Necchi, Virgili, Monti, Contestabile, & Scherini, 2002) midiendo la producción de citrulina o nitritos que son productos secundarios en las vías de producción del óxido nítrico, así como el bloquear sus síntesis al mismo tiempo que se administran o manipulan diferentes dosis de precursores (Keilhoff, Reiser, Stanarius, Aoki, & Wolf, 2000; Prickaerts et al., 2004) y observar los efectos conductuales en diferentes tareas para estudiar la memoria, como es la tarea de evitación inhibitoria.

En conclusión los hallazgos presentados en este trabajo indican que la consolidación de la memoria en una prueba de evitación inhibitoria es facilitada por la acción concurrente del sistema colinérgico estriatal y los glucocorticoides. Esto presenta un interesante y amplio campo de investigación para comprender la fisiología y los mecanismos moleculares que rigen la consolidación de la memoria.

## IX. CONCLUSIONES

1. La administración de oxotremorina (0.3  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ) en el estriado dorsal de ratas, inmediatamente después del entrenamiento de una tarea de evitación inhibitoria, mejora la retención de la memoria probada 48 horas después.
2. La administración subcutánea de metirapona (50 mg/kg), 90 minutos antes del entrenamiento de una tarea de evitación inhibitoria, bloquea el efecto de facilitación de la memoria provocado por la administración de oxotremorina en el estriado dorsal.
3. El bloqueo de los receptores a glucocorticoides en el estriado dorsal con RU 38486 (10 ng/ $\mu\text{l}$ ), 15 minutos antes del entrenamiento de una tarea de evitación inhibitoria bloquea la facilitación de la memoria producida por la administración de oxotremorina intraestriatal.
4. La administración de corticosterona y escopolamina en el estriado dorsal inmediatamente después del entrenamiento de una tarea de evitación inhibitoria, no produce efectos sobre la memoria.

## X. REFERENCIAS

- Abrari, K., Rashidy-Pour, A., Semnianian, S., & Fathollahi, Y. (2009). Post-training administration of corticosterone enhances consolidation of contextual fear memory and hippocampal long-term potentiation in rats. *Neurobiology of Learning and Memory*, *91*(3), 260-265.
- Ahima, R., Krozowski, Z., & Harlan, R. (1991). Type I corticosteroid receptor-like immunoreactivity in the rat CNS: distribution and regulation by corticosteroids. *The Journal of Comparative Neurology*, *313*(3), 522-538.
- Ahima, R. S., & Harlan, R. E. (1991). Differential corticosteroid regulation of type II glucocorticoid receptor-like immunoreactivity in the rat central nervous system: topography and implications. *Endocrinology*, *129*(1), 226-236.
- Alderson, A. L., & Novack, T. A. (2002). Neurophysiological and clinical aspects of glucocorticoids and memory: A review. *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology*, *24*(3), 335-355.
- Audesirk, T., Cabell, L., Kern, M., & Audesirk, G. (2003a). beta-estradiol influences differentiation of hippocampal neurons in vitro through an estrogen receptor-mediated process. *Neuroscience*, *121*(4), 927-934.
- Audesirk, T., Cabell, L., Kern, M., & Audesirk, G. (2003b). Enhancement of dendritic branching in cultured hippocampal neurons by 17 beta-estradiol is mediated by nitric oxide. *International Journal of Developmental Neuroscience*, *21*(4), 225-233.
- Baddeley, A. D. (1995). The psychology of memory. En A. D. Baddeley, B. A. Wilson & F. A. Watts (Eds.), *Handbook of memory disorders*. (pp. 3–25). London: John Wiley & Sons Ltd.
- Bailey, C. H., Bartsch, D., & Kandel, E. R. (1996). Toward a molecular definition of long-term memory storage. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *93*(24), 13445-13452.
- Baratti, C. M., & Kopf, S. R. (1996). The post-training memory enhancement induced by physostigmine and oxotremorine in mice is not state-dependent. *Neurobiology of Learning and Memory*, *65*(2), 121-124.
- Bargas, J., Galarraga, E., & Aceves, J. (1998). Los ganglios basales. En J. Muñoz-Martínez & X. García (Eds.), *Fisiología, células, órganos y sistemas* (pp. 257-273). México: UNAM.
- Bayer, S. A. (1984). Neurogenesis in the rat neostriatum. *International Journal of Developmental Neuroscience*, *2*, 163-175.
- Bloom, F. E. (1996). Neurotransmission and the central nervous systems. En L. S. Goodman, L. E. Limbird, P. B. Milinoff, R. W. Ruddon & A. Goodman Gilman (Eds.), *Goodman and Gilman's: The pharmacological basis of therapeutics* (pp. 293-320). New York: McGraw-Hill.
- Boccia, M. M., Blake, M. G., Baratti, C. M., & McGaugh, J. L. (2009). Involvement of the basolateral amygdala in muscarinic cholinergic modulation of extinction memory consolidation. *Neurobiology of Learning and Memory*, *91*(1), 93-97.

