



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

PARTICIPACIÓN DE LOS GLUCOCORTICOIDES Y ENDOCANNABINOIDES EN
LA CONSOLIDACIÓN DE DISTINTOS TIPOS DE MEMORIA

TESIS QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
DOCTORA EN CIENCIAS BIOMÉDICAS

PRESENTA:
M. en C. CRISTINA SILLER PÉREZ

DIRECTORA DE TESIS
DRA. GINA LORENA QUIRARTE
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

COMITÉ TUTOR:
DR. MAURICIO DÍAZ MUÑOZ
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

DRA. PATRICIA ILEANA JOSEPH BRAVO
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA

QUERÉTARO, QRO. NOVIEMBRE DE 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

Los miembros del Jurado de Examen de Grado certificamos que la tesis elaborada por: Cristina Siller Pérez, cuyo título es: “PARTICIPACIÓN DE LOS GLUCOCORTICOIDES Y ENDOCANNABINOIDES EN LA CONSOLIDACIÓN DE DISTINTOS TIPOS DE MEMORIA”, se presenta como uno de los requisitos para obtener el grado de Doctora en Ciencias Biomédicas y cumple con los criterios de originalidad y calidad requeridos por la División de Estudios de Posgrado de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Presidente: Dra. María Teresa Morales Guzmán _____

Secretario: Dra. Gina Lorena Quirarte (Tutora) _____

Vocal: Pavel Ernesto Rueda Orozco _____

Vocal: Dr. Fatuel Tecuapetla Aguilar _____

Vocal: Dr. Benjamín Florán Garduño _____

Aprobado por el Comité Académico

Dra. Aurea Orozco Rivas
Coordinadora del Programa
Doctorado en Ciencias Biomédicas

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) (Beca No. 371741 a C.S.P. y donativos 130524 y 251634), así como al PAPIIT-DGAPA, UNAM (Proyecto IN214111 y IN204118) por el apoyo económico otorgado durante la realización de esta tesis.

Profundamente agradezco a mi tutora, la Dra. Gina Lorena Quirarte por sus valiosas enseñanzas y las cuantiosas experiencias que al ser parte de su grupo de colaboradores en el laboratorio B-04 de Aprendizaje y Memoria del Instituto de Neurobiología tuve la oportunidad de cultivar.

Agradezco ampliamente al Dr. Mauricio Díaz Muñoz y a la Dra. Patricia I. Joseph Bravo, miembros del comité tutelar, por sus inestimables aportaciones y su constante apoyo en el escrutinio de la formación académica que concluye con la presentación de la presente tesis.

A la M.V.Z. Norma Serafín López agradezco especialmente por su tenaz trabajo, ya que, sin sus contribuciones, el desarrollo de esta tesis hubiese representado un reto aún más difícil de alcanzar, pero sobre todo agradezco a Norma por la entrañable amistad y su apoyo incondicional.

Al Dr. Roberto A. Prado-Alcalá le agradezco profundamente el diálogo y la retroalimentación de esta tesis, experimental y conceptualmente.

A la Dra. Andrea Cristina Medina Fragoso y a la Sra. Bertha Islas, así como a la M. en C. Leonor Casanova Rico, a la Lic. Lourdes Lara y al M.V.Z. Martín García Servín les agradezco por el excelente apoyo técnico.

A la Unidad de Análisis de Conducta a cargo de la Dra. Deysi Gasca Martínez por haberme facilitado las instalaciones para llevar a cabo parte de este trabajo.

A la Unidad de Cómputo, a cargo del I. S. C. Ramón Martínez, así como al I. S. C. Omar González y a la Ing. Sandra Hernández por el apoyo que amablemente me brindaron en las cuestiones informáticas.

Al Dr. Javier Valles Coordinador de la Biblioteca del Campus Juriquilla y a la Lic. Soledad Medina por los servicios y facilidades brindadas para la consulta bibliográfica.

Estoy muy agradecida y me siento afortunada de convivir en distintos momentos con mis compañeros de laboratorio, en especial con Jorge García Torres (†), Yavé Lozano, Antonio Fuentes, Rogelio Pegueros y Erika Sotelo. A todos ellos gracias por las críticas, las colaboraciones, los consejos y los momentos memorables que enriquecieron mi estancia. Especialmente agradezco a mi compañera Verónica González por su tiempo y dedicación en mi entrenamiento en tareas conductuales.

A mis amigos del Instituto: Leticia Robles, Ana Morales, Sofía Martínez, Anaí Campos, Erandi Velázquez, Marco A. Bravo y Carolina Castañeda, les agradezco por tantos momentos amenos y de alegres charlas, gracias por su apoyo y motivación para incursionar, permanecer y continuar en la vida de la ciencia, gracias por su entrañable amistad, los echaré de menos.

A mi familia, Miguel A. Siller, Graciela Pérez, Beatriz y Emperatriz Siller Pérez, les agradezco todo; sin su apoyo, sin su aliento, sin ustedes, simplemente, lo que implica escribir este documento, no hubiese sido posible.

DEDICATORIA

A mi querida familia

RESUMEN

La memoria se organiza en sistemas múltiples que tienen correlatos neurales como la amígdala (memoria emotiva), el hipocampo (memoria espacial) y el estriado dorsal (memoria de procedimiento), estas estructuras pueden formar circuitos más extensos que son susceptibles a la modulación endócrina de las hormonas glucocorticoides y de neuromoduladores como los endocannabinoides. La región dorsolateral del estriado (EDL) participa en la consolidación de la memoria de procedimiento, la región dorsomedial (EDM) en la memoria espacial y la región anterodorsal (EAD) en la memoria emotiva. El objetivo de esta tesis fue investigar la participación del glucocorticoide corticosterona (CORT) en esas regiones del estriado y su posible interacción con los endocannabinoides en la consolidación de diferentes tipos de memoria. Se utilizaron ratas macho Wistar (250-350 g) que se evaluaron en dos protocolos experimentales. En la Sección I, se entrenaron ratas en el laberinto de Tolman, que puede resolverse mediante estrategias de aprendizaje de procedimiento (respuesta) o espaciales (lugar). Durante el entrenamiento se administró vehículo (VEH) o CORT (10 o 30 ng) en el EDL o en el EDM y se evaluó la memoria en dos pruebas (P1 y P2). Las ratas que recibieron VEH tuvieron un aprendizaje espacial en la P1 y de respuesta la P2, lo que indica un cambio en la conducta aprendida hacia una estrategia de procedimiento con el entrenamiento extenso. Las ratas que recibieron CORT (10 ng) en el EDL tuvieron un aprendizaje de respuesta en la P1 y P2, mostraron una aceleración en el cambio de la memoria espacial a la de procedimiento. La administración de CORT en el EDM no provocó el cambio de la memoria espacial a la de procedimiento. En la Sección II, se entrenaron ratas en la tarea de evitación inhibitoria e inmediatamente después se les administró AM251 (0.28 ng) antagonista de los receptores CB1 (CB1R), en el EAD y CORT sistémica (3 mg/kg i. p.); en el EAD: AM251 (0.28 ng) y CORT (10 o 30 ng); o AM251 (0.28 ng) y CORT conjugada con la proteína impermeable a la membrana celular BSA (CORT:BSA 5 o 10 ng). Se evaluó la retención 48 h después del entrenamiento. La administración de AM251 en el EAD impidió la facilitación de la memoria producida por la administración de CORT tanto sistémica como en el EAD (10 ng). También se encontró que la administración de la CORT:BSA (10 ng) facilita la memoria; sin embargo este efecto se impide con la administración de AM251. Los hallazgos de estos estudios indican que la CORT en el EDL mejora la consolidación de la memoria de procedimiento e influye en la temporalidad del cambio del uso de la memoria espacial a la de procedimiento tipo habitual para dirigir la conducta. Además, aportan evidencias de la interacción de los glucocorticoides con los endocannabinoides, a través de los CB1Rs estriatales, mediante mecanismos no genómicos de los glucocorticoides que reclutan a los endocannabinoides para modular la consolidación de la memoria. En conjunto, estos hallazgos aportan evidencias de que el estriado participa en la consolidación de distintos tipos de memoria a través de la modulación de hormonas glucocorticoides y de endocannabinoides.

ABSTRACT

Memory is organized in multiple memory systems that are represented but not limited to circuits lead by the amygdala (emotional memory), the hippocampus (spatial memory), and the striatum (procedural memory) whose activity is susceptible to the endocrine modulation of glucocorticoids (corticosterone) and neuromodulators such as the endocannabinoids. The dorsolateral region of the striatum (DLS) is engaged in procedural memory consolidation, the dorsomedial region (DMS) participates in spatial memory, and the dorsal region (DS) is involved in emotional memory. The objective of this study was to assess the involvement of corticosterone (CORT) in these regions of the striatum and its potential interaction with endocannabinoids during consolidation of different types of memory. Male *Wistar* rats (250-350 g) were evaluated in two experimental protocols. In Section I, rats were trained to solve a Tolman maze through spatial (place) or procedural (response) learning strategies. CORT (10 or 30 ng) or vehicle (VEH) was administered into the DLS or DMS during training, memory was evaluated by two tests (T1 and T2). Rats that received VEH showed spatial learning in T1 and response learning in T2, such change toward a procedural learning was consequence of the extensive training. Rats that received CORT (10 ng) into the DLS showed a response in both T1 and T2, which indicated an acceleration toward procedural learning. CORT administration into the DLS did not change the shift from spatial to procedural memory. In Section II, rats were trained in the inhibitory avoidance task and immediately posttraining were administered with AM251 (0.28 ng) a cannabinoid CB1 receptor (CB1R) antagonist into the DS and CORT systemically (3 mg/kg, i. p.); into the DS: AM251 (0.28 ng) and CORT (10 or 30 ng); or AM251 (0.28 ng) CORT conjugated to the impermeable to the cell membrane BSA protein (CORT:BSA 5 or 10 ng). Retention was evaluated 48 after training. The administration of AM251 into the DS prevented the enhancing effect of CORT given systemically or into the DS (10 ng). CORT:BSA administered into the DS improved memory retention, but this effect was prevented by the prior administration of AM251. These findings indicate that the CORT administration into the DLS enhances memory consolidation of procedural learning and thereby influences the timing of the switch from the use of spatial to procedural memory to guide behavior. Additionally, this study provides evidence of the interaction of non-genomic glucocorticoid actions, which recruit endocannabinoid activity through striatal CB1Rs, to modulate emotional memory consolidation. Together these findings suggest that the striatum is involved in the consolidation of diverse types of memory through glucocorticoid hormones and endocannabinoids modulation.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	II
DEDICATORIA	IV
RESUMEN	V
ABSTRACT	VI
1. INTRODUCCIÓN	9
2. ANTECEDENTES	14
2.1 Sistemas de memoria	14
2.2 Heterogeneidad funcional del estriado dorsal	19
2.3 Modulación de la consolidación de la memoria a través de los glucocorticoides: actividad de sus receptores sobre mecanismos celulares y repercusiones conductuales	24
3. JUSTIFICACIÓN	38
4. HIPÓTESIS	40
5. OBJETIVOS	41
5.1 OBJETIVOS GENERALES	41
5.2 OBJETIVOS PARTICULARES	41
6. MATERIALES Y MÉTODO	42
6.1 Sujetos	42
6.2 Cirugía	42
6.3 Manipulación	43
6.4 Administración de tratamientos	43
6.5 Verificación histológica	45
Sección I	46
6.6 Aparato	46
6.7 Restricción alimenticia	46
6.8 Habitación, entrenamiento y pruebas	47
6.9 Diseño experimental	49
6.10 Análisis estadístico	49
Sección II	50
6.11 Aparato	50

6.12 Sesión de entrenamiento	51
6.13 Sesión de prueba	51
6.14 Diseño experimental	52
6.15 Análisis estadístico	54
7. RESULTADOS	55
Sección I	55
<i>7.1 La corticosterona en el EDL favorece la memoria de procedimiento desde etapas tempranas del entrenamiento</i>	55
<i>7.2 La administración de corticosterona en el EDM durante fases tempranas no cambia el uso de una estrategia espacial o de procedimiento</i>	58
Sección II	61
<i>7.3 La facilitación de la memoria por la administración sistémica de corticosterona requiere de la actividad de los CB1Rs del estriado</i>	61
<i>7.4 La administración de corticosterona directamente en el EAD facilita la memoria pero requiere de la coparticipación de los CB1Rs estriatales</i>	63
<i>7.5 La administración de corticosterona:BSA en el EAD facilita la memoria a través la vía rápida membranal y recluta a los CB1Rs estriatales río abajo</i>	65
8. DISCUSIÓN	68
9. CONCLUSIONES	85
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	86
ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS	99
APÉNDICE: Publicación como primer autor en una revista internacional indizada	100

1. INTRODUCCIÓN

El estrés moldea las experiencias: interviene en la formación, el almacenamiento y la recuperación de los recuerdos. La respuesta que se genera ante los estímulos estresantes es fundamental en la fisiología de los organismos ya que regula funciones homeostáticas, el transporte de iones, la glucólisis, así como respuestas inmunes. En el sistema nervioso central de los mamíferos, una de las funciones de la respuesta al estrés es la modulación de las experiencias conductuales (Denver, 2009). Evolutivamente, las situaciones emocionalmente estresantes, representan una manera de adaptación que favorece la permanencia del recuerdo de eventos significativos positivos y negativos sobre aquellos con contenidos neutros (Cahill & McGaugh, 1998; McGaugh, 2000; McGaugh & Roozendaal, 2002).

La interacción de las especies con su entorno y su éxito en la sobrevivencia dependen en gran medida de la habilidad de coleccionar, identificar, procesar e integrar la información proveniente de los estímulos del medio ambiente y del medio interno. La navegación en el espacio y la detección oportuna de amenazas a la sobrevivencia son habilidades conductuales que permiten a los animales tener respuestas adaptativas exitosas. En este sentido, el aprendizaje y la memoria son procesos plásticos adaptativos a través de los que se adquiere y se almacena la información a partir de las experiencias, de manera que se genera un registro espacio-temporal de las vivencias que constantemente se actualiza y que puede utilizarse por los animales para llevar a cabo un extenso repertorio conductual (Kandel, Kupfermann, & Iversen, 2006).

La memoria se organiza en sistemas que se extienden en circuitos cerebrales, que, de acuerdo con el tipo de la información, están encabezados por una estructura principal. El hipocampo se asocia con la memoria espacial, el estriado dorsal con la memoria de procedimiento y la amígdala basolateral con la memoria de contenidos emotivos (White & McDonald, 2002). Sin embargo, la memoria no se limita a estructuras discretas, sino que la información se complementa o se segrega por los distintos sistemas de memoria acompañados de estructuras secundarias. Además,

la respuesta endócrina en situaciones estresantes, a través de las hormonas adrenérgicas y glucocorticoides (cortisol en humanos, corticosterona en ratas) y su interacción con neuromoduladores como los endocannabinoides, modulan a su vez a los sistemas de memoria y, en consecuencia, los diversos tipos de información pueden tener una mejor calidad o un deterioro en el recuerdo.

La representación de la memoria espacial se forma a través del uso de pistas externas del entorno y la información alócentrica que permite a las especies integrar mapas espaciales complejos y detallados de ubicaciones concisas, cuyo correlato neuronal es principalmente el hipocampo (Eichenbaum, Dudchenko, Wood, Shapiro, & Tanila, 1999; O'Keefe & Nadel, 1978; Tolman, 1948), y de una manera muy importante contribuye también la región dorsomedial del estriado (EDM) que recibe proyecciones de la corteza media prefrontal (mPFC) (Voorn, Vanderschuren, Groenewegen, Robbins, & Pennartz, 2004). Complementariamente, la memoria de procedimiento, se obtiene a partir de información egocéntrica del sujeto, como series de acciones repetidas que conducen a puntos localizados en el espacio; las estructuras que son parte del circuito que forma, completa y ejecuta la memoria de procedimiento son la corteza motora y el estriado dorsolateral (EDL) (Voorn et al., 2004). Cuando de manera consistente se sigue una misma ruta, funcionalmente se da una sucesión en los tipos de memoria que permiten completar la tarea. Inicialmente, la navegación se da por medio de las estrategias espaciales, sin embargo, después de las constantes repeticiones de la misma ruta, hay un cambio y se utilizan las estrategias de procedimiento (Packard & McGaugh, 1996).

Por otra parte, las memorias con contenido emotivo tienen una participación directa de las hormonas de respuesta al estrés, ya que cuando hay una alerta, se activa el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HHA) y la posterior activación de la amígdala basolateral, de tal manera que la adrenalina y los glucocorticoides influyen en la formación de la memoria aversiva (Roosendaal, McEwen, & Chattarji, 2009). Así, en conjunto los núcleos amigdalinos y la corteza media prefrontal cooperan en la formación no solo de la memoria aversiva, sino que pueden involucrarse en la formación de la memoria espacial y la memoria de procedimiento.

En este contexto, el estriado dorsal participa ampliamente en los tres sistemas de memoria, ya que se integra información motora, de procedimientos, de asociaciones relacionadas con la recompensa (Arsalidou, Duerden, & Taylor, 2013), pero también se ha observado que la inactivación de esta estructura produce amnesia en experiencias aversivas (Pérez-Ruíz & Prado-Alcalá, 1989). De manera notoria, en diferentes estudios se ha demostrado que los glucocorticoides administrados en esta región modulan la consolidación de la memoria espacial, de procedimiento y aversiva (Medina et al., 2007; Quirarte et al., 2009; Sanchez-Resendis et al., 2012; Siller-Pérez, Serafín, Prado-Alcalá, Roozendaal, & Quirarte, 2017). Principalmente, los efectos de la corticosterona sobre la consolidación de los diversos tipos de memoria se atribuyen a la actividad de los receptores de menor afinidad del tipo GR (de Kloet, Oitzl, & Joëls, 1999), aunque hay estudios que reportan que los receptores de mayor afinidad del tipo MR pueden también tener un papel en la consolidación (Schwabe, Schachinger, de Kloet, & Oitzl, 2010; Vogel, Fernandez, Joels, & Schwabe, 2016).

Los glucocorticoides además interactúan con sistemas de neurotransmisión postsináptica como el glutamatérgico, GABAérgico y colinérgico en las distintas etapas de la memoria en regiones como el hipocampo, la amígdala, la corteza prefrontal y el estriado (Mora, Segovia, del Arco, de Blas, & Garrido, 2012; Prager & Johnson, 2009; Sanchez-Resendis et al., 2012). Adicionalmente, otro sistema de modulación fina de la actividad de los glucocorticoides sobre la memoria se da a través de la actividad presináptica de los endocannabinoides. Esta interacción entre los glucocorticoides y los endocannabinoides, además resulta ser fundamental en la regulación del eje HHA, ya que en las neuronas parvocelulares del núcleo paraventricular del hipotálamo la unión de la corticosterona a los receptores GR acoplados a la membrana, en una acción no genómica, inducen la síntesis y liberación de endocannabinoides, que en consecuencia disminuyen la actividad del eje HHA (Di, Malcher-Lopes, Halmos, & Tasker, 2003).

Los endocannabinoides principalmente se sintetizan en respuesta a la actividad específica de las sinapsis y a través de sus receptores CB1 (CB1R) modulan la

actividad de circuitos que participan en la memoria aversiva como el de amígdala basolateral y el del hipocampo (Morena & Campolongo, 2014). Aunado a lo anterior, los CB1Rs son los receptores acoplados a proteínas G, que tienen mayor presencia en el sistema nervioso central (Gray, Vecchiarelli, & Hill, 2014). Prácticamente todas las estructuras cerebrales expresan estos receptores, pero en el cerebelo y en los ganglios basales, especialmente en el estriado, hay una considerable mayor expresión de CB1Rs (Herkenham et al., 1990). Las funciones de estos receptores son múltiples, participan en la regulación de procesos fisiológicos como el sueño, la ingesta, la respuesta al estrés e importantemente en el aprendizaje y la memoria (Di Marzo, Melck, Bisogno, & De Petrocellis, 1998). Varios estudios han demostrado su papel en la consolidación de memorias emocionalmente aversivas, o bien de memorias espaciales que requieren previamente la activación del eje HHA (Morena & Campolongo, 2014), así como en memorias de procedimiento (Goodman & Packard, 2014). Estos hallazgos sugieren que el papel de los endocannabinoides en la memoria tiene una tendencia mayor a participar en las memorias emotivas.