- Bohus, B., Grubits, J., Kovács, G. L., & Lissák, K. (1970). Effect of corticosteroids on passive avoidance behaviour of rats. *Acta Physiologica Academiae Scientiarum Hungaricae*, 38(4), 381-391.
- Cahill, L., Roozendaal, B., & McGaugh, J. L. (1997). The neurobiology of memory for aversive emotional events. En M. E. Bouton & M. S. Fanselow (Eds.), *Learning, motivation and cognition* (pp. 369-384). Washington: American Psychological Association.
- Carpenter, M. B. (1996). Cuerpo estriado y núcleos relacionados. En E. D. Williams & Wilkins (Eds.), *Neuroanatomía: Fundamentos* (pp. 311-343). Buenos Aires: Editorial Medica Panamericana
- Centonze, D., Pisani, A., Bonsi, P., Giacomini, P., Bernardi, G., & Calabresi, P. (2001). Stimulation of nitric oxide-cGMP pathway excites striatal cholinergic interneurons via protein kinase G activation. *Journal of Neuroscience*, 21(4), 1393-1400.
- Conrad, C. D., Lupien, S. J., Thanasoulis, L. C., & McEwen, B. S. (1997). The effects of type I and type II corticosteroid receptor agonists on exploratory behavior and spatial memory in the Y-maze. *Brain Research*, 759(1), 76-83.
- Cottrell, G. A., & Nakajima, S. (1977). Effect of corticosteroids in the hippocampus on passive avoidance behavior in the rat. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 7(3), 277-280.
- Datson, N. A., van-der-Perk, J., de-Kloet, E. R., & Vreugdenhil, E. (2001). Identification of corticosteroid-responsive genes in rat hippocampus using serial analysis of gene expression. *The European Journal of Neuroscience*, 14(4), 675-689.
- de Kloet, E. R. (1991). Brain corticosteroid receptor balance and homeostatic control. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 12, 95-164.
- de Kloet, E. R., de Kock, S., Schild, V., & Veldhuis, H. D. (1988). Antigluocorticoid RU 38486 attenuates retention of a behaviour and disinhibits the hypothalamic-pituitary adrenal axis at different brain sites. *Neuroendocrinology*, 47(2), 109-115.
- de Kloet, E. R., Oitzl, M. S., & Jöels, M. (1993). Functional implications of brain corticosteroid receptor diversity. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 13(4), 433-455.
- de Quervain, D. J., Roozendaal, B., & McGaugh, J. L. (1998). Stress and glucocorticoids impair retrieval of long-term spatial memory. *Nature*, 394(6695), 787-790.
- Dexter, R. N., Fishman, L. M., Ney, R. L., & Liddle, G. W. (1967). Inhibition of adrenal corticosteroid synthesis by aminoglutethimide: studies of the mechanism of action. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 27(4), 473-480.
- Díaz del Guante, M. A., Carbonell-Hernandez, C., Quirarte, G., Cruz-Morales, S. E., Rivas-Arancibia, S., & Prado-Alcalá, R. A. (1993). Intrastratial injection of choline accelerates the acquisition of positively rewarded behaviors. *Brain Research Bulletin*, 30(5-6), 671-675.
- Díaz del Guante, M. A., Cruz-Morales, S. E., & Prado-Alcalá, R. A. (1991). Time-dependent effects of cholinergic blockade of the striatum on memory. *Neuroscience Letters*, 122(1), 79-82.
- Divac, I., & Oberg, R. G. E. (1979). Current conceptions of neostriatal functions. History and evaluation. En I. Divac & R. G. E. Oberg (Eds.), *The neostriatum* (pp. 215-230). Oxford: Pergamon Press.