Probablemente el mecanismo de acción integral en la participación de los CB1Rs y glucocorticoides sea similar en varias estructuras como se propone por Hill y McEwen (2009), en la amígdala basolateral. Sucede una experiencia emocionalmente estresante, se activa el eje HHA, a través de los GR acoplados a la membrana (GRm) se induce la síntesis y liberación de endocannabinoides, que influyen sobre otros neurotransmisores como el GABA y la noradrenalina, que regulan río abajo la actividad neuronal y activan cascadas de señalización que inducen la actividad de proteínas cinasas, factores de transcripción y síntesis de proteínas que finalmente convergen en la facilitación de la memoria. Probablemente un mecanismo similar suceda también en el estriado dorsal en la consolidación de una memoria aversiva.

Con lo anterior, en la presente tesis, se analizaron desde una perspectiva funcional los efectos de la corticosterona en las regiones dorsolateral, dorsomedial o anterodorsal del estriado en diferentes tipos de memoria en un modelo murino.

En primer lugar, se averiguó el efecto de la activación de los receptores a glucocorticoides del EDL o del EDM sobre la sobre la aparición temporal de la memoria espacial y la de procedimiento, además de la estabilidad o permanencia del trazo de memoria.

En segundo lugar, se abordó la posible participación de los glucocorticoides en conjunto con los endocannabinoides, específicamente de los CB1R estriatales en la modulación de una memoria aversiva, desde una aproximación farmacológica sistémica y una participación local en conjunto con los glucocorticoides del estriado.

Este par de estudios tuvo como objetivo aportar evidencias experimentales del procesamiento de distintos tipos de memoria bajo la modelación de las respuestas al estrés en un organismo y cómo el estriado dorsal es susceptible de la modulación por glucocorticoides y endocannabinoides, que en paralelo con otras estructuras como la amígdala o el hipocampo converge en la cognición.

2. ANTECEDENTES

2.1 Sistemas de memoria

Las memorias son representaciones internas que se deben a la experiencia; son modelos adquiridos del mundo, que se codifican en la actividad espacio-temporal de los circuitos cerebrales (Dudai, 2002).

La formación de la memoria involucra diferentes fases: la fase de adquisición o aprendizaje, en la que se incorpora nueva información al sistema; la fase de consolidación, que comprende el paso de la información de un almacén de corto plazo y lábil a uno de largo plazo y más estable; y la fase de evocación o recuerdo en la que el sujeto recupera la información que se almacenó (McGaugh, 2000; Wang, Hu, & Tsien, 2006).

La consolidación de la memoria se puede abordar desde la perspectiva sistémica y desde la perspectiva sináptica, de acuerdo con Dudai (2002). En la temporalidad, ocurre primero la consolidación sináptica, en la que la memoria se vuelve resistente a interferencias o interrupciones en las primeras horas después del entrenamiento en alguna tarea conductual. Subsecuentemente, se lleva a cabo la consolidación sistémica, en la que participan varios circuitos cerebrales, se propone que inicialmente se lleva a cabo en el hipocampo y posteriormente se extiende hacia otros circuitos más extensos en otras estructuras como la amígdala o el estriado (Euston, Gruber, & McNaughton, 2012).

Asimismo, la información que forma parte de las experiencias tiene múltiples modalidades; se codifica, procesa e integra en distintas redes cerebrales funcionales que forman el repertorio conductual de un individuo (Kandel, Kupfermann, & Iversen, 2006). En este sentido, y en complemento a la propuesta de la consolidación sistémica, se propone que existen sistemas múltiples de memoria (White & McDonald, 2002).

La teoría de los sistemas múltiples de memoria, sugiere que el cerebro de los mamíferos tiene al menos tres principales sistemas de memoria que operan en

paralelo (White & McDonald, 2002). Cada sistema consiste en "una estructura central" y un conjunto de estructuras neurales interconectadas. La "estructura central" de estos circuitos diferentes incluye al hipocampo, la amígdala y al estriado dorsal. Estos sistemas de memoria adquieren información simultáneamente y en paralelo y están siempre conectados. En conjunto, estos sistemas tienen acceso a la misma información durante los eventos, pero cada sistema se ha seleccionado para representar diferentes relaciones entre los elementos de una situación de aprendizaje. Estos elementos incluyen estímulos, respuestas internas y externas y reforzadores. El modo de procesamiento de cada sistema se determina por la organización intrínseca del sistema y las relaciones de aferencias/eferencias hacia el resto del cerebro. Aunque procesan información de forma independiente, los sistemas pueden interactuar cooperativa o competitivamente para producir o influenciar la conducta actual o futura (Figura 1).

Entre estas tres estructuras centrales del sistema de memoria, se piensa que el hipocampo es crítico para la formación de memorias episódicas en las que se establece una representación compleja que está integrada por varios elementos de una situación o evento. La amígdala se ha involucrado en la formación y almacenamiento de memorias con contenidos emocionales. Estas memorias emocionales únicamente codifican la valencia subjetiva de la experiencia (positiva o negativa). El estriado dorsal se ha involucrado en los procesos de aprendizaje y memoria de procedimientos y hábitos (McDonald, Devan, & Hong, 2004).

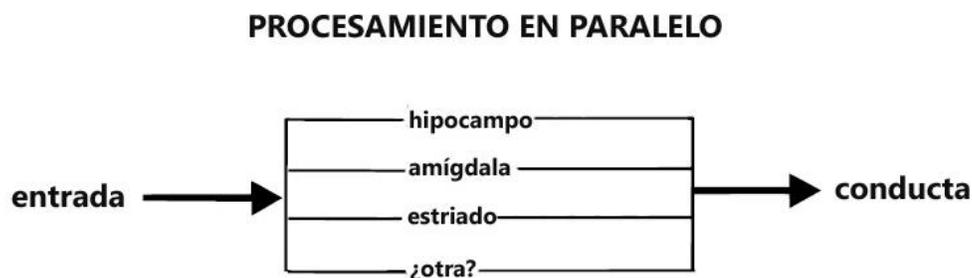


Figura 1. El concepto del procesamiento en paralelo. El hipocampo, el estriado dorsal y la amígdala son estructuras centrales en tres sistemas neurales, cada uno de los cuales puede funcionar de forma independiente. Cada sistema recibe información similar acerca de situaciones en las que se puede dar el aprendizaje y cada uno procesará esa información de acuerdo con un conjunto diferente de principios que enfatizan diferentes relaciones entre los elementos de la

situación (modo de procesamiento). Todos los sistemas influyen en la conducta del individuo, ya sea de una forma cooperativa o competitiva. El procesamiento dentro de cada sistema puede llevar al almacenamiento de la información (memoria) que influye en el procesamiento de información similar en el futuro. Modificado de White y McDonald (2002).

Una manera de desplegar el estado actual del repertorio conductual de un individuo es a través del desempeño motor voluntario, por lo que la ejecución de los movimientos es también una función de la memoria (Eichenbaum & Cohen, 2004). En este sentido, la formación y ejecución de rutas de navegación en el espacio es de suma importancia para la sobrevivencia de los animales en el ambiente, ya que es indispensable la constante actualización de la posición de los animales en el espacio-tiempo para la toma de decisiones y ejecución de respuestas.

Principalmente dos tipos de asociaciones del aprendizaje instrumental en las que los individuos aprenden a relacionar las consecuencias de sus acciones con la ocurrencia de un evento favorecen a la formación de estrategias de navegación. El aprendizaje orientado hacia metas, en el que se asocia la relación entre una acción con el valor motivacional de la consecuencia (A-O que proviene del inglés action-outcome), este tipo de asociaciones favorecen la formación de la memoria espacial. El otro tipo de aprendizaje asociativo es el habitual, en este se forman representaciones entre una respuesta y el estímulo (S-R, del inglés stimulus-response), que antecede sin ningún tipo de asociación a la consecuencia de la respuesta. Este tipo de aprendizaje permite la formación de la memoria de procedimiento (Schwabe & Wolf, 2013).

La formación de la memoria espacial involucra la emergencia de mapas que permiten hacer representaciones del espacio en el sistema nervioso central a través las claves dispuestas en el espacio respecto a un punto de referencia. Se han descrito claramente los correlatos fisio-anatómicos del proceso de navegación en el espacio del tipo allocéntrica, en la que la referencia fundamental es una representación general de todas las relaciones topográficas entre las claves espaciales, y la actualización continua de la posición del sujeto en el contexto de este mapa que se percibe con respecto a la posición relativa de esas claves (Wiener, 1993).

Las células de lugar, descritas por O'Keefe y Dostrovsky (1971), son neuronas piramidales del hipocampo que incrementan su tasa de disparo específicamente cuando el animal se encuentra en una ubicación en relación con claves espaciales externas (O'Keefe & Dostrovsky, 1971; O'Keefe & Nadel, 1978). Otro tipo celular que se ha propuesto como una especie de geo posicionamiento cerebral son las "grid cells" o células de rejilla de la corteza entorrinal del hipocampo descritas por el equipo encabezado por Edvard Moser y May-Britt Moser en el 2005 (Moser, Kropff, & Moser, 2008), estas células incrementan su tasa de disparo en varias ubicaciones puntuales y concretas del espacio en una especie de rejilla hexagonal que está organizada topográficamente respecto al tamaño y la distancia de los campos de las rejillas incrementan de la región dorsal a la ventral (Moser et al., 2008). Adicionalmente, otro tipo celular importante en la navegación y orientación en el espacio son las "head direction cells" o células de dirección de la cabeza, descubiertas en 1983 por James Rank, que incrementan su tasa de disparo específicamente cuando el animal orienta su cabeza a un punto en específico en el plano horizontal, estas células se encuentran distribuidas en diferentes estructuras cerebrales como el subículo, los núcleos lateral mamilar, anterodorsal, lateral dorsal y tegmental del tálamo (Sharp, 2005).

Complementariamente, la navegación en el espacio se da también a través de la memoria de procedimiento que proviene de información egocéntrica y propioceptiva del animal respecto al entorno (Burgess, 2008). Las representaciones de la información egocéntrica surgen en unidades neuronales que traducen la información sensorial multimodal para su integración sensoriomotora, estas neuronas se ubican en la corteza sensorial y motora, en primates por ejemplo se localizan en la región parietal 7 a (Burgess, 2008), también se localizan en el estriado dorsal y ventral y responden a movimientos egocéntricos como dar vuelta hacia la derecha, avanzar hacia adelante, iniciar el movimiento, etc. (Mizumori, Ragozzino, & Cooper, 2000; Wiener, 1993). El establecimiento de una ruta involucra memorizar secuencias repetidas de acciones o asociar estímulos con respuestas específicas del cuerpo con respecto a la disposición espacial, este tipo de información se propone a través de diversas evidencias experimentales que tiene

como sustrato anatómico al estriado dorsal, específicamente la región lateral (Packard & McGaugh, 1996; Yin & Knowlton, 2004; Yin, Knowlton, & Balleine, 2006).

De este modo, los sistemas de memoria encabezados por el hipocampo y por el estriado permiten que las estrategias de navegación aprendidas por los animales permanezcan disponibles para resolver exitosamente demandas del ambiente como el simple desplazamiento, encontrar refugio, obtener alimento, etc. Adicionalmente, una manera de hacer más eficiente el sistema de procesamiento y de almacenamiento, es reducir la cantidad de elementos que son necesarios para mantener el recuerdo de una conducta. Esto es, si la conducta se repite constantemente bajo los mismos patrones, entonces sucede una transferencia del uso de las estrategias de memoria espacial a las estrategias de memoria de procedimiento. Ya que la continua repetición de una ruta de navegación es más eficiente si pasa de ser una asociación del tipo A-O a una S-R, es más rápida, automatizada, estereotipada e inconsciente (Balleine & O'Doherty, 2010; Schwabe & Wolf, 2013).

De acuerdo con varios estudios, se propone que sería muy ineficiente e incluso patológico almacenar toda la información que experimentamos; una manera de filtrar o seleccionar la información que se almacena a largo plazo es en consideración a la futura utilidad para resolver situaciones o demandas del ambiente rápida y exitosamente, es una ventaja adaptativa (Schwabe & Wolf, 2013). Se propone que las experiencias de contenidos emotivos son un mecanismo por el cual se favorece la permanencia de recuerdos potencialmente más significativos para las especies a la vez que se depura la información neutra (McGaugh, 2000).

En los mamíferos se conserva un mecanismo de preservación bastante útil, el sistema de lucha-huida (Cannon, 1915) ante una amenaza (estresores físicos), que también responde de la misma manera ante una potencial amenaza (estresores psicológicos). Un mecanismo que informa a través de sus mensajeros entre la periferia y el cerebro, y entre el medio ambiente y el medio interno. Este sistema funciona a través del eje HHA que inicia con la liberación de la hormona liberadora de corticotropina en el hipotálamo, continúa con la liberación de la hormona

adrenocorticotropa de la hipófisis anterior y después de viajar por el torrente sanguíneo, en la corteza de las glándulas adrenales se liberan glucocorticoides que viajan por el torrente sanguíneo y pasan la barrera hematoencefálica libremente. El otro mecanismo de respuesta al estrés es a través de la actividad del sistema simpático adrenomedular que provoca la liberación de adrenalina, ésta no cruza la barrera hematoencefálica, sino que se une a los receptores β -adrenérgicos en el nervio vago, y éste proyecta al núcleo del tracto solitario que contiene células noradrenérgicas que proyectan a varias estructuras dentro de las cuales se encuentra el núcleo basolateral de la amígdala (BLA) y liberan noradrenalina. Esta liberación de noradrenalina activa proteínas cinasas como la proteína cinasa A (pKA) que participa en la consolidación de la memoria (McGaugh & Roozendaal, 2002). El conjunto de las acciones anteriores es un mecanismo por el cual la emotividad de un evento conlleva a que se almacene la memoria con mayor probabilidad que uno neutro. Representa un evento importante para conservar en la historia del individuo y recordar potenciales amenazas o fuentes de alimento, refugio, etcétera. De esta manera, el sistema de memoria encabezado por la amígdala regula su propia actividad y procesamiento de información, y a su vez regula a los sistemas de memoria encabezados por el hipocampo y el estriado.

2.2 Heterogeneidad funcional del estriado dorsal

El estriado pertenece a un conjunto de estructuras ubicadas en el prosencéfalo, en el centro del cerebro, conocidos como núcleos (o ganglios) de la base; tales núcleos son: el estriado, que se subdivide en el caudado y el putamen, el núcleo accumbens (que se subdivide en la región del núcleo y la región del manto) y el globo pálido (porción interna y externa), la sustancia nigra (pars compacta y pars reticulada) y el núcleo subtalámico (Gerfen & Bolam, 2010).

El estriado está integrado por diversos tipos celulares que se han descrito principalmente en estudios de roedores. Las neuronas de proyección conocidas como neuronas espinosas medianas GABAérgicas conforman la mayoría de las neuronas del estriado (Gerfen & Wilson, 1996) (80-97 % según la especie y el

método de conteo), presentan dos subpoblaciones que se diferencian en los péptidos y receptores a dopamina que expresan, una subpoblación expresa sustancia P, dinorfina y receptores D1, mientras que la otra subpoblación expresa encefalinas y receptores D2 (Gerfen & Wilson, 1996; Tepper & Plenz, 2008). El resto de los tipos celulares se componen por las interneuronas gigantes colinérgicas no espinosas con dos subpoblaciones, una que expresa colinacetyltransferasa y otra que expresa parvalbúmina. Las interneuronas GABAérgicas que expresan la proteína de unión a calcio parvalbúmina son otro tipo celular presente en el estriado. Adicionalmente, el estriado contiene interneuronas GABAérgicas que expresan el péptido somatostatina así como interneuronas GABAérgicas que expresan calretinina (Tepper & Plenz, 2008).

No obstante, los tipos celulares que se presentan de manera homogénea en el estriado dorsal en la región lateral (EDL) y medial (EDM) de los roedores, presentan una diferenciación computacional en las funciones en las que participan cada una de estas regiones. En contraste con los primates, en los que hay una separación anatómica clara de las regiones además de las funciones del estriado: el putamen (homólogo al EDL en roedores) y el caudado (homólogo al EDM en roedores) (Balleine, Delgado, & Hikosaka, 2007; Liljeholm & O'Doherty, 2012). Se propone que la diferencia funcional de cada región o estructura, de manera convergente en los dos grupos de mamíferos, reside en la conectividad topográfica de las regiones cortico-estriatales (Liljeholm & O'Doherty, 2012; Pennartz et al., 2009; Voorn et al., 2004).

EL EDL participa en la formación de hábitos a través de asociaciones estímulo respuesta y recibe proyecciones longitudinales de la corteza sensoriomotora, de manera que la región rostral que incluye a las áreas de la cabeza proyectan a la región central y ventral, y la región más caudal de la corteza sensoriomotora que incluye a las áreas de las extremidades proyecta a las regiones dorsales del estriado dorsolateral (Balleine & O'Doherty, 2010; McGeorge & Faull, 1989; Voorn et al., 2004).

El EDL participa en la formación de memorias espaciales que se basa en asociaciones del tipo A-O y recibe proyecciones del área visual, del área retrosplenial (McGeorge & Faull, 1989), así como de la corteza media prefrontal (Voorn et al., 2004), aunque en la misma corteza media prefrontal hay una distinción funcional de la región prelímbica y la infralímbica, ya que lesiones en la región prelímbica deterioran la asociaciones A-O orientadas por metas mientras que lesiones en la región infralímbica deterioran las asociaciones S-R que tras las repeticiones forman la memoria de procedimiento (Killcross & Coutureau, 2003).

Los hábitos son parte de las habilidades motoras que se integran en el conjunto de la memoria de procedimiento, y como tales, mantienen diversas características, que de acuerdo con Eichenbaum y Cohen (2004), son conductas que se adquieren, que son estereotipadas y son inconscientes. En este contexto, la memoria de procedimiento es aquella que se refiere a saber cómo hacer algo, no es accesible al conocimiento consciente, se manifiesta solamente a través del desempeño de una tarea, se forma gradualmente, es inflexible y mejora con la práctica (Knowlton & Greenberg, 2008).

El estudio que demostró que la memoria de procedimiento requiere inicialmente de un procesamiento espacial y que después de múltiples repeticiones hay un cambio hacia la memoria de procedimiento fue el realizado por Packard y McGaugh (1996), además, este estudio fue un gran hallazgo ya que demostró por primera vez que estos dos tipos de memoria correspondían a sustratos neuronales distintos, ya que inactivaron el EDL y observaron que la memoria de procedimiento no se forma, mientras que cuando inactivaron el hipocampo, la memoria espacial no se forma. Cabe destacar que en este tiempo aún no se consideraba la participación del EDM en la memoria espacial y se atribuía al hipocampo.

Estudios de lesiones permanentes o inactivaciones temporales reversibles del EDL han demostrado que, por una parte, se deteriora la formación de las asociaciones procedimentales S-R y en paralelo se favorece la habilidad para detectar cambios en las contingencias espaciales y contextuales A-O. Por ejemplo, un par de estudios demostraron que si se lesiona el estriado dorsolateral, las ratas

responden correctamente a la degradación de consecuencias y de contingencias, signos que indican una flexibilidad cognitiva propia de las asociaciones del tipo A-O y no llegan a formar la memoria de procedimiento incluso después de un entrenamiento extensivo mientras que las ratas que tuvieron una falsa lesión efectivamente mostraron una memoria de procedimiento con el incremento de los ensayos de entrenamiento y fueron insensibles (Yin, Knowlton, & Balleine, 2004; Yin et al., 2006). Además si se afecta la neurotransmisión glutamatérgica del EDL específicamente a través de los receptores NMDA mediante la administración de un antagonista de estos receptores a ratas entrenadas en un laberinto de Tolman (o también conocido como laberinto en cruz), se presenta un deterioro en la habilidad para ubicar el reforzador en una nueva ubicación (aprendizaje reverso) y se mantiene la conducta inflexible que se había aprendido previamente (Palencia & Ragozzino, 2004).

Por otra parte, las lesiones excitotóxicas en el EDM retrasan el inicio del aprendizaje espacial, ya que el desempeño de ratones entrenados en el laberinto acuático en la versión espacial se deteriora en comparación con la versión de procedimiento en la que su ejecución es buena, incluso en los ratones con las lesiones en el EDL y que se entrenan en la versión de clave, son incapaces de aprender una nueva ubicación de la plataforma de escape en el laberinto, lo cual sugiere que el EDL es importante en la flexibilidad cognitiva y en la formación de la memoria espacial (Lee, André, & Pittenger, 2014). Lesiones en la región posterior del EDM también causan un deterioro en la flexibilidad espacial (Braun & Hauber, 2011) que dependen de la actividad de las neuronas dopaminérgicas (Lex, Sommer, & Hauber, 2011). Asimismo, la inactivación temporal del EDM retrasa el aprendizaje reverso en una tarea espacial sin afectar el aprendizaje inicial, además la flexibilidad cognitiva que involucra el aprendizaje reverso depende del cambio en la actividad colinérgica (Ragozzino & Choi, 2004).

Electrofisiológicamente, las neuronas espinosas medianas del estriado responden de manera diferente de acuerdo con el periodo de entrenamiento y el tipo de asociaciones y estrategias que se estén formando. En un trabajo de Yin et

al. (2009) se entrenaron ratones a adquirir una habilidad motora en el rotarod que requirió un aprendizaje flexible basado en asociaciones A-O y que cuando se estableció fue mediado por asociaciones S-R, se hicieron registros *in vivo* a lo largo del entrenamiento y se encontró que las neuronas espinosas medianas del EDM incrementan su actividad al inicio de la adquisición de la tarea, pero conforme avanza el entrenamiento en etapas tardías, estas neuronas se silencian y dejan de disparar en la etapa que corresponde a la representación de la memoria de procedimiento; a diferencia de las neuronas espinosas medianas del EDL que permanecen inactivas al inicio del entrenamiento, pero incrementan su tasa de disparo cuando la habilidad se adquiere. En el mismo estudio, en registros *ex vivo* que se obtuvieron de ratones que se sacrificaron en fases tempranas o tardías del entrenamiento, se comprobó que la respuesta en la excitabilidad de las neuronas espinosas medianas es mayor en las fases tempranas en el EDM y en las fases tardías en el EDL.

Las neuronas espinosas medianas del estriado, por su condición de membrana biestable podrían hacer contribuciones al procesamiento de selección de información involucrada en la navegación espacial. Suceso que se podría dar a través del estado de baja actividad o “down state” del potencial por el incremento sustancial en las corrientes transitorias de entrada de potasio que sirven como una derivación para entradas débiles o asíncronas. Las transiciones entre los estados se regulan por la actividad temporal y espacial de las aferentes excitatorias. En este sentido, a través de las proyecciones corticales se informaría al estriado dorsal el contexto de las condiciones ambientales en las que se encuentra en sujeto, y ya que es siempre cambiante la conducta se mantiene una continua actualización del espacio contextual. La información, conjuntamente con la información que recibe el animal del movimiento, la orientación en el espacio y las contingencias reforzantes, permitirían la modificación directa la salida de las neuronas espinosas medianas (Mizumori et al., 2000).

2.3 Modulación de la consolidación de la memoria a través de los glucocorticoides: actividad de sus receptores sobre mecanismos celulares y repercusiones conductuales

Los glucocorticoides son hormonas esteroides de 21 carbonos cuya función más conocida es promover la gluconeogénesis. El cortisol es el glucocorticoide predominante en el humano y se sintetiza en la zona fasciculada de la corteza adrenal. La corticosterona, formada en la zona fasciculada y la glomerulosa, es menos abundante en el humano, pero es el glucocorticoide dominante en los roedores. La relevancia de estas hormonas es tan importante que mutaciones heterocigóticas y homocigóticas de ratones BALBc/57 por *knockout* de gen que codifica para el receptor GR son incompatibles con la vida en un 90 % y el 10% sobreviven con severos problemas respiratorios (Hambusch, Landgraf, Czibere, & Touma, 2009).

Estas hormonas son parte de la respuesta al estrés que se ejecuta mediante la activación de eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HHA), y se liberan a la circulación de manera circadiana, con un pico máximo en los momentos previos a la actividad de los organismos, así como en respuesta a estímulos estresantes. Por su peso molecular de $346.6 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, menor de 7 800 Da, que es la molécula más grande que atraviesa la barrera hematoencefálica por difusión transmembranal (Pan et al., 2011) y su naturaleza lipofílica, cruzan libremente la barrera hematoencefálica y llegan al sistema nervioso central (Pardridge & Mietus, 1979).

La corticosterona se puede unir a dos receptores con diferente afinidad: el MR que tiene una afinidad de $\sim 0.5 \text{ nM}$ y se ocupa en situaciones basales (80% aproximadamente), mientras que el GR tiene una afinidad de $\sim 5.0 \text{ nM}$ y se ocupa cuando hay un incremento en los niveles circulantes, puede ocurrir cuando se llega al pico máximo de liberación circadiana o cuando se activa el sistema de respuesta al estrés (de Kloet et al., 1999; De Kloet & Reul, 1987; Reul & de Kloet, 1985; Sandi, 2003). Los MR se limitan a las neuronas y los GR están presentes en células neuronales y gliales, además los GR tienen una expresión más prominente en el

núcleo paraventricular del hipotálamo y en el hipocampo, en menor grado se expresan en estructuras como la corteza cerebral (de Kloet et al., 1999; De Kloet & Reul, 1987; Reul & de Kloet, 1985). La función más estudiada de los GR es a través de su actividad de receptor nuclear (GRn) conocida también como actividad lenta o genómica; sin embargo también pueden ejercer su función a través de receptores que si bien no están en membrana celular, se encuentran acoplados a ella (GRm) y su actividad se menciona como no genómica o rápida (Groeneweg, Karst, de Kloet, & Joels, 2012; Groeneweg, Karst, de Kloet, & Joëls, 2011; Prager & Johnson, 2009), Además es importante mencionar que los trabajos de detección en todo el cerebro que se han realizado son de los GRn y no de los GRm (Ahima, Krozowski, & Harlan, 1991; Dallman, 2005; Morimoto, Morita, Ozawa, Yokoyama, & Kawata, 1996). Recientemente, se ha mostrado, a través de microscopía electrónica, en la región lateral de la amígdala que los receptores GRm se ubican en sitios no genómicos como en las terminales post-sinápticas, en las dendritas y espinas dendríticas (Johnson, Farb, Morrison, McEwen, & LeDoux, 2005).

La vía larga o nuclear es la vía que más se conoce de los GR y de la que más evidencias hay; el ligando debe unirse a sus receptores que se localizan en el núcleo inactivos mediante la unión a proteínas de choque térmico como la HSP70 y la HSP90, una vez que se unen, se forman homodímeros del GR y se translocan al núcleo. Puede haber transactivación o transrepresión para modular la actividad del receptor río abajo e influir en la expresión o represión de genes. La vía rápida o por receptores acoplados a membrana se ha explorado más recientemente y el mecanismo en el que hay más consenso en el campo es a través de la unión del ligando a receptores membranales, con la misma efectividad de unión afinidad a los receptores nucleares (Xiao, Feng, & Chen, 2010), los receptores GRm están acoplados a proteínas Gq/s que estimulan la actividad de la pKA, la vía de las ERK cinasas, luego de una serie de actividad dependiente de cinasas también converge en la expresión de genes y por consiguiente de proteínas que influyen en el proceso de funciones celulares que participan en la procesos de plasticidad asociados con procesos cognitivos (Groeneweg et al., 2011).

Una manera de averiguar si la formación de una memoria depende de la vía rápida/membranal o si depende de la vía lenta/nuclear, es mediante el bloqueo de la síntesis de proteínas con fármacos como la anisomicina, de esta manera si se observa la memoria intacta, a pesar de la administración del fármaco, es un indicador de actividad membranal; de otra manera si la memoria presenta un deterioro, se sugiere entonces que es un proceso que depende de la actividad nuclear. Asimismo, si se administran tratamientos conjugados o acoplados a proteínas de alto peso molecular e impermeables a la membrana celular como la albúmina de suero de bovino (BSA, por sus siglas en inglés), se evitarán los efectos nucleares. Finalmente, la temporalidad es otro factor para determinar si es la actividad membranal o nuclear la que influye en la memoria; en tiempos iguales o menores a 30 min (Prager & Johnson, 2009) o incluso hay quienes sostienen que 20 min (Riedemann, Patchev, Cho, & Almeida, 2010), se llevan a cabo los mecanismos membranales y tiempos superiores a este, por los nucleares. En un estudio de Karst et al. (2005), se observó que al menos el MR acoplado a membrana tiene una afinidad de 10 a 20 veces menor que el citosólico en preparaciones de hipocampo.

En lo que corresponde a la actividad nuclear de los GR y la participación de estos en la formación de la memoria, un estudio en el que utilizaron ratones con una mutación puntual homocigótica en el GR (GR dim/dim), que genera una disminución en la homodimerización (provoca una disminución considerable en la habilidad del GR de trasladarse al núcleo y continuar con la transcripción y traducción), mostró que los ratones GR dim/dim presentan deterioro en la memoria espacial provocada por el entrenamiento en la tarea del laberinto acuático comparados con los ratones silvestres (Oitzl, Reichardt, Joëls, & de Kloet, 2001). En otro estudio en el que se hizo una mutación que interfiere con la funcionalidad del gen que codifica para el GR y se obtuvieron ratones homocigotos y heterocigotos que se entrenaron en la tarea espacial del laberinto acuático de Morris, se encontró que tanto los ratones homocigóticos como los heterocigóticos presentan un memoria espacial deficiente en comparación con los ratones silvestres (Oitzl, de Kloet, Joëls, Schmid, & Cole, 1997). Estas evidencias demuestran la importancia de que se lleven a cabo las

funciones nucleares del receptor para que se consolide la memoria espacial de una tarea aversiva.

Los efectos de los GR α se han evaluado mediante la administración exógena de corticosterona:BSA, por ejemplo Barsegyan, Mackenzie, Kurose, McGaugh y Roozendaal (2010) entrenaron a ratas en la tarea de evitación inhibitoria e inmediatamente después del entrenamiento administraron en la mPFC corticosterona:BSA, sus hallazgos reportan que hay una facilitación de la memoria. Ambas vías, la membranal rápida y la nuclear lenta convergen en la modulación de la memoria.

Los efectos que ejercen los glucocorticoides mediante las acciones membranales rápidas y las nucleares lentas sobre la actividad de las células neuronales son importantes en los procesos de plasticidad subyacentes a la memoria. La aplicación de corticosterona 100 nM en rebanadas del hipocampo, incrementa la frecuencia mas no la amplitud de las corrientes miniatura de los potenciales excitatorios, mEPSCs, y por lo tanto la excitabilidad de las neuronas piramidales de CA, estos efectos están mediados por MR acoplados a membrana y no por los GR (Karst et al., 2005). Adicionalmente, la corticosterona inhibe las corrientes transitorias de potasio IA (Olijslagers et al., 2008), que en conjunto con el incremento en la frecuencia de los mEPSCs, promoverían la excitabilidad y la plasticidad del hipocampo ya que promueve la movilidad de los receptores AMPA a la membrana y facilita la inducción de la plasticidad sináptica de procesos asociados con la memoria como la potenciación de largo plazo (LTP, por sus siglas en inglés). En la mPFC la aplicación de distintos estresores de manera aguda, facilita la transmisión glutamatérgica mediada por receptores del tipo NMDA y AMPA, ya que hay una facilitación de las corrientes sinápticas excitatorias postsinápticas (EPSC) registradas en las neuronas piramidales, actividad que es dependiente de la actividad del GR ya que la inducción de estrés combinada con el antagonista específico de los GR RU486 bloquea el incremento que antes se observaba en las EPSC tanto en los receptores NMDA como en los AMPA y el antagonista específico de los MR RU28318 no bloquea estos efectos (Yuen et al., 2009).

La actividad por los GRm sobre las neuronas del hipocampo genera cambios plásticos en las espinas diferencialmente si se trata de efectos agudos o crónicos; hay un incremento en la densidad de las espinas luego de la aplicación de corticosterona y es mediado en mayor proporción por los GRm que por los MRm (Liston & Gan, 2011), mientras que hay una poda sináptica significativa después de la exposición crónica a corticosterona. Efectos de plasticidad estructural asociados con la actividad de la corticosterona suceden en la mPFC, en los que diversos estresores cuando se aplican de manera crónica, causan un encogimiento de las neuronas, simplificación de las dendritas y reducción de la densidad de espinas dendríticas (Radley et al., 2006). En la amígdala, la administración de un estresor agudo induce la formación de nuevas espinas dendríticas que permanecen hasta por 10 días, pero la administración crónica de estresores induce atrofia en las neuronas bipolares (Vyas, Mitra, Shankaranarayana Rao, & Chattarji, 2002).

Las respuestas conductuales cognitivas mediadas por la corticosterona dependen de múltiples factores e interacciones complejas, pues varían de acuerdo a la cantidad o dosis de la hormona liberada, el momento circadiano, la disponibilidad de los receptores, (de acuerdo con el estado fisiológico); además dependerán del momento en el que se administren de manera exógena, es decir, durante la etapa de adquisición, la consolidación o la evocación de la información, también dependerá de la ventana temporal en la que se presenten los eventos y si la administración o exposición a dicha hormona es aguda o crónica (Joëls & Baram, 2009; Sandi, 2011).

Una gran cantidad de estudios han descrito los mecanismos de acción de los glucocorticoides en los sistemas de memoria de la amígdala, del hipocampo e incluso de manera reciente, de la corteza media prefrontal (Joëls & Baram, 2009; McEwen & Sapolsky, 1995; McEwen, Weiss, & Schwartz, 1968; Sandi, 2003; Schwabe & Wolf, 2013). El campo de estudio siguió un patrón muy intuitivo al estudiar las estructuras directamente relacionadas con el procesamiento de experiencias emotivas, primero la amígdala y sus núcleos, posteriormente el sistema del hipocampo por su papel en la consolidación y además por su alta

presencia de receptores GR (Barsegyan et al., 2010; Cahill & McGaugh, 1998; McEwen & Morrison, 2013; McGaugh, 2000; Quirarte, Roozendaal, & McGaugh, 1997; Roozendaal et al., 2009; Roozendaal, Nguyen, Power, & McGaugh, 1999). De tal manera que sabemos que en tareas conductuales que utilizan estímulos aversivos como la evitación inhibitoria, el condicionamiento de miedo al contexto o el condicionamiento de miedo al tono, la memoria se modula por los efectos de los glucocorticoides. Asimismo, tareas de navegación espacial como el laberinto acuático de Morris y que además son aversivas la modulación en el hipocampo a través de glucocorticoides mejora la retención de la memoria (Roozendaal & McGaugh, 1997; Sandi, Loscertales, & Guaza, 1997).

Sin embargo, el procesamiento de la información relacionada con los procedimientos y los hábitos y la participación de los glucocorticoides es considerablemente menor en el campo de estudio. El valor adaptativo que tendría formar un procedimiento o un hábito que se forma de manera lenta, y que requiere de muchos ensayos hasta volverse una respuesta automática, estereotipada en un menor tiempo ofrece mayor disponibilidad de recursos al sistema nervioso y al sujeto como tal para integrar otro tipo de información y al mismo tiempo asegurar que esa memoria estará disponible en cuanto sea necesaria (Schwabe & Wolf, 2009, 2011, 2013). En este sentido, si los glucocorticoides pueden modular también la consolidación de este tipo de memorias, se estaría generando un ahorro, en consecuencia, se producirían en menor tiempo conductas habituales.

Se pueden observar dos fenómenos, el primero es que los glucocorticoides efectivamente modulan las memorias de procedimiento y en segundo lugar que favorecen la formación de la memoria de procedimiento sobre la memoria espacial. Un estudio demostró que cuando se administra corticosterona de manera sistémica, (i. e. una liberación endógena de glucocorticoides ante un estresor) , en ratones que se entrenaron en un laberinto de Barnes (i. e. el ratón debe aprender a escapar de una plataforma circular elevada con hoyos en el perímetro, pero solo uno de ellos conlleva a un escape, y que se puede resolver con el uso primero de estrategias espaciales y después de procedimiento), se favorece un cambio en el uso de la

memoria espacial a la de procedimiento comparado con los ratones que recibieron la solución vehículo. Este cambio de memoria espacial-procedimiento se favorece por los efectos de la corticosterona, pero además ellos reportan que se debe a la participación del receptor MR y no al GR (Schwabe et al., 2010).

Otra evidencia de que las hormonas de respuesta al estrés modulan la memoria de procedimiento es el estudio realizado por Goodman, Leong y Packard (2015) en el que entrenaron a ratas en un laberinto acuático en forma de T a escapar de un tanque con agua en el que una plataforma se coloca al final de un brazo y la rata aprende a hacer una vuelta específica para entrar al brazo correcto ya que el laberinto carece de información visual extra. Ellos administraron corticosterona inmediatamente después del entrenamiento por vía sistémica (3 mg/kg ip) y de manera similar a los hallazgos de (Schwabe et al., 2010), encontraron que se facilita la memoria de procedimiento pero además encontraron que este efecto depende de una activación adrenérgica, probablemente de la amígdala basolateral, ya que al administrar el antagonista β -adrenérgico propranolol por vía sistémica ya no se observa la facilitación de la memoria por la administración sistémica de corticosterona.

En un estudio de Quirarte et al. (2009), se entrenaron a ratas en la tarea del laberinto de Morris en la versión de clave (tarea de procedimiento), las ratas nadan en un tanque cilíndrico con agua (25 ± 1 °C) en una habitación desprovista de información visual externa, para encontrar una plataforma de escape que se encuentra sumergida en el agua y tiene una clave visual. Después de ocho ensayos de entrenamiento, a las ratas se les administró en el estriado dorsal corticosterona (2, 5 o 10 ng). A las cuarenta y ocho horas se realizó un ensayo de prueba y se encontró que las ratas que recibieron corticosterona de manera dosis-dependiente, tardaron menos tiempo en encontrar la plataforma en comparación con las ratas que recibieron la solución vehículo. A otro conjunto de ratas se les entrenó en el laberinto acuático de Morris en la versión espacial y no se encontraron efectos de la administración de corticosterona en el estriado dorsal sobre la retención de la tarea.

En otro estudio, Lozano, Serafín, Prado-Alcalá, Roozendaal y Quirarte (2013), entrenaron ratas también en el laberinto acuático de Morris, tanto en la versión espacial como en la de procedimiento y se les administró corticosterona en la región dorsomedial del estriado después del entrenamiento, se realizó una prueba de competencia para determinar si el tratamiento favorecía un tipo de memoria sobre otro, si se toma en cuenta a su vez la regionalización funcional; se encontró que únicamente se facilita la memoria espacial y no la de procedimiento.

Estudios en humanos también han sometido a prueba la hipótesis de que los efectos del estrés como la liberación de cortisol, producen cambios en la actividad del sistema nervioso central y que además promueven la consolidación de la memoria de procedimiento. En estos estudios se utilizan estresores psicológicos y físicos, uno de estos protocolos consiste en sumergir la mano en una cubeta con agua helada y hielos mientras un observador presencia la tarea y se graba en vídeo el desempeño de los participantes (SECPT, por sus siglas en inglés; Socially Evaluated Cold Pressor Test), en consecuencia, hay incrementos en la presión arterial, el ritmo cardíaco y los niveles de cortisol circulantes. Así, se demostró que los participantes estresados y no los sujetos control que se entrenaron en una tarea de aprendizaje de clasificación, tienen un mal desempeño en la formación de estrategias declarativas dependientes del hipocampo, pero su ejecución mejora significativamente y se cambia hacia la formación de estrategias de procedimiento (Schwabe & Wolf, 2012). También se descubrió en este estudio, que fue la primera evidencia de los efectos del estrés sobre los sistemas de memoria en humanos, a través de la imagen por resonancia magnética funcional, que hay una correlación positiva de los sujetos controles no estresados con la actividad del hipocampo, mientras que en los sujetos estresados hay una correlación positiva con la actividad del estriado, y notoriamente se disminuye hasta correlacionar negativamente la actividad del hipocampo después del estrés (Schwabe & Wolf, 2012).