- Douma, B. R. K., Jansen, K., Korte, S. M., Buwalda, B., Van der Zee, E. A., & Luiten, P. G. M. (1999). Corticosterone modifies muscarinic receptor immunoreactivity in rat hippocampus. *Neuroscience Letters*, 268(1), 41-44.
- Dunnett, S. B., & Iversen, S. D. (1981). Learning impairments following selective kainic acid-induced lesions within the neostriatum of rats. *Behavioural Brain Research*, 2(2), 189-209.
- Ebbinghaus, H. (1885). Memory: A contribution to experimental psychology (1913, Trans.). En L. Duncker, H. A. Ruger & C. E. Bussenius (Eds.). New York: Teachers College, Columbia Univ.
- Eguiagaray, J. G., Egea, J., Bravo-Cordero, J. J., & García, A. G. (2004). Neurotransmisores, senales de calcio y comunicacion neuronal. *Neurocirugia (Astur)*, 15(2), 109-118.
- Feldman, S. (1985). Neural pathways mediating adrenocortical responses. *Federation Proceedings*, 44(1 Pt 2), 169-175.
- Fibiger, H. C., Phillips, A. G., & Zis, A. P. (1974). Deficits in instrumental responding after 6-hydroxydopamine lesions of the nigro-neostriatal dopaminergic projection. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 2(1), 87-96.
- Fuxe, K., Wikstrom, A. C., Okret, S., Agnati, L. F., Harfstrand, A., Yu, Z. Y., ... Gustafsson, J.A. (1985). Mapping of glucocorticoid receptor immunoreactive neurons in the rat tel- and diencephalon using a monoclonal antibody against rat liver glucocorticoid receptor. *Endocrinology*, 117(5), 1803-1812.
- Gerfen, C. R. (1992). The neostriatal mosaic: multiple levels of compartmental organization. *Trends in Neurosciences*, 15(4), 133-139.
- 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.
- Glick, S. D., & Greenstein, S. (1973). Comparative learning and memory deficits following hippocampal and caudate lesions in mice. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 82(2), 188-194.
- Gold, P. E. (2003). Acetylcholine modulation of neural systems involved in learning and memory. *Neurobiology of Learning and Memory*, 80(3), 194-210.
- Gold, P. E., & van Buskirk, R. B. (1976). Enhancement and impairment of memory processes with post-trial injections of adrenocorticotrophic hormone. *Behavioral Biology*, 16(4), 387-400.
- Granner, D. (1997). Acción de las hormonas. En R. Murray, P. A. Mayes & D. K. Granner (Eds.), *Bioquímica de Harper* (pp. 593-607). México: Manual Moderno.
- Halliday, A. L., & Cepko, C. L. (1992). Generation and migration of cells in the developing striatum. *Neuron*, 9(1), 15-26.
- Han, J. S., Bizon, J. L., Chun, H. J., Maus, C. E., & Gallagher, M. (2002). Decreased glucocorticoid receptor mRNA and dysfunction of HPA axis in rats after removal of the cholinergic innervation to hippocampus. *The European Journal of Neuroscience*, 16(7), 1399-1404.
- Haycock, J. W., Deadwyler, S. A., Sideroff, S. I., & McGaugh, J. L. (1973). Retrograde amnesia and cholinergic systems in the caudate-putamen complex and dorsal hippocampus of the rat. *Experimental Neurology*, 41(1), 201-213.
- Haycock, J. W., & McGaugh, J. L. (1973). Retrograde amnesia gradients as a function of ECS-intensity. *Behavioral Biology*, 9(1), 123-127.

- Haynes, R. (1990). Adrenocorticotrophic hormone; adrenocortical steroids and their synthetic analogs; inhibitors of the synthesis and actions of adrenocortical hormones. En T. W. Kall, A. Nies & P. Taylor (Eds.), *Goodman & Gilman's The pharmacological basis of therapeutics* (pp. 1459-1485). New York: Pergamon Press.
- Hebb, D. (1949). *The organization of behavior; A neuropsychological theory*. New York: Wiley & Sons.
- Hemrick-Luecke, S. K., Bymaster, F. P., Evans, D. C., Wess, J., & Felder, C. C. (2002). Muscarinic agonist-mediated increases in serum corticosterone levels are abolished in M-2 muscarinic acetylcholine receptor knockout mice. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 303(1), 99-103.
- Hudson, T. Y., Corbett, J. A., Howlett, A. C., & Klein, C. (2001). Nitric oxide regulates adenylyl cyclase activity in rat striatal membranes. *Journal of Neurochemistry*, 77(5), 1279-1284.
- Ikarashi, Y., Takahashi, A., Ishimaru, H., Shiobara, T., & Maruyama, Y. (1998). The role of nitric oxide in striatal acetylcholine release induced by N-methyl-D-aspartate. *Neurochemistry International*, 33(3), 255-261.
- ILAR. (1996). *Guide for the care and use of laboratory animals*. Washington, DC: National Academy Press.
- Introini-Collison, I. B., Dalmaz, C., & McGaugh, J. L. (1996). Amygdala beta-noradrenergic influences on memory storage involve cholinergic activation. *Neurobiology of Learning and Memory*, 65(1), 57-64.
- James, W. (1890). *Principles of psychology*. New York: Holt.
- Jöels, M., & de Kloet, E. R. (1994). Mineralocorticoid and glucocorticoid receptors in the brain. Implications for ion permeability and transmitter systems. *Progress in Neurobiology*, 43(1), 1-36.
- Kandel, E. R., Schwartz, J. H., & Jessell, T. M. (2000). *Principles of neural science* (4th ed.) New York: McGraw Hill.
- Kandel, E. R., & Squire, L. R. (2000). Neuroscience: breaking down scientific barriers to the study of brain and mind. *Science*, 290(5494), 1113-1120.
- Kawaguchi, Y. (1993). Physiological, morphological, and histochemical characterization of three classes of interneurons in rat neostriatum. *The Journal of Neuroscience*, 13(11), 4908-4923.
- Kawaguchi, Y., Wilson, C. J., Augood, S. J., & Emson, P. C. (1995). Striatal interneurons: chemical, physiological and morphological characterization. *Trends in Neurosciences*, 18(12), 527-535.
- Keilhoff, G., Reiser, M., Stanarius, A., Aoki, E., & Wolf, G. (2000). Citrulline immunohistochemistry for demonstration of NOS activity in vivo and in vitro. *Nitric Oxide*, 4(4), 343-353.
- Kellendonk, C., Gass, P., Kretz, O., Schutz, G., & Tronche, F. (2002). Corticosteroid receptors in the brain: gene targeting studies. *Brain Research Bulletin*, 57(1), 73-83.
- Kemp, J. M., & Powell, T. P. (1971). The structure of the caudate nucleus of the cat: light and electron microscopy. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 262(845), 383-401.
- Khaksari, M., Rashidy-Pour, A., & Vafaei, A. A. (2007). Central mineralocorticoid receptors are indispensable for corticosterone-induced impairment of memory retrieval in rats. *Neuroscience*, 149(4), 729-738.



- Kim, H. J., & Routtenberg, A. (1976). *Retention deficits following post-triatal dopamine injection in rat neostriatum*. En Sixth Annual Meeting, Canada.
- Kirkby, R. J., & Kimble, D. P. (1968). Avoidance and escape behavior following striatal lesions in the rat. *Experimental Neurology*, 20(2), 215-227.
- Kiss, J. P., & Vizi, E. S. (2001). Nitric oxide: a novel link between synaptic and nonsynaptic transmission. *Trends in Neurosciences*, 24(4), 211-215.
- Kovács, G. L., Telegdy, G., & Lissák, K. (1977). Dose-dependent action of corticosteroids on brain serotonin content and passive avoidance behavior. *Hormones and Behavior*, 8(2), 155-165.
- Laborie, C., Van Camp, G., Bernet, F., Montel, V., & Dupouy, J. P. (2003). Metyrapone-induced glucocorticoid depletion modulates tyrosine hydroxylase and phenylethanolamine N-methyltransferase gene expression in the rat adrenal gland by a noncholinergic transsynaptic activation. *Journal of Neuroendocrinology*, 15(1), 15-23.
- Lashley, K. S. (1950). In search of the engram. En *Society for experimental biology. physiological mechanisms in animal behavior* (pp. 454-480). Cambridge: Cambridge University Press.
- Lasserson, D., Basil, S., Gabriel, C., & Horton-Szar, D. (1998). *Sistema nervioso y sentidos especiales* Madrid: Harcourt Brace.
- Limboung, F. P., Huang, Z. H., Plumier, J. C., Simoncini, T., Fujioka, M., Tuckermann, J., ... Liao, J. K. (2003). Rapid nontranscriptional activation of endothelial nitric oxide synthase mediates increased cerebral blood flow and stroke protection by corticosteroids (vol 110, pg 1729, 2002). *Journal of Clinical Investigation*, 111(5), 759-759.
- Liu, T. L., & Liang, K. C. (2009). Posttraining infusion of cholinergic drugs into the ventral subiculum modulated memory in an inhibitory avoidance task: interaction with the bed nucleus of the stria terminalis. *Neurobiology of learning and memory*, 91(3), 235-242.
- Lopez-Calderon, J. (1992). Glandulas suprarrenales. En J. A. F. Tresguerras (Ed.), *Fisiología humana*. Madrid: Interamericana - McGraw Hill.
- Lopez-Casillas, F. (2002). La regulación de la expresión genética. En J. Laguna & E. Piña (Eds.), *Bioquímica de Laguna* (pp. 675-729). México: Manual Moderno.
- Luine, V. N. (1994). Steroid hormone influences on spatial memory. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 743, 201-211.
- Lupien, S. J., & McEwen, B. S. (1997). The acute effects of corticosteroids on cognition: integration of animal and human model studies. *Brain Research Reviews*, 24(1), 1-27.
- Marin, O., Smeets, W. J., & Gonzalez, A. (1998). Evolution of the basal ganglia in tetrapods: a new perspective based on recent studies in amphibians. *Trends in Neurosciences*, 21(11), 487-494.
- Martinez, J. L., Jr. (1986). Memory: Drugs and hormones. En J. L. Martínez, Jr. & R. P. Kesner (Eds.), *Learning and memory: A biological view* (pp. 127-163). New York: Academic Press.
- McEwen, B. S., de Kloet, E. R., & Rostene, W. (1986). Adrenal steroid receptors and actions in the nervous system. *Physiological Reviews*, 66(4), 1121-1188.
- McEwen, B. S., de Leon, M. J., Lupien, S. J., & Meaney, M. J. (1999). Corticosteroids, the aging brain and cognition. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 10(3), 92-96.