En conjunto, las evidencias sugieren que podría existir una modulación diferencial de los glucocorticoides que se liberan en respuesta a estímulos

estresantes en las regiones dorsolateral y dorsomedial del estriado de acuerdo con el tipo de información que procesan, de procedimiento o espacial.

2.3. Actividad intrínseca de los CB1Rs y actividad conjunta con los GR

Los endocannabinoides son moléculas cannabinoides endógenas que conforman un sistema de neuromodulación compuesto por: 1) dos principales ligandos de naturaleza lipídica derivados del ácido araquidónico, la N-araquidonoil-etanolamina (anandamida) y el 2-araquidonilglicerol (2-AG); 2) dos principales receptores presinápticos acoplados a proteínas Gi/o que modulan la adenilato ciclasa: el CB1 (CB1R) y el CB2 (CB2R), los CB1Rs son los más abundantes en el tejido cerebral, principalmente se localizan en los axones de las neuronas, mientras que los CB2Rs se expresan principalmente en el tejido periférico como células del sistema inmune y en el cerebro en células de la microglía, sin embargo hay algunos estudios que describen su expresión en neuronas (Gong et al., 2006; Van Sickle et al., 2005); 3) la vía canónica de síntesis de endocannabinoides se da por incrementos intracelulares de calcio después de la despolarización principalmente por dos enzimas, la N-acil fosfatidiletanolamina-fosfolipasa D (NAPE-PLD, por sus siglas en inglés) que sintetiza la anandamida, y el 2-AG se sintetiza por la fosfolipasa C y las isoformas α y β de la diacilglicerol lipasa (DAGL, por sus siglas en inglés); 4) las enzimas de degradación son la amida hidrolasa de los ácidos grasos (FAAH, por sus siglas en inglés) para la anandamida y la monoacilglicerol lipasa (MAGL por sus siglas en inglés) para el 2-AG (Di Marzo et al., 1998; Gray et al., 2014; Luchicchi & Pistis, 2012).

En conjunto, los endocannabinoides y los CB1Rs, que se ubican en las terminales presinápticas de naturaleza glutamatérgica, GABAérgica, o dopaminérgica, modulan las sinapsis mediante una disminución en la actividad de disparo (Lovinger, Gremel, & Mathur, 2012; Luchicchi & Pistis, 2012) y atenúan los incrementos en la liberación excesiva de neurotransmisores u hormonas en distintas funciones. Se conserva este sistema de señalización a lo largo de la escala

filogenética desde los invertebrados hasta los vertebrados y además en la ontogenia de los mamíferos (Salzet, Breton, Bisogno, & Di Marzo, 2000).

Los endocannabinoides participan en varios procesos fisiológicos del sistema nervioso central. En el dolor, presentan un papel de analgesia (Walker & Huang, 2002), ya que ante un estímulo doloroso, se libera anandamida en la sustancia gris periacueductal (región que está relacionada con el procesamiento del dolor), además, la administración del antagonista de receptores CB1 SR141716 genera hiperalgesia (Richardson, Aanonsen, & Hargreaves, 1997). Otro proceso en el que participan los endocannabinoides es en la marcha o en la motricidad general ya que interactúan con el sistema dopaminérgico de los ganglios basales (Fernandez-Ruiz, Lastres-Becker, Cabranes, Gonzalez, & Ramos, 2002). Participan también en la regulación del sueño, por ejemplo, la anandamida tiene una actividad promotora del sueño de ondas lentas (Murillo-Rodríguez et al., 1998) mientras que el bloqueo de los CB1Rs incrementa la vigilia a la vez que interfiere con el sueño de ondas lentas y el de movimientos oculares rápidos (Santucci, Storme, Soubrie, & Le Fur, 1996). Los endocannabinoides como la anandamida promueven el apetito y el SR 141716 induce pérdida del apetito, adicionalmente regulan la conducta de lactancia ya que el bloqueo del CB1R en ratas recién nacidas impide la succión hacia la madre (Fride, 2002).

Para el estudio presentado en esta tesis, son de mayor interés las funciones de los endocannabinoides en la regulación del eje HHA, en la cognición y la integración de las hormonas que se liberan en respuesta a la activación del eje HHA específicamente en la consolidación de las memorias aversivas.

El primer estudio que demostró claramente que los endocannabinoides son reguladores negativos del eje HHA fue por el grupo de investigación de Jeffrey Tasker. Di et al. (2003), hicieron un estudio *in vitro* en rebanadas que contenían el hipotálamo de ratas en las que la inactivación de los CB1Rs específicamente del núcleo paraventricular del hipotálamo disminuye considerablemente la liberación postsináptica de glutamato, señal que induce la liberación de la hormona corticotropa (CRH por sus siglas en inglés) que es la hormona que inicia la activación río abajo

del eje HHA con la posterior secreción de la hormona adrenocorticotropa (ACTH, por sus siglas en inglés) en la hipófisis y finalmente de corticosterona de la corteza adrenal. También evidencias de este grupo de trabajo demostraron posteriormente que la síntesis y liberación de los endocannabinoides y su efecto de regulación negativa del eje HHA es dependiente de la actividad membranal rápida de los GR (Tasker, 2006).

Se ha observado que la administración sistémica aguda de corticosterona produce un incremento de anandamida en el hipocampo, la amígdala y el hipotálamo, y de 2-AG en el hipotálamo (Hill, Karatsoreos, Hillard, & McEwen, 2010). En el hipotálamo potencialmente este incremento está directamente relacionado con el eje HHA sin embargo, en el hipocampo y en la amígdala, este incremento puede implicar que, además de estar relacionado con el eje HHA, tenga un papel en la cognición.

En procesos cognitivos también participan activamente en estructuras como el hipocampo donde se ha observado que la anandamida produce tanto deterioro como facilitación de la memoria (Castellano, Ventura, Cabib, & Puglisi-Allegra, 1999; Murillo-Rodríguez et al., 1998).

Hay evidencias opuestas que demuestran que la administración sistémica de fármacos causa tanto deterioro de la consolidación como facilitación (Morena & Campolongo, 2014). Sin embargo, la administración sistémica conlleva a otros efectos más inespecíficos. Aunque se han encontrado también estos efectos opuestos en la administración directa en estructuras discretas del cerebro. Por ejemplo, la administración en el hipocampo del agonista WIN 55,212 deteriora la consolidación de la memoria de la tarea de evitación inhibitoria (Jamali-Raeufy, Nasehi, & Zarrindast, 2011), sin embargo, la administración del endocannabinoide anandamida en el hipocampo mejora la consolidación de la memoria (De Oliveira Alvares, Genro, Diehl, & Quillfeldt, 2008). En la BLA la administración de agonistas mejora la retención de la memoria de la tarea de evitación inhibitoria, mientras que la administración de antagonistas causa deterioro, aún más importante, la

administración de un antagonista interfiere con la facilitación de la memoria causada por la administración de corticosterona sistémica (Campolongo et al., 2009).

La diversidad en los efectos se podría deber a varios factores. La naturaleza neuromodulatoria de los mismos, la especificidad de los fármacos que se han empleado en los diversos estudios, la neuroquímica y citoarquitectura de las regiones cerebrales, la funcionalidad, es decir el sistema de memoria en el que están involucrados y la fase de la memoria en la que se encuentre, pero especialmente se asocia con el contexto en el que se desarrolla la tarea o la experiencia. Si de manera intrínseca hay previamente una situación que provoque alerta y desencadene la liberación de hormonas de respuesta al estrés como la noradrenalina y la corticosterona, que a su vez modulan la formación de la memoria, estas tienen influencia sobre el núcleo basolateral de la amígdala que proyecta a diversas estructuras como el hipocampo y el estriado y finalmente modulan la memoria asociada con el funcionamiento de esas estructuras (Packard & Teather, 1998). En la propia amígdala hay una importante presencia de CB1Rs que en conjunto con los glucocorticoides modulan los mecanismos río abajo para modular la consolidación de una memoria aversiva.

Un modelo propuesto por Hill y McEwen (2010) explica los mecanismos por los cuales una experiencia estresante con contenido emotivo aversivo como la tarea de evitación inhibitoria, tiende a ser mejor almacenada, con base en la funcionalidad de la amígdala basolateral (Figura 2).

Como se describe en la Figura 2, el mecanismo es el siguiente: la corticosterona que se libera durante el entrenamiento debida a la administración de un choque eléctrico en las patas de la rata viaja por el torrente sanguíneo y se une a sus receptores acoplados a membrana GRm (1), ya que son receptores acoplados a proteínas Gs de la vía cAMP/PKA, se induce la síntesis de endocannabinoides (2). Los endocannabinoides se liberan entonces en la presinapsis donde se unen a sus receptores CB1 en las terminales GABAérgicas (3). En consecuencia, inhiben la liberación de GABA (4). Esta supresión de la liberación de GABA subsecuentemente desinhibe la liberación de norepinefrina (NE) (5). Esto resulta en la activación de

receptor β -adrenérgico postsináptico y la vía de señalización intracelular río abajo cAMP/PKA/CREB (6). Estos efectos de la corticosterona en la activación noradrenérgica en la amígdala basolateral se requieren para facilitar la consolidación de la memoria (Hill & McEwen, 2009).

Una descripción o propuesta de mecanismo del papel de los endocannabinoides en la modulación de las memorias aversivas no se ha descrito para el estriado. En el estriado se ha demostrado que los GR participan en la consolidación de memorias aversivas (Lozano et al., 2013; Medina et al., 2007; Quirarte et al., 2009; Siller-Pérez et al., 2017). Por otra parte, el estriado es una de las regiones del cerebro con mayor densidad de CB1Rs y se localizan en las neuronas GABAérgicas (Herkenham et al., 1990). También hay estudios que demuestran que los endocannabinoides participan en la formación y evocación de memorias emotivas aversivas (Goodman & Packard, 2014) y motivadas por reforzadores positivos (Rueda-Orozco, Montes-Rodriguez, Soria-Gomez, Méndez-Díaz, & Prospéro-García, 2008). En conjunto, la interacción de los glucocorticoides y endocannabinoides en la formación de la memoria de tipo aversivo aún no se ha estudiado en el estriado dorsal.

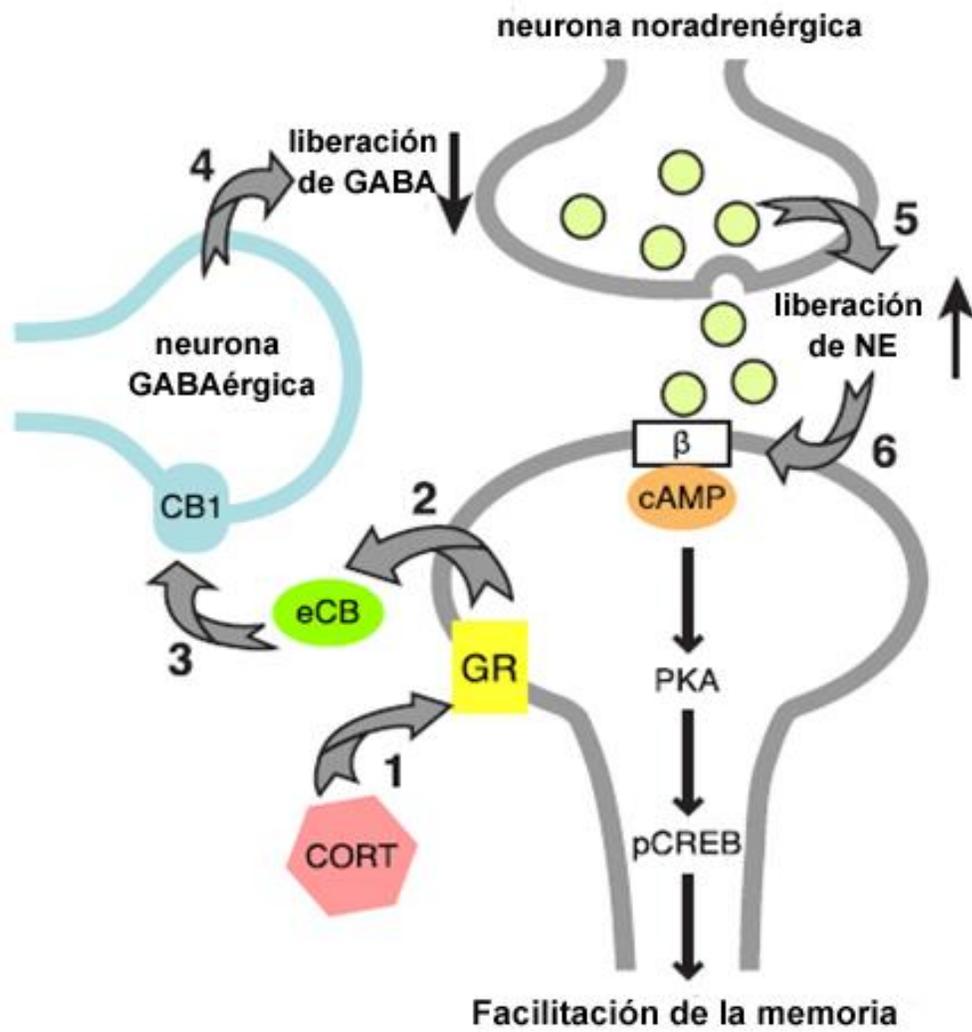


Figura 2. Modelo propuesto por Hill y McEwen (2009) del papel del sistema endocannabinoide en la amígdala basolateral en la mediación de los efectos de los glucocorticoides sobre la consolidación de la memoria. Modificado de Atsak, Roozendaal y Campolongo (2012).

3. JUSTIFICACIÓN

El recuerdo de las experiencias es el resultado de la convergencia de múltiples mecanismos que comprenden desde la actividad molecular y celular hasta las interacciones con el medio ambiente. En este sentido, el estudio de la formación de la memoria a través de aproximaciones experimentales mediante modelos logra en cierto modo integrar algunos componentes, con los que aportan evidencias que permiten entender la cognición de una mejor manera. Así, este estudio surge de la necesidad de integrar tres elementos que participan en la consolidación de la memoria y que convergen en el estriado dorsal.

En primer lugar, el estriado dorsal se asocia ampliamente con el sistema de memoria de procedimiento (White & McDonald, 2002), y ciertamente es elemental el estriado dorsal, pero más específicamente la región dorsolateral (Packard & McGaugh, 1996; Yin et al., 2004; Yin et al., 2009). Sin embargo, el estriado dorsal en su región medial, resulta ser también importante en la consolidación de memorias espaciales (Mizumori et al., 2000; Yin & Knowlton, 2004). Asimismo, el estriado dorsal, en su porción anterior, tiene un papel central en la consolidación de memorias aversivas (Pérez-Ruíz & Prado-Alcalá, 1989). En este contexto, el estriado dorsal, por su heterogeneidad funcional es importante en la formación de memorias que requieren flexibilidad conductual como la espacial, así como se involucra en la formación de conductas más rígidas e inflexibles como la memoria de procedimiento y en las memorias emocionalmente estresantes.

En segundo lugar, el estriado dorsal, a diferencia de estructuras como el hipocampo o la mPFC, no participa en la regulación negativa del eje HHA, pero sí expresa receptores a GR (Morimoto et al., 1996) que se unen a la corticosterona, y que podrían tener otras funciones, una de ellas, es la cognición. La activación o bloqueo de los GR influye en la consolidación de la memoria de tareas espaciales, de procedimiento y aversivas (Finsterwald & Alberini, 2014; Sandi, 2013). Sin embargo, los receptores GR no tienen una distribución específica de alguna región en particular, por lo que los diversos estudios proponen que los efectos se deben

más bien a la propia funcionalidad del estriado de acuerdo con sus conexiones y actividad neuronal que se involucra en los distintos tipos de memoria. Por lo que en este estudio identificamos como necesario la separación de las regiones del estriado de acuerdo con el tipo de información que procesa para evaluar el efecto de los glucocorticoides.

En tercer lugar, los glucocorticoides cuando se unen a los GR no solamente tienen efectos a través de la unión a sus receptores, sino que potencialmente pueden establecer interacciones con otros sistemas. En conjunto, los glucocorticoides con los receptores NMDA, regulan la actividad glutamatérgica del hipocampo en procesos de plasticidad sináptica (Tse, Bagot, & Wong, 2012) asimismo modulan la actividad GABAérgica (Zheng et al., 2007). En el estriado anterodorsal, los glucocorticoides interactúan con el sistema colinérgico en la consolidación de una tarea aversiva (Sanchez-Resendis et al., 2012). Sin embargo un sistema con el que potencialmente podrían tener interacción es con los endocannabinoides, ya que en el estriado es una de las estructuras que expresa una gran cantidad de receptores a cannabinoides CB1 (Herkenham et al., 1990). En el hipocampo y en la amígdala se integran ambos sistemas en la modulación de la consolidación de memorias emotivas. Con lo anterior en este estudio propusimos evaluar si la consolidación de la memoria de un evento aversivo involucra la participación de los GR y los CB1Rs en el estriado anterodorsal. Lo cual daría indicios de que es un sistema de acción conservado en las diversas áreas del cerebro que participan en las funciones cognitivas.

4. HIPÓTESIS

H1: La administración de corticosterona en el EDL facilitará la formación de la memoria de procedimiento.

H2: La administración de corticosterona en el EDM retrasará la formación de la memoria de procedimiento.

H3. La consolidación de una memoria aversiva requiere de la participación de los receptores a cannabinoides CB1 del estriado.

H4. Los receptores a cannabinoides CB1 se integran en la señalización río abajo de los glucocorticoides durante la consolidación de la memoria aversiva.

H5. Los efectos de facilitación de la memoria y reclutamiento de CB1 son principalmente por la actividad no genómica de los GR.

5. OBJETIVOS

5.1 OBJETIVOS GENERALES

1. Investigar el posible efecto diferencial de la corticosterona sobre la consolidación de la memoria espacial y de procedimiento en el EDL y en el EDM.
2. Investigar la posible participación en conjunto de los glucocorticoides y los endocannabinoides del estriado antero dorsal en la consolidación de la memoria de un evento aversivo.

5.2 OBJETIVOS PARTICULARES

1. Determinar el efecto de la corticosterona en el EDL sobre el cambio en el uso de la memoria espacial a la memoria de procedimiento.
2. Determinar el efecto de la corticosterona en el EDM sobre el cambio en el uso de la memoria espacial a la memoria de procedimiento.
3. Comprobar que los glucocorticoides estriatales facilitan la consolidación de la memoria de una tarea de evitación inhibitoria
4. Investigar si los efectos de facilitación de la memoria dados por los glucocorticoides dependen de la actividad de los receptores CB1 de estriado.
5. Investigar si los efectos de los glucocorticoides dependen de la activación de los receptores GR por vía no genómica.
6. Determinar la posible participación río abajo de los receptores CB1 en la facilitación de la memoria inducida por la vía no genómica.

6. MATERIALES Y MÉTODO

Los protocolos experimentales de la presente tesis fueron aprobados para su realización 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 a las normas estipuladas en la “NIH Guide for Care and Use of Laboratory Animals (National Research Council, 2011).

6.1 Sujetos

Se utilizaron ratas macho *Rattus norvegicus* de la cepa *Wistar*, de ocho semanas de edad, que se obtuvieron de la colonia de producción del Instituto de Neurobiología. Se alojaron individualmente en cajas de acrílico transparente, y se mantuvieron en una temperatura de 21 °C y un ciclo de luz/oscuridad de 12 h/12 h (encendido a las 07:00 h), en el bioterio del laboratorio de Aprendizaje y Memoria. Las ratas que se usaron en los experimentos realizados en la Sección I de la presente tesis tuvieron acceso a alimento *ad libitum* hasta antes del comienzo de la restricción alimenticia (6.6) y agua *ad libitum*. Las ratas que se utilizaron en la Sección II se mantuvieron con acceso a agua y alimento *ad libitum*.