- McEwen, B. S., Weiss, J. M., & Schwartz, L. S. (1968). Selective retention of corticosterone by limbic structures in rat brain. *Nature*, 220(170), 911-912.
- 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.
- McGaugh, J. L., Ferry, B., Vazdarjanova, A., & Roozendaal, B. (2000). Amygdala: Role in modulation of memory storage. En J. P. Aggleton (Ed.), *The amygdala: A functional analysis* (pp. 391-423). Oxford: Oxford University Press.
- McGaugh, J. L., & Roozendaal, B. (2002). Role of adrenal stress hormones in forming lasting memories in the brain. *Current Opinion in Neurobiology*, 12(2), 205-210.
- McGimsey, W., Cidlowski, J., Stumpf, W., & Sar, M. (1991). Immunocytochemical localization of the glucocorticoid receptor in rat brain, pituitary, liver, and thymus with two new polyclonal antipeptide antibodies. *Endocrinology*, 129(6), 3064-3072.
- McIntyre, C. K., Power, A. E., Roozendaal, B., & McGaugh, J. L. (2003). Role of the basolateral amygdala in memory consolidation. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 985, 273-293.
- Medina, A. C., Charles, J. R., Espinoza-González, V., Sánchez-Resendis, O., Prado-Alcalá, R. A., Roozendaal, B., & Quirarte, G. L. (2007). Glucocorticoid administration into the dorsal striatum facilitates memory consolidation of inhibitory avoidance training but not of the context or footshock components. *Learning & Memory* 14(10), 673-677.
- Melo, J. B., Agostinho, P., & Oliveira, C. R. (2003). Involvement of oxidative stress in the enhancement of acetylcholinesterase activity induced by amyloid beta-peptide. *Neuroscience Research*, 45(1), 117-127.
- Mena-Segovia, & Giordano, M. (2001). Los ganglios basales más allá del movimiento. En J. Velásquez Moctezuma (Ed.), *Temas selectos de neurociencias II* (pp. 87-117). México, DF: UAM-UNAM PUIS
- Milner, B., Corkin, S., & Teuber, H. L. (1968). Further analysis of the hippocampal amnesic syndrome: 14-year follow-up study of HM. *Neuropsychologia* 6(3), 215-234.
- Miranda, M. I., Ferreira, G., Ramírez-Lugo, L., & Bermúdez-Rattoni, F. (2003). Role of cholinergic system on the construction of memories: taste memory encoding. *Neurobiology of Learning and Memory*, 80(3), 211-222.
- Mitcham, J. C., & Thomas, R. K. (1972). Effects of substantia nigra and caudate nucleus lesions on avoidance learning in rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 81(1), 101-107.
- Mizoguchi, K., Shoji, H., Ikeda, R., Tanaka, Y., Maruyama, W., & Tabira, T. (2008). Suppression of glucocorticoid secretion enhances cholinergic transmission in rat hippocampus. *Brain Research Bulletin*, 76(6), 612-615.
- Morimoto, M., Morita, N., Ozawa, H., Yokoyama, K., & Kawata, M. (1996). Distribution of glucocorticoid receptor immunoreactivity and mRNA in the rat brain: an immunohistochemical and in situ hybridization study. *Neuroscience Research*, 26(3), 235-269.
- Necchi, D., Virgili, M., Monti, B., Contestabile, A., & Scherini, E. (2002). Regional alterations of the NO/NOS system in the aging brain: a biochemical, histochemical and immunochemical study in the rat. *Brain Research*, 933(1), 31-41.

- Neill, D. B., & Grossman, S. P. (1970). Behavioral effects of lesions or cholinergic blockade of the dorsal and ventral caudate of rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, *71*(2), 311-317.
- Nestler, E. J. (2002). Common molecular and cellular substrates of addiction and memory. *Neurobiology of Learning and Memory*, *78*(3), 637-647.
- Nowakowski, R. S. (1987). Basic concepts of CNS development. *Child Development*, *58*(3), 568-595.
- Oitzl, M. S., & de Kloet, E. R. (1992). Selective corticosteroid antagonists modulate specific aspects of spatial orientation learning. *Behavioral Neuroscience*, *106*(1), 62-71.
- Oitzl, M. S., Fluttert, M., Sutanto, W., & de Kloet, E. R. (1998). Continuous blockade of brain glucocorticoid receptors facilitates spatial learning and memory in rats. *The European Journal of Neuroscience*, *10*(12), 3759-3766.
- Oorschot, D. E. (1998). Total number of neurons in the neostriatal, pallidal, subthalamic and substantia nigral nuclei of the rat basal ganglia: A stereological study using the Cavalieri and optical disector methods. *Journal of Comparative Neurology*, *396*(4), 556-556.
- Orsini, C., Castellano, C., & Cabib, S. (2001). Pharmacological evidence of muscarinic-cholinergic sensitization following chronic stress. *Psychopharmacology*, *155*(2), 144-147.
- Packard, M. G., Introini-Collison, I., & McGaugh, J. L. (1996). Stria terminalis lesions attenuate memory enhancement produced by intracaudate nucleus injections of oxotremorine. *Neurobiology of Learning and Memory*, *65*(3), 278-282.
- Packard, M. G., & Knowlton, B. J. (2002). Learning and memory functions of the basal ganglia. *Annual Review of Neuroscience*, *25*, 563-593.
- Palkovits, M., Mezey, E., Csiffary, A., Antoni, F. A., Vale, W., & Eskay, R. L. (1992). Chemical neuroanatomy of brain structures involved in the stress response with special referent to corticotrophin releasing factor. En R. Kvetnansky, R. McCarty & J. Axelrod (Eds.), *Stress: Neuroendocrine and molecular approaches* (pp. 3-11). New York: Gordon and Breach Science Publishers.
- Parent, A. (1990). Extrinsic connections of the basal ganglia. *Trends in Neurosciences*, *13*(7), 254-258.
- Parent, A., & Hazrati, L. N. (1995). Functional anatomy of the basal ganglia. I. The cortico-basal ganglia-thalamo-cortical loop. *Brain Research. Brain Research Reviews*, *20*(1), 91-127.
- Park, C. R., Campbell, A. M., Woodson, J. C., Smith, T. P., Fleshner, M., & Diamond, D. M. (2006). Permissive influence of stress in the expression of a u-shaped relationship between serum corticosterone levels and spatial memory errors in rats. *Dose Response*, *4*(1), 55-74.
- Pavlov, I. P. (1927). *Conditioned reflexes: An investigation of the physiological activity of the cerebral cortex*. London: Oxford University Press.
- Paxinos, G., & Watson, C. (2005). *The rat brain in stereotaxic coordinates* (4th ed.) San Diego: Academic Press.
- Peña de Ortiz, S., & Arshavsky, Y. (2001). DNA recombination as a possible mechanism in declarative memory: a hypothesis. *Journal of Neuroscience Research*, *63*(1), 72-81.

- Pepicelli, O., Raiteri, M., & Fedele, E. (2004). The NOS/sGC pathway in the rat central nervous system: a microdialysis overview. *Neurochemistry International*, 45(6), 787-797.
- Plech, A., Klimkiewicz, T., & Maksym, B. (2003). Effect of L-arginine on memory in rats. *Polish Journal of Pharmacology*, 55(6), 987-992.
- Power, A. E., & McGaugh, J. L. (2002). Phthalic acid amygdalopetal lesion of the nucleus basalis magnocellularis induces reversible memory deficits in rats. *Neurobiology of Learning and Memory*, 77(3), 372-388.
- Power, A. E., Roozendaal, B., & McGaugh, J. L. (2000). Glucocorticoid enhancement of memory consolidation in the rat is blocked by muscarinic receptor antagonism in the basolateral amygdala. *The European Journal of Neuroscience*, 12(10), 3481-3487.
- Power, A. E., Vazdarjanova, A., & McGaugh, J. L. (2003). Muscarinic cholinergic influences in memory consolidation. *Neurobiology of Learning and Memory*, 80(3), 178-193.
- Prado-Alcalá, R. A. (1985). Is cholinergic activity of the caudate nucleus involved in memory? *Life Sciences*, 37(23), 2135-2142.
- Prado-Alcalá, R. A., Cepeda, G., Verduzco, L., Jiménez, A., & Vargas-Ortega, E. (1984a). Effects of cholinergic stimulation of the caudate nucleus on active avoidance. *Neuroscience Letters*, 51(1), 31-36.
- Prado-Alcalá, R. A., Cruz-Morales, S. E., & Lopez-Miro, F. A. (1980a). Differential effects of cholinergic blockade of anterior and posterior caudate nucleus on avoidance behaviors. *Neuroscience Letters*, 18(3), 339-345.
- Prado-Alcalá, R. A., Grinberg-Zylberbaum, J., Alvarez-Leefmans, J., Gómez, A., Singer, S., & Brust-Carmona, H. (1972). A possible caudate-cholinergic mechanism in two instrumental conditioned responses. *Psychopharmacologia*, 25(4), 339-346.
- Prado-Alcalá, R. A., Grinberg, Z. J., Arditti, Z. L., García, M. M., Prieto, H. G., & Brust-Carmona, H. (1975). Learning deficits produced by chronic and reversible lesions of the corpus striatum in rats. *Physiology & Behavior*, 15(3), 283-287.
- Prado-Alcalá, R. A., Kaufmann, P., & Moscona, R. (1980b). Scopolamine and KCl injections into the caudate nucleus. Overtraining-induced protection against deficits of learning. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 12(2), 249-253.
- Prado-Alcalá, R. A., & Quirarte, G. L. (1993). La conducta y la mente. *Información Científica y Tecnológica*, 21-25.
- Prado-Alcalá, R. A., Signoret-Edward, L., Figueroa, M., Giordano, M., & Barrientos, M. A. (1984b). Post-trial injection of atropine into the caudate nucleus interferes with long-term but not with short-term retention of passive avoidance. *Behavioral and Neural Biology*, 42(1), 81-84.
- Prado-Alcalá, R. A., Signoret, L., & Figueroa, M. (1981). Time-dependent retention deficits induced by post-training injections of atropine into the caudate nucleus. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 15(4), 633-636.
- Prickaerts, J., Sik, A., van Staveren, W. C. G., Koopmans, G., Steinbusch, H. W. M., van der Staay, F. J., ...Blokland, A. (2004). Phosphodiesterase type 5 inhibition improves early memory consolidation of object information. *Neurochemistry International*, 45(6), 915-928.
- Quirarte, G. L., de la Teja, I. S., Casillas, M., Serafín, N., Prado-Alcalá, R. A., & Roozendaal, B. (2009). Corticosterone infused into the dorsal striatum selectively