En la Sección I se utilizaron 171 ratas y en la Sección II se utilizaron 162 ratas.

6.2 Cirugía

Con un peso de 250-300 g, las ratas se sometieron a una cirugía esterotáxica. Se anestesiaron con pentobarbital sódico (50 mg/kg) además se les administró atropina (0.4 mg/kg) con la finalidad de disminuir las secreciones de las vías respiratorias; ambos fármacos fueron inyectados por la vía intraperitoneal. Se les implantaron bilateralmente cánulas guía con una longitud de 11 mm fabricadas de tubo de acero inoxidable del número 23. Las coordenadas estereotáxicas tomadas de Paxinos y Watson (2007) que se utilizaron en las ratas de la Sección I fueron para el EDL: AP = + 0.4 de bregma, ML = ± 3.6 y DV = -4.2. Mientras que para el EDM: AP = + 0.4 de bregma, ML = ± 2.6 y DV = -4.2. Por otra parte, para las ratas de la Sección II, las coordenadas que se usaron para el EAD fueron: AP = + 0.4 de bregma, ML = ± 3.2 y DV = -4.2.

A cada cánula se le colocó un tapón de 11 mm de largo, que se retiró para administrar los fármacos. Se les permitió a las ratas recuperarse durante una semana antes de ser sometidas a experimentación. Para asegurarse de que las cánulas se mantuvieran sujetas al cráneo, se colocaron dos tornillos, uno por lado y para su fijación se colocó un casco de cemento dental.

6.3 Manipulación

Las ratas se manipularon durante tres sesiones previas al comienzo de la habituación en el caso de la Sección I y antes del entrenamiento en el caso de la Sección II. Se realizó en el mismo horario en el que se desarrollaron las sesiones de entrenamiento y de prueba (09:00-15:00 h). La manipulación tuvo una duración de 3 a 5 min por rata, y consistió en sacar al animal de su caja, revisar los tapones de las cánulas y sujetarla suavemente para simular la administración de los tratamientos. En el último día de manipulación se colocó un inyector falso de una longitud de 12 mm tal como se emplearía en la microinyección.

Además, a las ratas que se utilizaron en la Sección I, en los días dos y tres de manipulación, al terminar la sesión, se les presentó en el bioterio, en sus jaulas de alojamiento, el reforzador que se utilizó durante el entrenamiento (10 pastillas de azúcar de 11 mg c/u, que se dejaron en las jaulas para que las ratas las consumieran).

6.4 Administración de tratamientos

Se realizaron microinyecciones bilaterales en las distintas regiones del estriado a través de un inyector de 12 mm de longitud, que se fabricó con tubos de agujas hipodérmicas de acero inoxidable de un calibre de 30, se conectaron a través de un tubo de polietileno de calibre PE-20 a una jeringa Hamilton de 10 µl acoplada a una bomba de infusión lenta (WPI modelo sp200i). La punta de inyector proyectaba 1 mm más de las puntas de las cánulas.

En la Sección I, a las ratas se les inyectaron los tratamientos inmediatamente después del último ensayo de los días 2, 3 y 4 (Figura 3). Recibieron un volumen de 0.5 μ l a una velocidad de 0.5 μ L/min por hemisferio.

En la Sección II (Figura 4), inmediatamente después del entrenamiento se hicieron las inyecciones, cuando se administraron dos tratamientos en el estriado, el volumen de cada uno fue de 0.5 μ l/hemisferio por min, o bien cuando se administró solo un tratamiento el volumen fue 1 μ l/hemisferio por min. Además, cuando se realizaron dos administraciones hubo una separación de 10 min entre la primera inyección y la segunda, lo que permitió la difusión de los tratamientos. En el Experimento 3, inmediatamente después del entrenamiento se realizaron las administraciones intraestriatales y enseguida se realizaron las administraciones sistémicas intraperitoneales.

Todos los fármacos se prepararon el mismo día de las inyecciones. La corticosterona (Sigma Aldirch®) que se administró en el estriado se disolvió primero en etanol absoluto y se prepararon las dosis de 10 y 30 ng en solución salina isotónica y etanol con una concentración final de 2%. Se preparó como solución vehículo solución salina isotónica (0.9%, PiSA®) y etanol (2%).

La corticosterona que se administró por vía sistémica se disolvió en etanol al 100% y la dosis de 3 mg/kg se llevó a 5% con solución salina isotónica (0.9%, PiSA®), la solución vehículo se preparó con solución salina isotónica (0.9%) y etanol en una concentración final del 5%.

Las dosis de 5 y 10 ng de corticosterona:BSA (CUSABIO®) se disolvió en solución salina isotónica (0.9%) y en etanol 0.5% y el vehículo se preparó con solución salina isotónica (0.9%), 0.5% de etanol y 0.1% de BSA.

El AM251 se disolvió primero en DMSO 100% y posteriormente se agregó a una solución salina isotónica (0.9%, PiSA®) y se llevó a una concentración final de 10% de DMSO. Se prepararon 0.28 ng de AM251 y la solución vehículo que utilizó fue DMSO (10%) y solución salina isotónica (90%).

Al terminar la administración intraestriatal, los inyectores permanecieron un minuto, esto para permitir a los tratamientos que difundieran.

6.5 Verificación histológica

Al finalizar las sesiones conductuales, las ratas se sacrificaron con una sobredosis del anestésico pentobarbital sódico (100 mg/kg). Se obtuvieron los cerebros por decapitación después de una perfusión sanguínea intracardíaca con solución salina (0.9%), se fijaron y mantuvieron con paraformadehído (4%). Se realizaron secciones coronales de 50 μ m en la región donde se encontraban los trazos de las cánulas. Se tiñeron los somas de las neuronas con la técnica de Nissl para verificar la ubicación de las puntas de las cánulas, que se observaron con un microscopio óptico por un observador ciego. Se ubicaron mediante el Atlas de Paxinos (2005) y se confirmaron aquellas ratas que tenían la implantación en la región lateral, medial o anterodorsal del estriado para ser incluidas en esta tesis (Figura 3.). Las ratas que no cumplieron con este requisito de la Sección I fueron quince en total, siete cuyas cánulas estaban dirigidas hacia el EDL y ocho hacia el EDM. Mientras que de la Sección II, siete ratas se descartaron del estudio ya que no se ubicaron en el EAD



Figura 3. Fotomicrografías representativas de la ubicación de las puntas de las cánulas en el EDL, EDM y el EAD.

Sección I

6.6 Aparato

El aparato que se utilizó fue un laberinto de Tolman que tiene cuatro brazos en forma de cruz, elaborado de madera, en color gris. Con una distancia del suelo a la base de 63 cm, con las paredes de los brazos de 16.5 cm de ancho, 22 cm de alto y 80 cm de longitud, con una longitud total de 174 cm. Se colocó en una habitación amortiguada al sonido y con iluminación moderada. Se instalaron cortinas negras desde el suelo hasta el techo alrededor del laberinto, sobre las cuales, en cada uno de los cuatro lados, se colocaron las siguientes claves visuales externas: un patrón de círculos concéntricos blancos en alternancia con círculos negros (35 cm de diámetro), un póster (90 x 120 cm), una figura verde con forma de estrella (20 cm de alto), y un triángulo cian sobre un rectángulo blanco (40 x 35 cm). La experimentadora se consideró una clave externa, por lo tanto, permaneció siempre en la misma posición durante la habituación, entrenamiento y pruebas.

6.7 Restricción alimenticia

Se implementó una reducción de alimento al 85% del peso de las ratas con alimentación *ad libitum*. Dicha restricción se llevó a cabo con el fin de que las ratas estuvieran más motivadas (hambrientas) para realizar la tarea que involucró el consumo de una pastilla de azúcar. Para esto se registró el peso durante la semana de recuperación de la cirugía y se promedió, a partir de ese promedio se calculó el peso al que los animales deberían llegar. Después de esta línea base, los animales se mantuvieron en ayuno durante un día y los días consecuentes se les alimentó con 4 g de pellets hasta que llegaran al peso calculado del 85%. Una vez que se obtuvo este peso, se mantuvieron así a lo largo del experimento; por cada dos gramos de peso que disminuyeron o aumentaron a las ratas se les aumentó o disminuyó 1 g de pellets. De acuerdo con reportes previos, hay un aumento de la corticosterona en el plasma, inherente a la restricción de alimento; por lo que el inicio de la reducción y la alimentación de a las ratas se llevó a cabo por la tarde, una hora antes de que se apagaran las luces del bioterio. Ya que con esta maniobra

se mantienen los niveles de corticosterona como los circadianos en ratas con alimento *ad libitum* (Gallo & Weinberg, 1981).

6.8 Habitación, entrenamiento y pruebas

El protocolo de habitación consistió en colocar a cada rata en el brazo de inicio (sur) y se le permitió explorar libremente durante cinco min hacia los brazos este, oeste y sur; el lado norte del laberinto permaneció bloqueado. Se registró la cantidad de veces que entraron los animales a los brazos y el lado de preferencia. Este procedimiento se realizó dos días consecutivos justo antes de comenzar el primer día de entrenamiento.

El entrenamiento de la tarea se muestra en la Figura 4 y consistió en dos fases: una limitada, que comprendió los días de entrenamiento 1 al 5 y que fue antes de la primera prueba; y una fase extensa que abarcó los días 7 al 13 y fue antes de la segunda prueba. Los ensayos con reforzador comenzaron el día 1. En cada ensayo las ratas se colocaron en el brazo de inicio, se les permitió que exploraran el laberinto y consumieran el reforzador (1 pastilla de azúcar inerte de 10 mg) al final de un brazo escogido (meta) opuesto al de preferencia. A cada rata se le dieron cuatro ensayos con reforzador por día, solo en los dos primeros ensayos del día 1 se les señaló con cuatro reforzadores hasta el final de la meta, los consecuentes ensayos solo contaron con el reforzador al final del brazo. Las entradas al brazo que no contenía el reforzador se contabilizaron como errores. El animal tenía 2 min para consumir el reforzador, si no lo hacía, el ensayo se daba por terminado. Al final de cada ensayo la rata se regresó a su caja alojamiento durante 45 s y el laberinto se limpió con una solución de ácido acético al 1%.

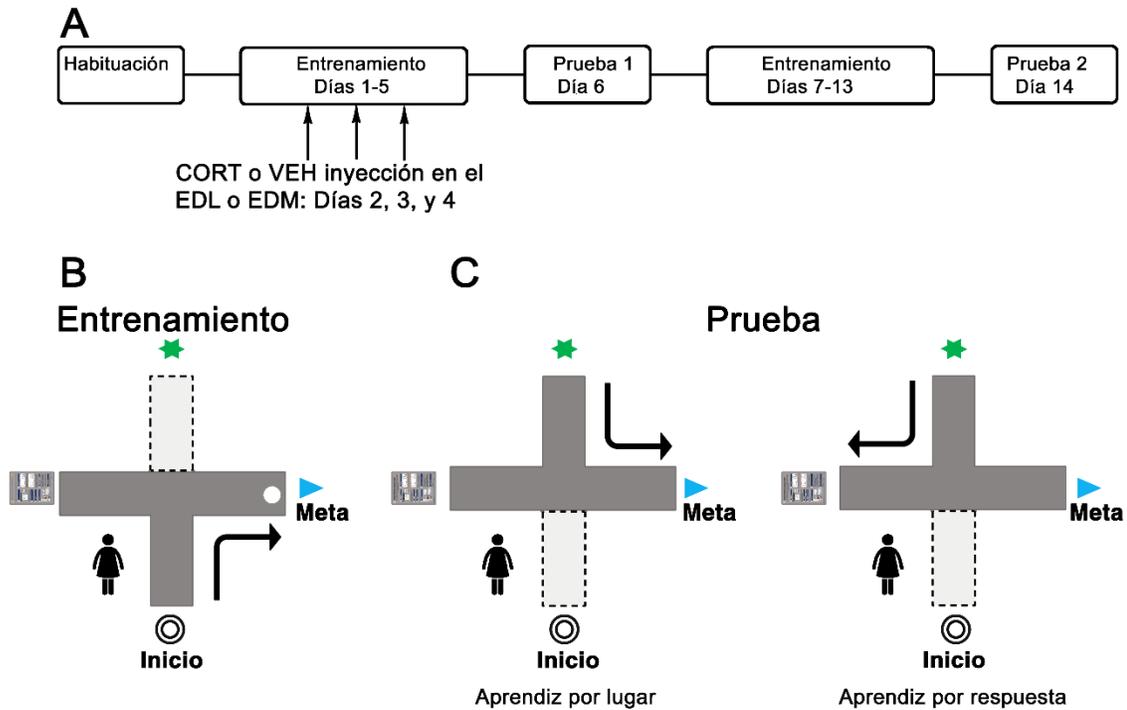


Figura 4. Representación esquemática del protocolo conductual. (A) Línea temporal que indica las sesiones de habituación, entrenamiento y pruebas; las flechas indican la administración de los tratamientos. (B) Las ratas se entrenaron a salir del brazo de inicio y tomar un reforzador en el brazo de meta de un laberinto de Tolman. (C) La prueba se realizó al colocar a las ratas en el brazo opuesto al de inicio durante el entrenamiento y se les permitió que entraran a uno de los brazos, en ausencia del reforzador, si la rata entraba en el brazo meta del entrenamiento, designó como aprendiz por lugar, si entraba en el brazo opuesto al de entrenamiento, se designó como aprendiz por respuesta.

Únicamente en los días 2, 3 y 4, las ratas recibieron la administración de vehículo o alguna de las dosis de corticosterona en el EDL o en el EDM inmediatamente después del cuarto ensayo del entrenamiento. El día 5 se hicieron los cuatro ensayos, pero no se inyectaron sustancias.

El día 6 se realizó una prueba de transferencia para determinar el tipo de memoria. Se colocaron las ratas en el brazo opuesto (norte) al que se usó durante el entrenamiento, mientras el brazo de inicio (sur) permaneció bloqueado, y se les permitió que entraran a los brazos este y oeste, pero esta vez no hubo reforzador. Las ratas que hicieron una entrada al brazo al que no fueron reforzadas durante el entrenamiento se contaron como aprendices por respuesta y aquellas que entraron al brazo donde fueron reforzadas en el entrenamiento, se designaron como aprendices por lugar.

En los días 7-13 se continuó con el entrenamiento, en la fase extensa. El entrenamiento se llevó a cabo de la misma manera que en la fase limitada, con cuatro ensayos con reforzador por día, con el brazo norte bloqueado. En el día 14 se realizó otra prueba de transferencia de la misma manera que la antes mencionada.

6.9 Diseño experimental

Se formaron dos grupos de ratas de acuerdo con la región del estriado en la que se colocaron las cánulas: EDL o EDM. Posteriormente, de cada grupo, se formaron tres subgrupos que recibieron de manera aleatoria uno de los tratamientos VEH (vehículo) o CORT (corticosterona) en las dosis de 10 o 30 ng/0.5 μ l. Las ratas siempre recibieron el mismo tratamiento en las tres administraciones mencionadas en la sección 6.4.

Adicionalmente, las ratas recibieron el reforzador en el brazo opuesto al de preferencia, determinado durante la habituación. Se trató de tener para un mismo grupo la mitad de ratas reforzadas hacia el brazo este y el resto hacia el oeste.

6.10 Análisis estadístico

Las latencias y los errores durante el entrenamiento se promediaron por día (SEM \pm SE) y se compararon mediante un análisis de varianza (ANOVA) de dos factores de medidas repetidas con una $p \leq 0.05$. El tratamiento fue el factor entre sujetos y los días de entrenamiento el factor que se tomó como medida repetida. Posteriormente, se sometieron a un análisis *post hoc* de Tukey para identificar la fuente de variación, también con una significancia de $p \leq 0.05$.

Los ensayos de prueba para determinar el tipo de memoria se llevaron a cabo con una prueba de Chi cuadrada (X^2) de una cola. Para cada caso se compararon las frecuencias observadas con las frecuencias esperadas (0.5 para la categoría de respuesta y 0.5 para la de lugar). Las comparaciones se hicieron tanto dentro de grupos como entre grupos. La significancia se estableció con una $p \leq 0.05$.

Los análisis se hicieron de manera independiente para cada variable correspondiente a los grupos del EDL y para los del el EDM. Se realizaron con los programas SigmaPlot 12.0 y GraphPad 5.0.

Sección II

6.11 Aparato

La cámara de evitación inhibitoria (Figura 5) se encuentra ubicada en un cuarto sonoamortiguado y oscuro, con dimensiones de 2.40 m de largo, 1.80 m de ancho y 2.50 m de alto, provisto de un enmascarador de ruido (San Diego Instruments, Inc.). El aparato consiste en una caja (60 cm de largo, 25 cm de profundidad y 25 cm de ancho) con dos compartimientos del mismo tamaño (30 x 30 cm cada uno) separados por una puerta deslizable, dicha cámara está construida de acrílico rojo transparente.

Un compartimiento llamado “de seguridad” está más iluminado que el otro (por luz incandescente de 10 W) y tiene una rejilla metálica en el piso con espacios de 16 mm. El otro compartimiento “de castigo” es obscuro y las paredes laterales son en forma de “V”, de acero inoxidable, las cuales llegan al piso del compartimiento (justo a la mitad del compartimiento) y tienen una distancia entre ellas de 15 mm (Figura 2). Estas láminas pueden ser electrificadas por un estimulador de corriente constante (Coulborne). La duración de la aplicación de los estímulos, las latencias de adquisición y de retención fueron medidas automáticamente con la ayuda de un cronómetro digital automático Schneider Electric S486.



Figura 5. Cámara de evitación inhibitoria.

6.12 Sesión de entrenamiento

Esta sesión se llevó a cabo durante el ciclo de iluminación (07:00-19:00 hrs), a partir de las 8:00 a.m. hasta las 3:00 p.m. para evitar variaciones por los ciclos de producción de hormonas glucocorticoides. La rata se colocó en el compartimiento seguro, con la vista opuesta a la portezuela, se cerró la cámara y se dejaron pasar 10 segundos, lo que permitía a la rata explorar el lugar, la puerta deslizante se abrió manualmente, para ceder el paso de la rata al compartimiento de castigo (Figura 5). Una vez que la rata posaba sus cuatro patas en la placa metálica del compartimiento, se procedió a administrar el choque eléctrico con una intensidad de 0.45 mA, duración de 1 seg, voltaje de 100 V y frecuencia de 10 pulsos por segundo. El tiempo en segundos transcurrido para que esto sucediera se registró como latencia de adquisición, además se observó y registró la conducta que presentaba el sujeto al recibir el estímulo.

Al terminar la sesión de cada individuo, la cámara se limpió con una solución de alcohol al 10% para eliminar desechos fecales, orina, pelos y otras sustancias que pudiesen alterar la respuesta del siguiente sujeto.

6.13 Sesión de prueba

A las 48 horas del entrenamiento, se realizó la prueba de retención. Se desarrolló de la misma manera que el entrenamiento: se colocó a la rata en el compartimiento seguro, 10 seg después se le permitió el paso al otro compartimiento, pero en esta sesión no se le administró el choque eléctrico (Figura 6). Se registró la latencia de retención, es decir los segundos que tardó en animal en pasar al otro lado, con un máximo de 600 seg, si después de ese tiempo no pasaba la rata, se daba por terminada la sesión.