- enhances memory consolidation of cued water-maze training. *Learning & Memory*, 16(10), 586-589.
- Quirarte, G. L., Galvez, R., Roozendaal, B., & McGaugh, J. L. (1998). Norepinephrine release in the amygdala in response to footshock and opioid peptidergic drugs. *Brain Research*, 808(2), 134-140.
- Quirarte, G. L., Roozendaal, B., & McGaugh, J. L. (1997). Glucocorticoid enhancement of memory storage involves noradrenergic activation in the basolateral amygdala. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(25), 14048-14053.
- Ragozzino, M. E., Jih, J., & Tzavos, A. (2002). Involvement of the dorsomedial striatum in behavioral flexibility: role of muscarinic cholinergic receptors. *Brain Research*, 953(1-2), 205-214.
- Reiner, A., Medina, L., & Veenman, C. L. (1998). Structural and functional evolution of the basal ganglia in vertebrates. *Brain Research Reviews*, 28(3), 235-285.
- Reul, J. M., & de Kloet, E. R. (1985). Two receptor systems for corticosterone in rat brain: microdistribution and differential occupation. *Endocrinology*, 117(6), 2505-2511.
- Reul, J. M., de Kloet, E. R., van Sluijs, F. J., Rijnberk, A., & Rothuizen, J. (1990). Binding characteristics of mineralocorticoid and glucocorticoid receptors in dog brain and pituitary. *Endocrinology*, 127(2), 907-915.
- Rickard, N. S., & Gibbs, M. E. (2003). Effects of nitric oxide inhibition on avoidance learning in the chick are lateralized and localized. *Neurobiology of Learning and Memory*, 79(3), 252-256.
- Roberts, V. J., Singhal, R. L., & Roberts, D. C. S. (1984). Corticosterone prevents the increase in noradrenaline-stimulated adenyl cyclase activity in rat hippocampus following adrenalectomy or metopirone. *European Journal of Pharmacology*, 103(3-4), 235-240.
- Roozendaal, B. (2002). Stress and memory: opposing effects of glucocorticoids on memory consolidation and memory retrieval. *Neurobiology of Learning and Memory*, 78(3), 578-595.
- Roozendaal, B., Bohus, B., & McGaugh, J. L. (1996). Dose-dependent suppression of adrenocortical activity with metyrapone: effects on emotion and memory. *Psychoneuroendocrinology*, 21(8), 681-693.
- Roozendaal, B., Carmi, O., & McGaugh, J. L. (1996). Adrenocortical suppression blocks the memory-enhancing effects of amphetamine and epinephrine. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(4), 1429-1433.
- Roozendaal, B., & McGaugh, J. L. (1996). Amygdaloid nuclei lesions differentially affect glucocorticoid-induced memory enhancement in an inhibitory avoidance task. *Neurobiology of Learning and Memory*, 65(1), 1-8.
- Roozendaal, B., & McGaugh, J. L. (1997a). Basolateral amygdala lesions block the memory-enhancing effect of glucocorticoid administration in the dorsal hippocampus of rats. *The European Journal of Neuroscience*, 9(1), 76-83.
- Roozendaal, B., & McGaugh, J. L. (1997b). Glucocorticoid receptor agonist and antagonist administration into the basolateral but not central amygdala modulates memory storage. *Neurobiology of Learning and Memory*, 67(2), 176-179.
- Roozendaal, B., Nguyen, B. T., Power, A. E., & McGaugh, J. L. (1999). Basolateral amygdala noradrenergic influence enables enhancement of memory consolidation induced by hippocampal glucocorticoid receptor activation. *Proceedings of the*