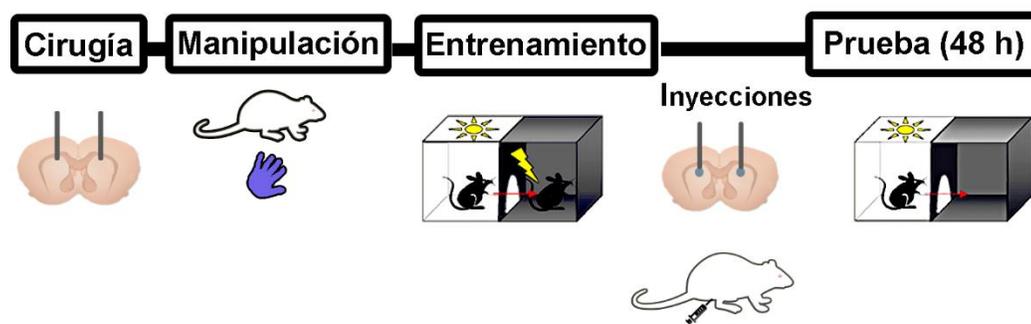


Figura 6. Representación esquemática del protocolo conductual. Se realizó un implante bilateral de cánulas en el estriado anterodorsal, se manipularon las ratas y se entrenaron en la tarea de evitación inhibitoria e inmediatamente después se realizaron las inyecciones en el estriado y 10 min después las inyecciones sistémicas (según el experimento) las 48 h del entrenamiento se realizó la prueba de retención.

6.14 Diseño experimental

Experimento 3. Se formaron cuatro grupos independientes de ratas que se entrenaron e inmediatamente después del entrenamiento recibieron por medio de microinyecciones en el EAD, una solución vehículo (VEH) o el antagonista de receptores a cannabinoides CB1 AM251 (0.28 ng/ μ l) e inmediatamente después por vía sistémica una solución vehículo (VEH) o CORT (3 mg/Kg). De tal manera que se formaron los grupos: VEH-VEH, VEH-CORT, AM251-CORT y AM251-CORT como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1

Grupos independientes de ratas que se formaron según la combinación de tratamientos utilizados en el Experimento 3

	VEH	AM251 (0.28 ng)
VEH	VEH-VEH (n=10)	AM251-VEH (13)
CORT 3 mg/kg	VEH-CORT (n=11)	AM251-CORT (11)

Experimento 4. Se formaron cuatro grupos independientes que recibieron inmediatamente después del entrenamiento la administración en el EAD de: 1) VEH,

2) 10 ng de CORT, 3) 30 ng de CORT yo 4) AM251 (0.28 ng) + CORT (10 ng), como se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2

Grupos independientes de ratas que se formaron según la combinación de tratamientos utilizados en el Experimento 4

CORT	AM251 (0.28 ng)
VEH (9)	
CORT 10 ng (11)	AM251-CORT 10 (9)
CORT 30 ng (11)	

Experimento 5. Se formaron cuatro grupos independientes de ratas que recibieron los tratamientos en el EAD inmediatamente después del entrenamiento de la siguiente manera: 1) VEH, 2) CORT:BSA 5 ng, 3) CORT:BSA 10 ng, o 4) AM251 (0.28 ng) + CORT:BSA 10 ng, como se muestra en la Tabla 3.

Tabla 3

Grupos independientes de ratas que se formaron según la combinación de tratamientos utilizados en el Experimento 5

CORT	AM251 (0.28 ng)
VEH (n = 9)	
CORT:BSA 5 ng (n = 10)	
CORT:BSA 10 ng (n =12)	AM251-CORT:BSA 10 (n = 10)

6.15 Análisis estadístico

Las variables dependientes que se analizaron fueron la latencia de adquisición y la latencia de retención. Ambas tuvieron un corte arbitrario; la latencia de adquisición a los 100 seg y la latencia de retención a los 600 seg razón por la que se utilizaron pruebas no paramétricas para hacer las comparaciones.

Para comparar múltiples grupos se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis y se determinó la significancia con una $p \leq 0.05$. Si las diferencias resultaban significativas, se procedió a aplicar una comparación entre pares mediante la prueba U de Mann-Whitney con una $p \leq 0.05$. Se utilizaron los paquetes estadísticos GraphPad 5.0 y Sigma Plot 12.0.

7. RESULTADOS

Sección I

7.1 La corticosterona en el EDL favorece la memoria de procedimiento desde etapas tempranas del entrenamiento

Se realizó el entrenamiento de las ratas para tomar un reforzador del mismo brazo del laberinto de Tolman (Figura 4). Recibieron corticosterona (10 o 30 ng) o solución vehículo en el EDL después del último ensayo de los días 2, 3 y 4 de la fase inicial del entrenamiento (Figura 4).

A lo largo del entrenamiento se registró el promedio de las latencias (Figura 7 A), que se analizaron con un ANOVA de dos factores de medidas repetidas. No se encontraron diferencias en el tratamiento ($F_{(2, 825)} = 1.13, p = 0.33$). Sí se encontraron diferencias en los días de entrenamiento ($F_{(11, 825)} = 73.90, p < 0.001$). La comparación *post hoc* con la prueba Tukey indicó que las latencias del Día 1 fueron significativamente mayores que las latencias de los días subsecuentes de entrenamiento ($p < 0.001$).

El promedio de los errores que se registraron a lo largo del entrenamiento (Figura 7 B) se analizó mediante un ANOVA de dos factores de medidas repetidas. No se identificaron diferencias significativas en el factor tratamiento ($F_{(2, 825)} = 1.5, p = 0.23$). Los días de entrenamiento sí fueron diferentes ($F_{(11, 825)} = 33.43, p < 0.001$) y mediante la prueba *post hoc* Tukey se encontró que los errores del Día 1 de entrenamiento fueron significativamente mayores al resto de los días de entrenamiento ($p < 0.001$). En conjunto estos hallazgos indican que los tratamientos no causaron efectos sobre el desempeño de las ratas en la tarea y que a través de las sesiones de entrenamiento se pudo observar una mejor resolución de la tarea.

El tipo de memoria que las ratas usaron se evaluó con un ensayo de prueba después de la fase de entrenamiento limitado (5 días) y después de la fase de entrenamiento extendido (12 días). El uso relativo de la estrategia de respuesta o de la estrategia de lugar se comparó mediante una prueba de X^2 para determinar si las ratas usaban preferencialmente una estrategia de memoria sobre otra. En la

Prueba 1 (Tabla 4, Figura 7 C), que se realizó el Día 6, el grupo de ratas que recibió la solución VEH durante el entrenamiento, demostró ser aprendiz por lugar ($X^2 = 5.44, p < 0.001$). A diferencia del grupo de ratas que recibió la administración de 10 ng de CORT, que demostró ser aprendiz por respuesta ($X^2 = 4.06, p < 0.05$). El grupo de ratas que recibió la dosis de 30 ng de CORT no mostró una estrategia clara de aprendizaje por respuesta o por lugar ($X^2 = 1.26, p = 0.13$).

Adicionalmente, el desempeño de las ratas en el ensayo de prueba del Día 6, se comparó entre grupos y se encontró que las ratas que recibieron CORT de 10 ng y que mostraron una estrategia de respuesta fueron diferentes significativamente ($X^2 = 17.33, p \leq 0.001$) del grupo de ratas que recibió VEH y que fue aprendiz por lugar. El grupo que recibió 30 ng de CORT y que no mostró una estrategia clara no fue diferente ($X^2 = 1.56, p = 0.11$) del grupo que recibió VEH y que fue aprendiz por lugar.

Después de la fase extensa de entrenamiento, se llevó a cabo la Prueba 2 en el Día 14 y se evaluó el tipo de estrategia que las ratas utilizaron (Tabla 4, Figura 7 D). El grupo que recibió la solución VEH fue aprendiz por respuesta ($X^2 = 4.06, p < 0.05$). En conjunto con los resultados de la Prueba 1, en la que las ratas fueron aprendices por lugar, este hecho sugiere que conforme las ratas son entrenadas continuamente, hacen un cambio de la estrategia de lugar a la de respuesta, lo cual sugiere una transición hacia la memoria de procedimiento. Asimismo, fueron aprendices por respuesta las ratas que recibieron CORT 10 ng ($X^2 = 4.06, p < 0.05$); las ratas que recibieron CORT 30 ng no presentaron una estrategia clara de aprendizaje ($X^2 = 1.99, p = 0.08$).

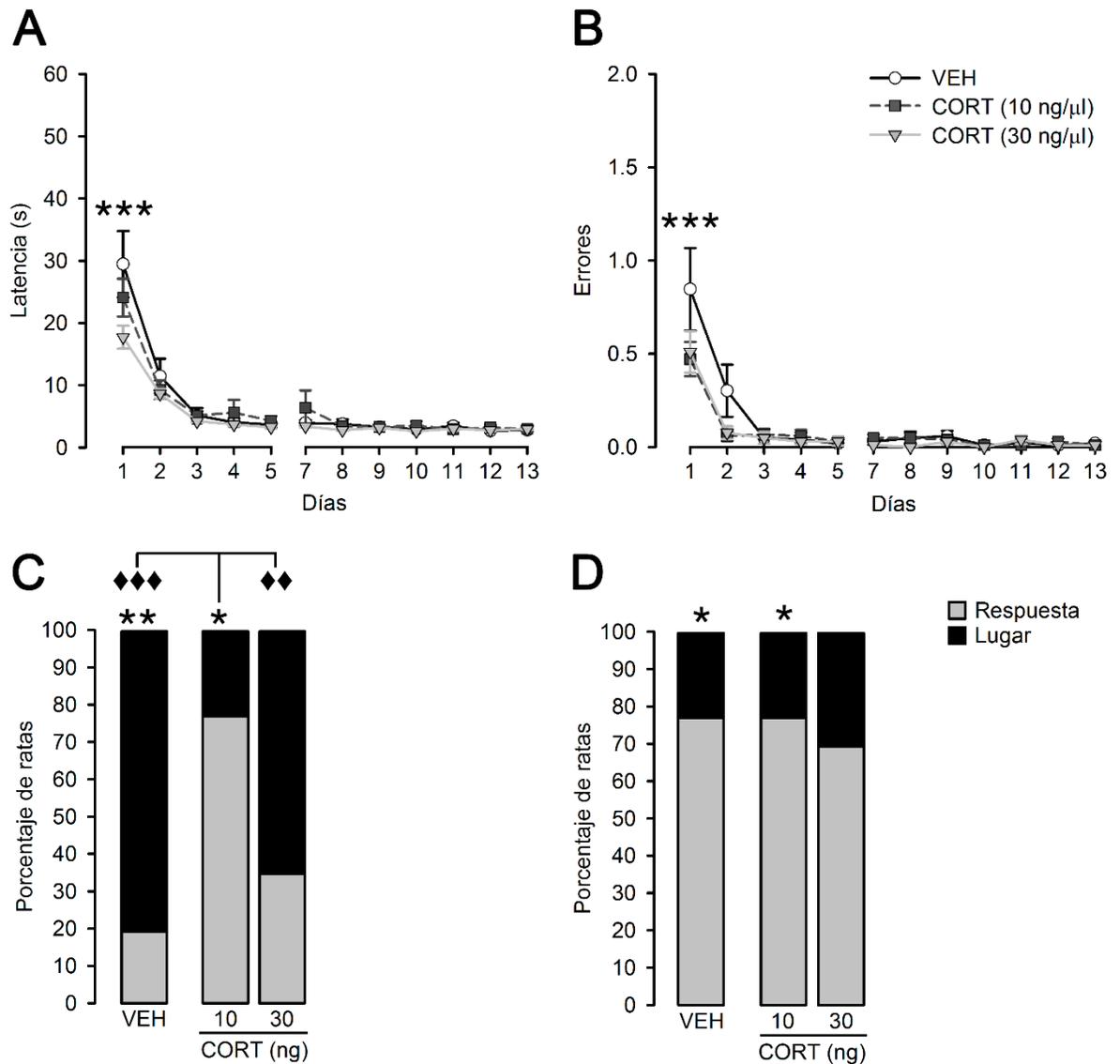


Figura 7. Efecto de la administración de corticosterona (CORT) en el estriado dorsolateral (EDL). (A) Se muestra el promedio \pm SE de las latencias en segundos a lo largo de los días de entrenamiento, *** indica que las latencias del Día 1 fueron mayores que el resto de los días de entrenamiento con una $p < 0.001$. (B) Se muestra el promedio \pm SE de los errores a lo largo del entrenamiento, *** indica que los errores del Día 1 fueron mayores que el resto de los días de entrenamiento con una $p < 0.001$. (C) Porcentaje de ratas que fueron aprendices por respuesta o aprendices por lugar en la Prueba 1, el Día 6. (D) Porcentaje de ratas que fueron aprendices por respuesta o por lugar en la Prueba 2, el Día 14. Los asteriscos indican diferencias de las comparaciones entre los grupos, * $p < 0.05$ y ** $p < 0.01$. Los rombos indican las diferencias dentro de los grupos \blacklozenge $p < 0.0$ y $\blacklozenge\blacklozenge$ $p < 0.001$.

Tabla 4

Número de ratas que fueron aprendices por lugar o aprendices por respuesta en la Prueba 1 realizada en el Día 6 y en la Prueba 2 evaluada en el Día 14 y que recibieron los tratamientos en el EDL

<i>Tratamiento</i>	Prueba 1 Día 6		Prueba 2 Día 14		Total (n)
	Respuesta	Lugar	Respuesta	Lugar	
VEH	5	21	20	6	26
CORT 10	20	6	20	6	26
CORT 30	9	17	18	8	26

7.2 La administración de corticosterona en el EDM durante fases tempranas no cambia el uso de una estrategia espacial o de procedimiento

En este experimento se sometió a prueba el efecto de la administración de CORT en el EDM en la fase limitada de entrenamiento sobre el uso relativo de una estrategia de respuesta o de lugar. De manera comparable a los resultados observados en el experimento anterior, los grupos de ratas mejoraron su desempeño de aprendizaje a través de las sesiones de entrenamiento (Figura 8 A y B). El ANOVA de dos factores de medidas repetidas que se aplicó al promedio de las latencias no identificó diferencias significativas debido a los tratamientos ($F_{(2,825)} = 1.13, p = 0.33$), pero sí hubo diferencias en la medida repetida del día de entrenamiento ($F_{(11, 825)} = 73.90, p < 0.001$). El análisis *post hoc* de Tukey indicó que las latencias del Día 1 de entrenamiento fueron considerablemente mayores que los subsecuentes días de entrenamiento ($p < 0.001$). El ANOVA de dos factores de medidas repetidas del promedio de los errores registrados durante el entrenamiento indicó que los tratamientos no causaron diferencias en el desempeño de la tarea ($F_{(2, 825)} = 0.72, p = 0.49$); mientras que el factor día de entrenamiento sí

presentó diferencias ($F_{(11, 825)} = 21.87, p < 0.001$). Estos resultados sugieren, que el desempeño de las ratas para resolver las tareas mejora conforme avanzan las sesiones de entrenamiento, de manera similar a los grupos de ratas del EDL y que es un proceso que no se modifica por la presencia de los tratamientos administrados.

Se determinó el uso relativo de la estrategia de respuesta o de lugar de las ratas que recibieron los tratamientos en el EDM, en los días 2, 3 y 4 de la fase limitada del entrenamiento, durante la Prueba 1 que se realizó el Día 6 (Tabla 5, Figura 8 C). El grupo de ratas al que se le administró la solución VEH fue preferencialmente aprendiz por lugar ($X^2 = 7.08, p < 0.01$). Asimismo, usaron fundamentalmente la estrategia de lugar, las ratas que recibieron CORT 10 ($X^2 = 4.06, p < 0.05$) o CORT 30 ($X^2 = 2.93, p < 0.05$). Las comparaciones entre grupos no mostraron diferencias significativas ($p > 0.05$) en el uso de las estrategias de respuesta o de lugar. En conjunto estos hallazgos sugieren que en la región del EDM, a diferencia del EDL, no se induce una preferencia significativa o se acelera la aparición de la estrategia de respuesta.

Después de la fase extensa del entrenamiento, se evaluó nuevamente el tipo de estrategia que las ratas usaron en la Prueba 2 el Día 14 (Tabla 5, Figura 8D). El grupo control, que recibió la solución VEH, usó preferencialmente la estrategia de respuesta sobre la de lugar ($X^2 = 5.44, p < 0.01$). De manera similar, mostraron un uso preferencial de la estrategia de respuesta los grupos que recibieron CORT 10 ng ($X^2 = 2.93, p < 0.05$) o CORT 30 ng ($X^2 = 2.93, p < 0.05$). Las comparaciones entre grupos no mostraron diferencias estadísticamente significativas en el uso relativo de las estrategias de respuesta o de lugar. Estos hallazgos, por lo tanto, indican que todos los grupos, a después de recibir sesiones de entrenamiento extensas, hacen un cambio hacia el uso de la estrategia de respuesta y que es independiente del tratamiento que hayan recibido en la etapa temprana de entrenamiento.

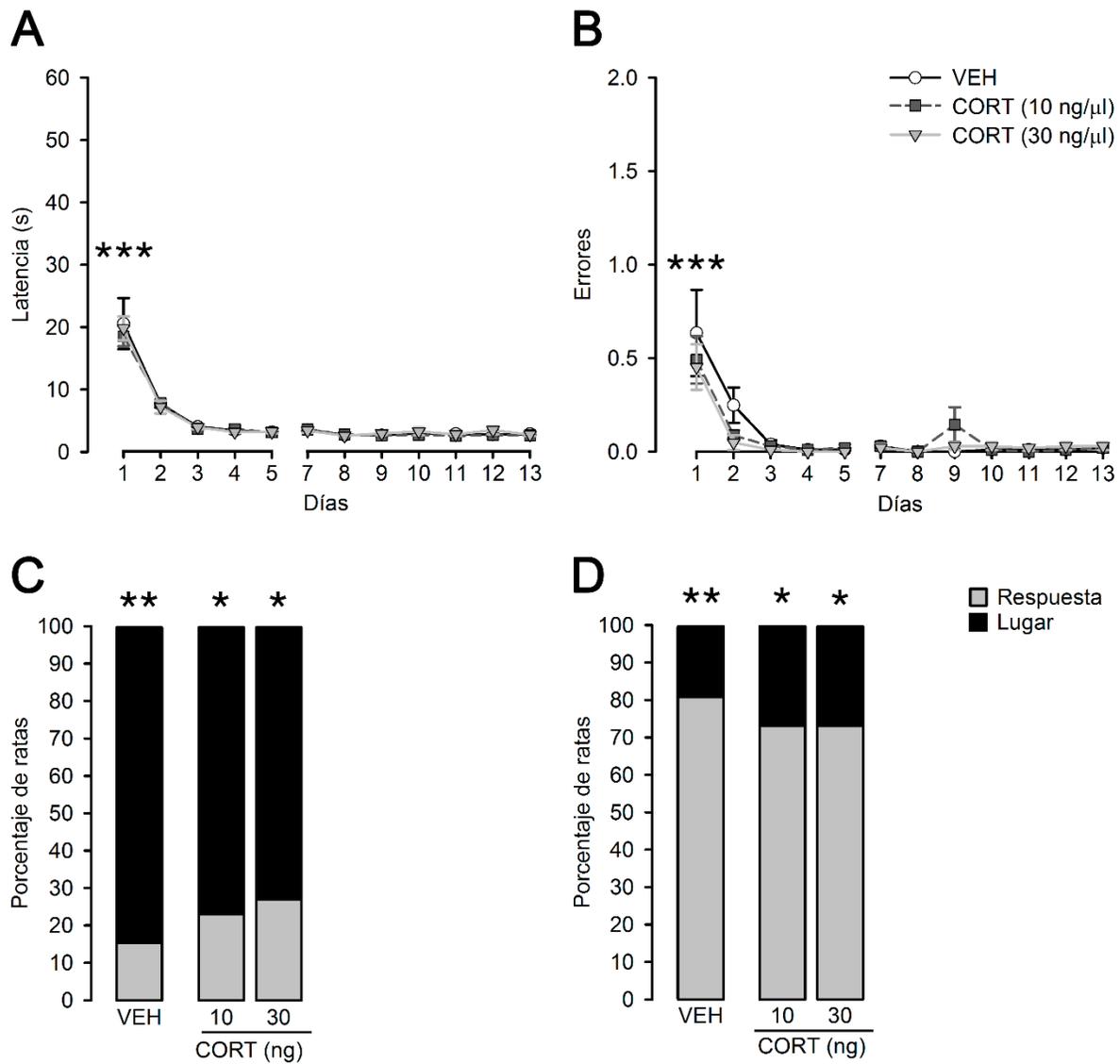


Figura 8. Efecto de la administración de corticosterona (CORT) en el estriado dorsolateral (EDM). (A) Se muestra el promedio \pm SE de las latencias (s) a lo largo de los días de entrenamiento, *** indica que las latencias del Día 1 fueron mayores que el resto de los días de entrenamiento con una $p < 0.001$. (B) Promedios \pm SE de los errores a lo largo del entrenamiento, *** indica que los errores del Día 1 fueron mayores que el resto de los días de entrenamiento con una $p < 0.001$. (C) Porcentaje de ratas que fueron aprendices por respuesta o por lugar en la Prueba 1, el Día 6. (D) Porcentaje de ratas que fueron aprendices por respuesta o por lugar en la Prueba 2, el Día 14. Los asteriscos indican diferencias de las comparaciones entre los grupos, * $p < 0.05$ y ** $p < 0.01$.

Tabla 5

Número de ratas que fueron aprendices por lugar o aprendices por respuesta en la Prueba 1 realizada en el Día 6 y en la Prueba 2 evaluada en el Día 14 y que recibieron los tratamientos VEH (vehículo) o CORT (corticosterona) en las dosis de 10 o 30 ng, en el EDM

Tratamiento	Prueba 1 Día 6		Prueba 2 Día 14		Total (n)
	Respuesta	Lugar	Respuesta	Lugar	
VEH	4	22	21	5	26
CORT 10	6	20	19	7	26
CORT 30	7	19	19	7	26

Sección II

7.3 La facilitación de la memoria por la administración sistémica de corticosterona requiere de la actividad de los CB1Rs del estriado

En el Experimento 3, las ratas se entrenaron en la tarea de evitación inhibitoria con un choque de 0.45 mA e inmediatamente después del entrenamiento recibieron una inyección en el EAD del antagonista de receptores CB1 AM251 (0.28 ng/μl) l seguida por la inyección sistémica de CORT (3 mg/kg; 2.88 nM) que simula una liberación fisiológica ante un estresor y potencialmente la hormona se puede unir a los GR distribuidos en todo el cerebro, para evaluar la participación de la estructura a través de estos receptores en una aproximación de cooperación en las señales periféricas con las centrales. A las cuarenta y ocho horas del entrenamiento se hizo una prueba de retención para evaluar el efecto de los tratamientos sobre la memoria.

El análisis con la prueba de Kruskal-Wallis de las latencias de adquisición (Figura 9 A) que se registraron durante el entrenamiento antes de que las ratas recibieran el choque y los tratamientos reveló que no hubo efectos significativos en las comparaciones de los grupos ($H = 1.15, p > 0.05$), con lo cual se infiere que las ratas tuvieron una misma capacidad motriz y motivacional para cruzar del compartimiento de seguridad al de castigo donde recibirían el choque y partieron de una misma condición basal incluso si se toma en consideración el implante bilateral de las cánulas.

Las latencias de retención (Figura 9 B) que se analizaron con la prueba de Kruskal-Wallis ($H = 25.57, p < 0.001$) mostraron diferencias significativas debido a los tratamientos. El análisis *post hoc* de la comparación de pares de grupos determinó que el grupo de ratas que recibió el VEH del AM251 en el estriado y CORT sistémica (VEH-CORT), tuvo latencias de retención significativamente mayores que el grupo que recibió el VEH de ambos fármacos (VEH-VEH; $U = 0.00, p < 0.001$) lo cual indica un efecto de facilitación de la memoria, a su vez el grupo VEH-CORT presentó latencias de retención significativamente mayores que los grupos que recibieron AM251-VEH ($U = 0.00, p < 0.001$) y AM251-CORT ($U = 0.00, p < 0.00$); en conjunto estos resultados indican que la facilitación de la memoria inducida por la CORT sistémica se impide al bloquear a los receptores CB1 del estriado y sugieren que es necesaria la disponibilidad de los CB1Rs del estriado para que los glucocorticoides modulen la consolidación de una experiencia aversiva incluso cuando los CB1Rs de otras estructuras cerebrales que participan en la consolidación de la memoria fueron potencialmente reclutados por los glucocorticoides.

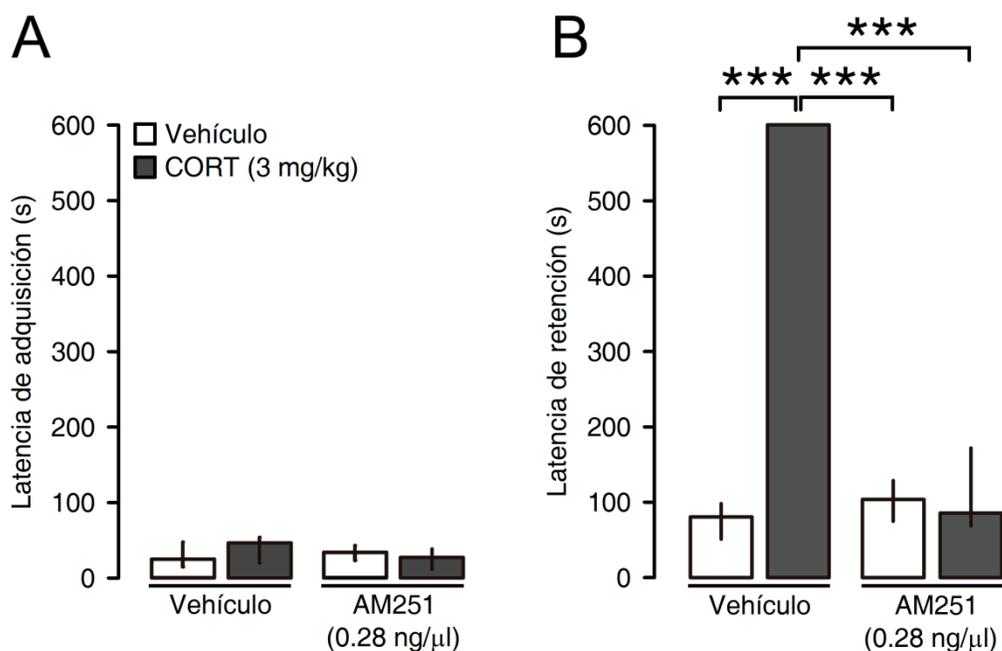


Figura 9. Efecto de la administración del antagonista de receptores CB1 AM251 (0.28 ng/μl) en el EAD y de corticosterona (CORT) sistémica (3 mg/kg, i.p.) inmediatamente después del entrenamiento en la tarea de evitación inhibitoria. (A) Mediana en segundos (s) de las latencias de adquisición. (B) Mediana en segundos (s) de la latencia de retención registrada 48 horas después del entrenamiento en la tarea de evitación inhibitoria. Los *** indican diferencias significativas, $p < 0.001$.

7.4 La administración de corticosterona directamente en el EAD facilita la memoria pero requiere de la coparticipación de los CB1Rs estriatales

En el Experimento 4 se entrenaron grupos independientes de ratas en la tarea de evitación inhibitoria (0.45 mA durante 1 segundo) e inmediatamente después del entrenamiento recibieron microinyecciones de CORT (10 o 30 ng/μl) en el EAD para 1) replicar los resultados de Medina et al., (2007) en los que se observó una facilitación de la memoria cuando se administró CORT en el estriado dorsal después del entrenamiento de la tarea de evitación inhibitoria y 2) evaluar si la administración exógena de glucocorticoides en el EAD que facilitan la memoria tienen un rol determinante en el reclutamiento intraestructural de los CB1Rs estriatales sobre la

consolidación de la memoria. Los efectos de los tratamientos sobre la memoria se registraron 48 horas después del entrenamiento en una prueba de retención.

Las latencias de adquisición (Figura 10 A) de los diferentes grupos no resultaron significativamente diferentes al analizarlas con la prueba de Kruskal-Wallis ($H = 2.64$, $p > 0.05$), hecho del que se infiere que las ratas presentaron las mismas condiciones motivacionales y motrices para realizar la tarea y antes de recibir los tratamientos.

La prueba de Kruskal-Wallis que se aplicó a las latencias de retención (Figura 10 B) determinó que los tratamientos produjeron diferencias significativas en los valores registrados ($H = 18.62$, $p < 0.001$) y el análisis *post hoc* mediante la comparación de grupos con la prueba U de Mann-Whitney identificó que el grupo de ratas que recibió 10 ng de CORT en el estriado tuvo latencias de retención significativamente mayores que el grupo de ratas que recibió el VEH ($U = 8.00$, $p < 0.001$) y que el grupo que recibió la dosis de 30 ng de CORT ($p < 0.001$), además las latencias de retención de este grupo fueron significativamente mayores que las del grupo que recibió la administración del antagonista de CB1Rs AM251 (0.28 ng) y posteriormente 10 ng de CORT en el estriado. Estos hallazgos corroboran los experimentos previos de Medina et al. (2007) en los que 10 ng de CORT facilitan la memoria y añaden evidencias de que en el estriado sucede esta intercomunicación de los glucocorticoides y endocannabinoides ya que si se bloquean los CB1R deja de ocurrir la facilitación de la memoria.

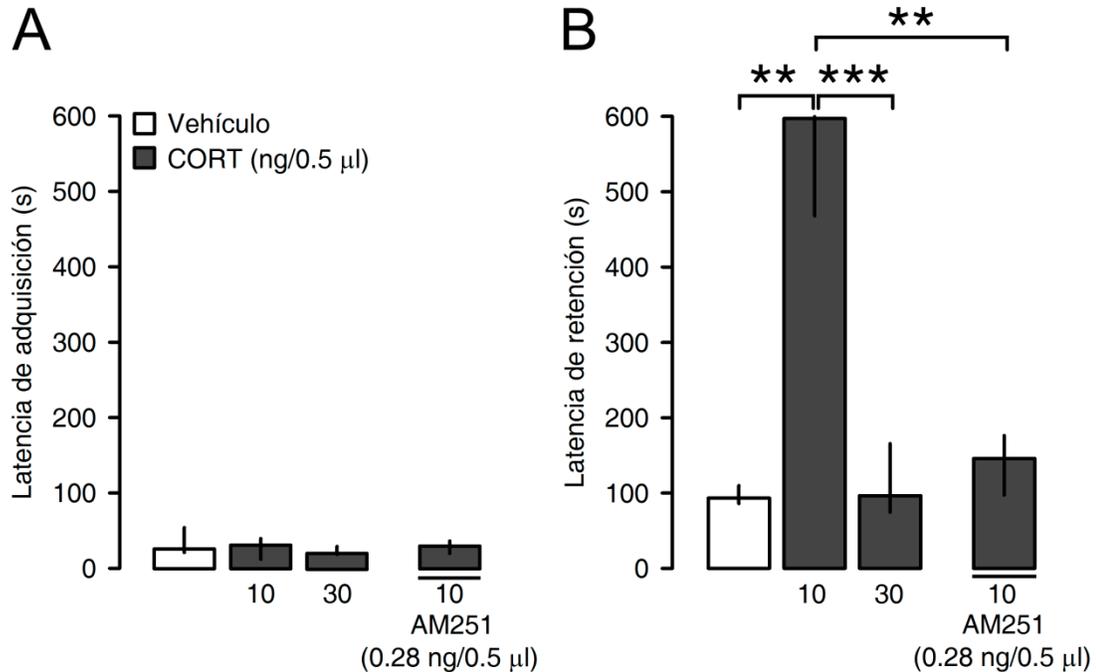


Figura 10. Efecto de la administración de 10 o 30 ng/0.5 μl de corticosterona (CORT) y del antagonista de receptores CB1 AM251 (0.28 ng/0.5 μl) en conjunto con 10 ng de CORT (0.5 μl) en el estriado después del entrenamiento en la tarea de evitación inhibitoria. (A) Mediana en segundos (s) de las latencias de adquisición. (B) Mediana en segundos (s) de la latencia de retención registrada 48 horas después del entrenamiento en la tarea de evitación inhibitoria, *** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$

7.5 La administración de corticosterona:BSA en el EAD facilita la memoria a través la vía rápida membranal y recluta a los CB1Rs estriatales río abajo

En el Experimento 5 se entrenaron grupos independientes de ratas en la tarea de evitación inhibitoria (0.45 mA durante 1 segundo), inmediatamente después del entrenamiento se realizaron microinyecciones en el EAD de corticosterona:BSA (CORT:BSA). Generalmente, se propone que esta conjugación impide la entrada de la hormona al espacio intracelular y se une a receptores localizados en la superficie membranal, por lo tanto permitiría aislar los efectos producidos por las acciones de la actividad de la vía lenta nuclear de la rápida membranal y de esta manera determinar si en el estriado este tipo de acciones son las responsables en mayor proporción de la facilitación de la memoria. Sin embargo, no se tiene la certeza en este estudio, de la cantidad de corticosterona que no está asociada a la proteína BSA y que podría penetrar al interior de la célula y unirse a los receptores que se

encuentran en el citoplasma como se ha observado que penetra al interior de la célula en tejidos como el hígado (Nishimura & Nakano, 2000).

En segundo lugar, se averiguó en este Experimento si la actividad de los CB1Rs del estriado es determinante en los mecanismos membranales de acciones rápidas de los glucocorticoides que conllevan a la facilitación de la memoria.

Las latencias de adquisición (Figura 11 A) de los grupos de ratas antes de que recibieran el choque eléctrico y los tratamientos no fueron diferentes estadísticamente después del análisis que se aplicó mediante la prueba de Kruskal-Wallis ($H = 3.4$, $p = 0.33$) resultado que indica que todas las ratas tuvieron condiciones similares de motivación y habilidad motriz en el desempeño de la tarea.

El análisis de las latencias de retención (Figura 11 B) mediante la prueba de Kruskal-Wallis determinó que las comparaciones de los grupos de tratamientos fueron diferentes significativamente ($H = 12.53$, $p = 0.002$). El análisis *post hoc* de pares de grupos con la prueba U de Mann-Whitney determinó que el grupo de ratas que recibió la dosis de 5 ng de CORT:BSA tuvo latencias de retención significativamente mayores que el grupo de ratas que recibió el vehículo ($U = 20$, $p < 0.045$); el grupo de ratas que recibió 10 ng de CORT:BSA tuvo latencias de retención significativamente mayores que el grupo vehículo ($U = 10$, $p = 0.001$) y que el grupo que recibió 5 ng de CORT:BSA ($U = 29$, $p = 0.04$). Se utilizó la dosis de CORT:BSA que presento una mayor facilitación de la memoria (10 ng) en conjunto con la previa administración del antagonista de CB1R AM251 (0.28 ng) y se observó mediante un análisis de U de Mann-Whitney que las latencias de retención disminuyeron significativamente ($U = 19.0$, $p = 0.006$) en presencia del antagonista en comparación a cuando el CB1R está ocupado por sus ligandos naturales (CORT-VEH). Conjuntamente estos hallazgos indican que la modulación de la memoria de los glucocorticoides en el estriado es a través de la actividad membranal rápida y que esta actividad requiere de la disponibilidad y de la funcionalidad del CB1R río abajo.

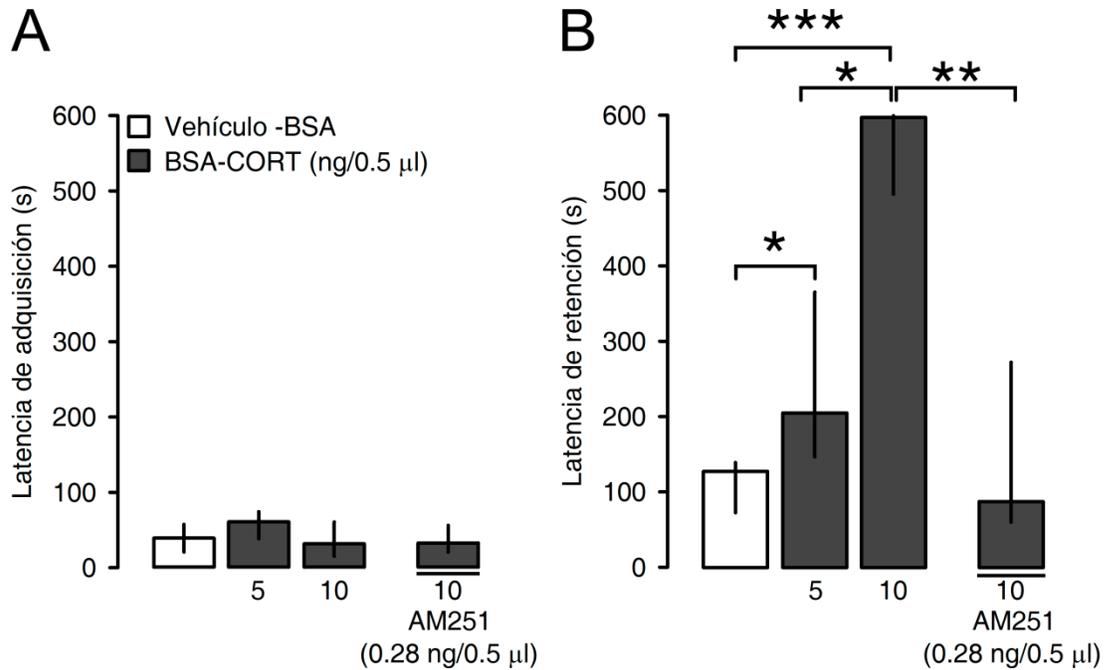


Figura 11. Efecto de la administración de 5 o 10 ng/0.5 μl de corticosterona conjugada con la proteína impermeable a la membrana celular BSA (CORT:BSA) y del antagonista de receptores CB1 AM251 (0.28 ng/0.5 μl) en conjunto con 10 ng de CORT:BSA (0.5 μl) en el estriado después del entrenamiento en la tarea de evitación inhibitoria. (A) Mediana en segundos (s) de las latencias de adquisición. (B) Mediana en segundos (s) de la latencia de retención registrada 48 horas después del entrenamiento en la tarea de evitación inhibitoria, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

8. DISCUSIÓN

Una de las preguntas de investigación de este estudio fue si existe una respuesta funcionalmente diferencial en las regiones del estriado dorsal lateral (EDL) y el dorsal medial (EDM) en el uso relativo de la memoria espacial o la memoria de procedimiento ante la administración de la hormona de respuesta al estrés corticosterona durante las primeras fases del entrenamiento de una tarea de solución dual como el laberinto de Tolman. Los hallazgos indicaron que ciertamente, la administración de corticosterona facilita selectivamente y de manera dosis-dependiente en el EDL (Figura 7) y no en el EDM (Figura 8) la consolidación de una memoria de procedimiento con un reforzamiento positivo, y la consecuente expresión de una estrategia que dirige la conducta.

Los glucocorticoides tienen una respuesta característica en forma de U-invertida con respecto a la calidad de la memoria, es decir, en dosis bajas el efecto es nulo, en dosis moderadas el efecto es de facilitación y en dosis altas la memoria se deteriora. En este estudio se observó que la dosis baja de 10 ng facilitó la memoria de procedimiento, mientras que la dosis de 30 ng no causó efectos en el EDL. Estos efectos concuerdan con lo que se ha reportado previamente en estudios de diversos paradigmas de memoria (Medina et al., 2007; Quirarte et al., 2009; Sanchez-Resendis et al., 2012). Sin embargo, no se observó ningún efecto en los sujetos que recibieron corticosterona en el EDM en comparación con las ratas que recibieron la solución vehículo. Los efectos que se observaron en este estudio fueron solamente sobre la memoria y no durante la adquisición de la tarea, estos resultados se han observado también por ejemplo en un estudio realizado por Packard (1999), en el que las administraciones de glutamato en el estriado o en el hipocampo no cambian la tasa de adquisición de la tarea del laberinto de Tolman y solo influyen sobre el uso de la memoria de procedimiento o la memoria espacial.