- National Academy of Sciences of the United States of America*, 96(20), 11642-11647.
- Rosenzweig, M. R. (1996). Aspects of the search for neural mechanisms of memory. *Annual Review of Psychology*, 47, 1-32.
- Rosenzweig, M. R., & Leiman, A. I. (1998). *Psicología fisiológica* Madrid, España: McGraw-Hill.
- 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.
- Sandberg, K., Sanberg, P. R., Hanin, I., Fisher, A., & Coyle, J. T. (1984). Cholinergic lesion of the striatum impairs acquisition and retention of a passive avoidance response. *Behavioral Neuroscience*, 98(1), 162-165.
- Sandi, C. (1998). The role and mechanisms of action of glucocorticoid involvement in memory storage. *Neural Plasticity*, 6(3), 41-52.
- Sapolsky, R. M. (1985). A mechanism for glucocorticoid toxicity in the hippocampus: increased neuronal vulnerability to metabolic insults. *The Journal of Neuroscience*, 5(5), 1228-1232.
- Schimmer, B. P., & Parker, K. L. (2006). Adrenocorticotrophic hormone; Adrenocortical steroids and their synthetic analogs; Inhibitors of the synthesis and actions of adrenocortical hormones. En L. L. Brunton, J. S. Lazo & K. L. Parker (Eds.), *Goodman and Gilman's The pharmacological basis of therapeutics* (pp. 1587-1612). New York: McGraw-Hill, Inc.
- Simoncini, T., Hafezi-Moghadam, A., Brazil, D. P., Ley, K., Chin, W. W., & Liao, J. K. (2000). Interaction of oestrogen receptor with the regulatory subunit of phosphatidylinositol-3-OH kinase. *Nature*, 407(6803), 538-541.
- Simoncini, T., Varone, G., Fornari, L., Mannella, P., Luisi, M., Labrie, F., & Genazzani, A. R. (2002). Genomic and nongenomic mechanisms of nitric oxide synthesis induction in human endothelial cells by a fourth-generation selective estrogen receptor modulator. *Endocrinology*, 143(6), 2052-2061.
- Smith, Y., Bevan, M. D., Shink, E., & Bolam, J. P. (1998). Microcircuitry of the direct and indirect pathways of the basal ganglia. *Neuroscience*, 86(2), 353-387.
- Solana-Figueroa, R., & Prado-Alcalá, R. A. (1990). Retrograde amnesia produced by intrastriatal atropine and its reversal by choline. *Life Sciences*, 46(10), 679-686.
- Squire, L. R. (1998). Memory systems. *Comptes Rendus de l'academie Des Sciences. Serie III, Sciences de La Vie*, 321(2-3), 153-156.
- Staubli, U., & Huston, J. P. (1978). Effects of post-trial reinforcing vs. subreinforcing stimulation of the substantia nigra on passive avoidance learning. *Brain Research Bulletin*, 3(5), 519-524.
- Sutanto, W., & de Kloet, E. R. (1987). Species-specificity of corticosteroid receptors in hamster and rat brains. *Endocrinology*, 121(4), 1405-1411.
- Thompson, R. F., & Kim, J. J. (1996). Memory systems in the brain and localization of a memory. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(24), 13438-13444.
- Thorndike, E. L. (1911). *Animal intelligence* New York: MacMillan.
- Titheradge, M. A. (1998). *Nitric Oxide Protocols* Totawa, NJ: Humana Press.

- Tranel, D., & Damasio, A. (1995). Neurobiological foundations of human memory. En A. D. Baddeley, B. A. Wilson & F. A. Watts (Eds.), *Handbook of memory disorders*. (pp. 27-47). London: John Wiley & Sons Ltd.
- Tulving, E. (1999). Study of memory: processes and systems. En J. K. Foster & M. Jelicic (Eds.), *Memory: Systems, process, or function?* (pp. 11-30). Oxford: Oxford University Press.
- White, N. M., & McDonald, R. J. (2002). Multiple parallel memory systems in the brain of the rat. *Neurobiology of Learning and Memory*, 77(2), 125-184.
- Wright, R. L., Lightner, E. N., Harman, J. S., Meijer, O. C., & Conrad, C. D. (2006). Attenuating corticosterone levels on the day of memory assessment prevents chronic stress-induced impairments in spatial memory. *European Journal of Neuroscience*, 24(2), 595-605.
- Wyers, E. J., Deadwyler, S. A., Hirasuna, N., & Montgomery, D. (1973). Passive avoidance retention and caudate stimulation. *Physiology & Behavior*, 11(6), 809-819.

## X. ANEXO

Se anexan los dos artículos que se publicaron durante los estudios de doctorado.

1. Medina, A.C., Charles, J.R., Espinoza-González, V., **Sánchez-Resendis, O.**, Prado-Alcalá, R.A. Roozendaal, B. and Quirarte, G.L. Glucocorticoid administration into the dorsal striatum facilitates memory consolidation of inhibitory avoidance training but not of the context or footshock components. *Learning and Memory* 14: 673-677, 2007.
2. **Sánchez-Resendis, O.**, Medina, A.C., Serafín, N., Prado-Alcalá, R.A. Roozendaal, B. and Quirarte, G.L. Glucocorticoid-cholinergic interactions in the dorsal striatum in memory consolidation of inhibitory avoidance training. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 6:33, 2012 doi: 10.3389/fnbeh.2012.00033.