En la orientación topográfica, que es la habilidad de orientarse y navegar en ambientes de gran escala, la información espacial (lugares) allocéntrica se puede transformar en información de rutas (respuestas o procedimientos) egocéntrica. Un procedimiento se forma progresiva y lentamente bajo un continuo refinamiento en

la conducta en constante retroalimentación con los circuitos neuronales y en los cambios estructurales subyacentes. Se recluta una red extensa, que involucra la actividad del hipocampo que proporciona los componentes espacio-temporales y contextuales del ambiente en niveles micro y macrogeométricos a través de la actividad neuronal de las células de lugar, de dirección de la cabeza, “grid cells”, de velocidad y movimiento, que se integran tanto en el hipocampo dorsal como en hipocampo ventral (Bos et al., 2017). Se extiende esta red hacia las áreas prelímbicas de la corteza prefrontal y el EDM que permite la formación de conductas flexibles orientadas hacia metas. Con la repetición de la misma actividad de navegación, se convierte en una conducta más inflexible y estereotipada que utiliza más recursos de los circuitos ahora encabezados por la actividad del EDL y de la corteza motora (Eichenbaum & Cohen, 2004; Packard & Knowlton, 2002; Packard & McGaugh, 1996). Un correlato funcional es el que se reporta en los hallazgos del estudio de Yin et al. (2009) en el que se entrenaron ratas a resolver un laberinto en T (similar al de este estudio) y registraron la actividad neuronal del EDM y del EDL, la actividad asociada con las primeras sesiones de entrenamiento en las que se forman estrategias de navegación espaciales se observa en el EDL, conforme se adquieren las estrategias de navegación de procedimiento la actividad se presenta en el EDL.

En este estudio se investigó cómo la administración de corticosterona en el EDL o en el EDM altera el orden de aparición de la memoria espacial a la memoria de procedimiento dependiente del entrenamiento. Hay un conjunto de evidencias amplio y consistente de que los glucocorticoides modulan las experiencias de aprendizaje de múltiples sistemas de memoria como en la amígdala, el hipocampo o regiones corticales (Kim, Pellman, & Kim, 2015; Kim, Song, & Kosten, 2006; Roozendaal et al., 2009); ya sea que se liberen por la misma experiencia o por la administración exógena (McGaugh & Roozendaal, 2002; Roozendaal & McGaugh, 2011). No hay, en cambio, el mismo cuerpo de evidencias de estudio en el sistema de memoria del estriado dorsal. Los estudios a nivel celular sugieren que el estriado dorsal es sensible a los efectos del estrés y de los glucocorticoides tanto como podría ser el hipocampo. Experimentos de hibridación *in situ* reportan que se

identifica una densidad moderada de receptores GR y de unión a corticosterona (H^3) en el estriado dorsal (Defiore & Turner, 1983), así como otros experimentos mostraron que hay una distribución homogénea del GR en el estriado dorsal independientemente de la región lateral o medial (Morimoto et al., 1996). Además, otro estudio aportó evidencias que demuestran que una vez que se une el ligando al receptor, la translocación al núcleo ocurre con la misma efectividad en el estriado y en el hipocampo tanto en la actividad como en la funcionalidad (Yongue & Roy, 1987). Notablemente, otro estudio, aportó evidencias fisiológicas de la presencia de corticosterona en el cerebro que se libera tras la exposición a un estresor como el nado forzado, no solo se detecta un incremento en el estriado dorsal sino que los niveles de corticosterona son significativamente mayores a los del hipocampo (Droste et al., 2008).

Los efectos de la administración de glucocorticoides sobre los procesos cognitivos asociados con el estriado son de gran interés para nuestro grupo de investigación. El primer estudio que sentó las bases de esta línea de investigación demostró que el estriado dorsal es susceptible de ser modulado por los glucocorticoides específicamente durante la consolidación de la memoria fue el de Medina et al. (2007), en este trabajo se entrenaron ratas en la tarea de evitación inhibitoria y después del entrenamiento se administró corticosterona en el estriado dorsal: Se encontró que hay una facilitación de la memoria en U-invertida y es tiempo-dependiente (los efectos de facilitación se observaron solamente desde 1 min hasta máximo 30 min), además este efecto de facilitación es específico de los GR ya que la administración conjunta de la corticosterona con el antagonista RU 38486 impidió la facilitación producto de la administración de corticosterona.

En este sentido, otros estudios también demostraron que la memoria de procedimiento o espacial motivada por estímulos aversivos como el laberinto acuático de Morris, también son susceptibles a la modulación de los glucocorticoides. Quirarte et al. (2009) entrenaron a grupos independientes de ratas en dos versiones del laberinto acuático de Morris para identificar si las administraciones de glucocorticoides en el estriado dorsal tendían a favorecer la

formación de un tipo de memoria sobre otro. En este estudio, se encontró que las ratas que se entrenaron en la versión de clave (memoria de procedimiento) y recibieron una dosis moderada de corticosterona, tuvieron un mejor desempeño cuando se realizó la prueba de retención; en cambio, no se observó ningún efecto sobre la retención de la prueba de las ratas que recibieron corticosterona después del entrenamiento en la versión espacial del laberinto.

En un estudio posterior, en busca de una sub-regionalización del estriado dorsal en la porción medial y lateral, con interés en la posible competencia por la consolidación de la memoria espacial o la de procedimiento ante la administración de corticosterona en el EDM, Lozano et al. (2013) entrenaron a grupos independientes de ratas en el laberinto acuático de Morris en la versión espacial y en la versión de clave e inmediatamente después administraron corticosterona en el EDM, encontraron que la corticosterona (5, 10 y 20 ng) facilita la retención selectivamente del entrenamiento espacial, pero no el de clave (procedimiento). También se reportó en este estudio que la corticosterona no afecta la competencia entre la versión lugar-clave, es decir no se favorece la formación de una sobre otra bajo este diseño experimental. Lo cual da indicios de que la corticosterona actúa de manera selectiva de acuerdo con la región del estriado y el tipo de memoria que está asociada.

Este estudio concuerda con los hallazgos que aportan evidencias de que el estrés y los glucocorticoides facilitan la consolidación de la memoria de procedimiento, ya que se encontró que la administración de corticosterona en el EDL aceleró la aparición de la memoria de procedimiento al sesgar a las ratas a usar una estrategia de respuesta y no una de lugar como hubiese correspondido en la fase temprana de entrenamiento. Sin embargo, a diferencia de los hallazgos de Lozano-Navarro en los que la corticosterona facilita la memoria espacial cuando se administra en el EDL, en este estudio no se observaron efectos de facilitación de la memoria espacial. Este efecto no se puede explicar por una posible distribución diferencial de los GRs y por lo tanto una eficacia distinta, ya que se conoce a la fecha que la distribución de los GR es uniforme en todo el estriado y no hay mayor

presencia en el EDL que en el EDM (Ahima et al., 1991). Una explicación probable es que la activación de los GRs en el EDM es suficiente para inducir la facilitación inmediata de la memoria espacial (Lozano et al., 2013) en conjunto con cambios plásticos estructurales en el hipocampo y en la corteza prefrontal que son responsables de que permanezca la memoria espacial y no se anticipe la formación de la memoria de procedimiento sino hasta que se adquiera de manera paulatina con las repeticiones del entrenamiento (Packard & McGaugh, 1996).

Otra posible explicación a este hallazgo es la diferencia en la aversividad de las tareas. En el laberinto acuático que se utilizó en el trabajo de Lozano et al. (2013), las ratas deben aprender a escapar del tanque de agua, una experiencia considerablemente aversiva que causa un incremento en la liberación de corticosterona (Sandi et al., 1997). Mientras que aprender a localizar una recompensa en un laberinto, tiene un componente apetitivo, que posiblemente esté asociado a una menor liberación de corticosterona. Por lo que son importantes los niveles basales de glucocorticoides intrínsecos a la tarea, ya que a ellos se sumarán los glucocorticoides exógenos que finalmente en conjunto tendrán efectos sobre la memoria. Por lo que el uso de dosis más altas de corticosterona administradas en el EDM podría compensar a los niveles endógenos más bajos y facilitar la memoria espacial y su persistencia también en el laberinto de Tolman.

Simultáneamente, los glucocorticoides interactúan con los sistemas de neurotransmisión o neuromodulación de los circuitos locales y en conjunto regulan la consolidación de la memoria, estos sistemas pueden tener expresiones diferenciales en el EDL y el EDM de manera que influyen sobre la eficacia de los glucocorticoides en la modulación de la memoria. Tal es el caso de los endocannabinoides, que se reclutan por los glucocorticoides en la consolidación de la memoria (Atsak et al., 2015; Morena et al., 2015). Los endocannabinoides a través de la unión a los receptores presinápticos CB1Rs modulan la dinámica de las sinapsis activas. Los CB1Rs se distribuyen diferencialmente en el estriado; hay mayor presencia en el EDL que en el EDM y este es un cambio que surge con la maduración ya que la expresión diferencial es más evidente a partir de la etapa

adulta y se atenúa más en la etapa senil (Van Waes, Beverley, Siman, Tseng, & Steiner, 2012), tal diferencia en la expresión podría afectar la dosis de corticosterona que se requiere para facilitar la memoria. Además, como la síntesis y liberación de los endocannabinoides dependen en gran medida del estado de alerta de la tarea (Campolongo et al., 2013; Morena et al., 2015), esto también podría explicar por qué la administración de corticosterona en el EDM facilitó la memoria espacial en la tarea aversiva del laberinto acuático, pero fue inefectiva en la tarea apetitiva del laberinto de Tolman.

Otra perspectiva más integrativa, es la que toma en cuenta la transferencia complementaria de los sistemas de memoria potenciada por la exposición a condiciones de estrés, con un procesamiento inicial de estrategias espaciales dirigidas por metas a cargo del hipocampo que se transfiere a estrategias de asociaciones estímulo-respuesta más habituales llevadas a cabo por el estriado (Goodman et al., 2015; Schwabe et al., 2010; Schwabe & Wolf, 2009). Se propone que este cambio en estrategias se debe a la actividad del MR en al menos un par de estudios con hallazgos confirmatorios en roedores y humanos (Schwabe et al., 2010; Schwabe, Tegenthoff, Höffken, & Wolf, 2013). El sistema de memoria dependiente del EDL se caracteriza por formar conductas rígidas y poco flexibles o inflexibles, características que garantizan que una acción, secuencia o respuesta aprendida estará disponible fácilmente ante la necesidad de resolver una demanda del ambiente sin necesidad de utilizar más recursos para aprender una nueva. En este sentido, los glucocorticoides ofrecen un mecanismo para favorecer la formación de las memorias de procedimiento y permitir al resto de los sistemas de memoria estar disponibles para otras experiencias.

Notablemente, en condiciones de estrés crónico se pueden observar cambios no solo conductuales sino estructurales en las neuronas de proyección del DLS y del DMS diferencialmente. Taylor et al. (2014), realizaron un estudio en el que encontraron que el entrenamiento de ratas estresadas crónicamente en un laberinto en T promueve la consolidación de la memoria de procedimiento y se observan cambios en el EDL en la complejidad dendrítica de las neuronas espinosas

medianas, especialmente en la región proximal, en donde se forman contactos de entradas de las interneuronas colinérgicas y GABAérgicas positivas para albúmina (Gerfen & Bolam, 2010); cambios en la complejidad dendrítica que no suceden en el EDM.

En condiciones fisiológicas, este mecanismo que favorece el trazo de memorias de procedimiento modulado por las hormonas glucocorticoides, es un mecanismo adaptativo que asegura que mientras el animal responde ante un estímulo puede procesar otros. Sin embargo, este mecanismo primario, en condiciones patológicas como el estrés crónico, se puede volver mal adaptativo y promover condiciones de adicción, trastornos obsesivos-compulsivos y estrés post-traumático (Goodman, Leong, & Packard, 2012).

En la Sección II de la presente tesis, se exploró cuál podría ser la interacción de los endocannabinoides (a través de los CB1Rs) con los glucocorticoides (a través de mecanismos membranales) en el EAD durante la consolidación de la memoria, ya que estos dos sistemas participan en conjunto en otras estructuras relacionadas con la memoria y con funciones de regulación del eje de respuesta al estrés, el eje HHA.

Una primera aproximación para estudiar la posible interacción de los CB1Rs con los glucocorticoides es abordar a la región anterior dorsal del estriado de una manera robusta en una tarea que en un solo ensayo permite que se forme una memoria con múltiples informaciones, y que posteriormente, se podría elucidar cuál es el rol de estos dos sistemas en tipos de memoria específicos en la región medial o lateral del estriado.

Los hallazgos que se presen en este trabajo sugieren que el bloqueo de la actividad local de los CB1Rs estriatales, sin importar que el resto de las estructuras mantengan los CB1Rs disponibles y potencialmente en actividad, es indispensable para que los glucocorticoides de manera sistémica faciliten la retención. Además, que la actividad de los GRs y CB1Rs operan conjuntamente en el EAD para facilitar la retención de la memoria. Y finalmente, que los mecanismos de actividad

membranal rápida (presumiblemente) de los GRs del estriado son los que actúan sobre los CB1Rs para llevar a cabo la modulación de la consolidación de la memoria.

En el Experimento 3 (Figura 9), se observó que la administración sistémica de una única dosis de 3 mg/kg de corticosterona inmediatamente después del entrenamiento en la tarea de evitación inhibitoria causó un efecto de facilitación de la memoria evaluada a las 48 h. En estudios previos en los que se han entrenado a ratas en la tarea de evitación inhibitoria se han observado efectos de facilitación de la corticosterona sobre la consolidación de la memoria (Medina et al., 2007; Quirarte et al., 1997; Roozendaal & McGaugh, 1997; Sanchez-Resendis et al., 2012). La concentración equivalente de la dosis de 3 mg/kg de corticosterona es de 2.886 nM, este valor corresponde a los valores fisiológicos propios de la hormona que se unen con mayor probabilidad a los GR ($K_d = 5$ nM) que a los MR ($K_d = 0.5$ nM). Una vez que se aplica un estresor, se detectan niveles de corticosterona en el cerebro a partir de los 5 min, por ejemplo, cuando se aplica un bolo de corticosterona este cruza la barrera hematoencefálica *in situ* ya que 1 min después de la aplicación se detecta en el cerebro (Pardridge & Mietus, 1979). Lo que permite suponer que la administración de corticosterona sistémica llegaría rápidamente al cerebro y podría ocupar los receptores presentes en las diversas estructuras.

Por otra parte, la administración de la dosis de 0.28 ng del antagonista de CB1Rs AM251, en primer lugar, no causó deterioro de la memoria *per se*, sino que bloqueó la facilitación de la memoria dependiente de la administración sistémica de la corticosterona por lo tanto, no se podría suponer que los efectos de bloqueo se deben a que, de manera directa, la administración de 0.28 ng de AM251 causa deterioro y cualquier efecto de la corticosterona estaría enmascarado debido a este efecto.

La liberación de corticosterona ante un estresor induce la síntesis de endocannabinoides en el núcleo paraventricular del hipotálamo así como en la amígdala basolateral y regula la actividad de la liberación glutamatérgica y GABAérgica, respectivamente (Di et al., 2003). En el estriado dorsal, los CB1Rs se localizan en los axones de las neuronas GABAérgicas (Mátyás et al., 2006), por lo

que se infiere que regularían la liberación de GABA al espacio sináptico y modularían la actividad del circuito local así como las proyecciones del estriado hacia otras estructuras.

Los efectos de deterioro en la memoria de la tarea de evitación inhibitoria se han observado previamente ante la sola administración del AM251 (0.56 y 0.28 ng) en la BLA después del entrenamiento (Campolongo et al., 2009). Complementariamente, en el mismo estudio se encontró que la administración del AM251 en la BLA bloquea la facilitación de la memoria causada por la administración sistémica de corticosterona (3 mg/kg). De manera que los hallazgos de la presente tesis convergen en un mecanismo similar de acción en una estructura que directamente procesa la información emotiva como es la amígdala particularmente la región basolateral y otra estructura que no está directamente relacionada con el procesamiento de la emotividad de las circunstancias de un evento, pero que participa en la representación y ejecución de patrones de la conducta motora (Rueda-Orozco & Robbe, 2015), en la representación del contexto (Wiener, 1993), en la representación de secuencias temporales (Gouvêa et al., 2015); se complementa la información multimodal de una experiencia aversiva, por lo que la actividad de los CB1Rs y de los endocannabinoides estriatales parece ser determinante en la modulación de la memoria a través de los glucocorticoides circulantes.

En el Experimento 4 (Figura 10), se replicaron los hallazgos descritos por Medina et al. (2007) en ratas entrenadas en la tarea de evitación inhibitoria con una intensidad baja de choque eléctrico (0.4 mA), la administración de corticosterona (5, 10, 30 o 60 ng) directamente en el estriado mejora la memoria (10 ng). En esta tesis, se encontró que la administración directamente en el EAD de 10 ng de corticosterona y no de 30 ng facilitan la memoria de la tarea de evitación inhibitoria de ratas entrenadas con 0.45 mA. En este sentido, intensidades mayores de choque eléctrico (desde 1 mA hasta 3 mA) generan memorias muy sólidas, una propuesta para explicar este fenómeno es, que la liberación de adrenalina y glucocorticoides al torrente sanguíneo después de una experiencia altamente aversiva facilitan la consolidación de esa memoria (McGaugh & Roozendaal, 2002). En el primer trabajo

publicado por Gold y van Buskirk (1975), que dio evidencias de este posible mecanismo, se descubrió que la administración sistémica de noradrenalina mejora la retención de la tarea de evitación inhibitoria. Por otra parte, González- Franco, Ramírez-Amaya, Joseph-Bravo, Prado-Alcalá, y Quirarte (2017) entrenaron a ratas en la tarea de evitación inhibitoria con distintas intensidades de choque eléctrico y midieron la presencia de corticosterona en el plasma a los 15 min, sus hallazgos indican que un choque de 0.5 mA o de 1 mA no son diferentes significativamente de ratas que solo permanecieron en sus cajas en el bioterio y luego se sacrificaron o de ratas que se entrenaron con 0.0 mA, sin embargo, cuando se entrenan con un estímulo de 2.0 mA, la liberación de corticosterona es casi tres veces mayor que el grupo de 0.0 mA. De manera que al usar una intensidad de choque baja en el entrenamiento es suficiente para generar un trazo de memoria estable, sin embargo, si se administran de manera exógena las hormonas de respuesta al estrés se simularía una liberación mayor, una experiencia con una intensidad del estímulo aversivo mayor que mejora el almacenamiento y la fortaleza del trazo de memoria.

En el Experimento 4 (Figura 10), se encontró que la previa administración de AM251 (0.28 ng) en el estriado no causa amnesia, y que bloquea los efectos de facilitación de la memoria que se habían observado cuando se administró la corticosterona con el vehículo del AM251. El efecto de facilitación de la memoria por la administración de corticosterona en el estriado se asocia con la actividad intrínseca del GR, ya que si se bloquea con el antagonista RU486 los efectos ya no se observan (Medina et al., 2007; Sanchez-Resendis et al., 2012) sin embargo, en este Experimento, los GR no se bloquearon por lo que podían tener actividad y continuar con la señalización de manera canónica. Sin embargo, los CB1Rs estaban ocupados por el antagonista AM251, la actividad de este fármaco puede ser efectiva en registros conductuales hasta 22 horas (McLaughlin et al., 2003), por lo que se infiere que al menos antes de que las ratas recibieran la administración de corticosterona (10 min posteriores al AM251) el fármaco ya estaba activo y antes de que se realizara la prueba de retención de la tarea (48 h después del entrenamiento) se había eliminado del sistema.

Se encontró que a pesar de que los GRs estuvieron disponibles, los CB1Rs son necesarios para que la facilitación de la memoria se presente. La administración de AM251 en otras tareas de condicionamiento aversivo como el condicionamiento de miedo al contexto produce un efecto de deterioro en la memoria, sin embargo, en el condicionamiento de miedo al tono, produce el efecto inverso, puesto que facilita la memoria (Arenos, Musty, & Bucci, 2006); este fenómeno en conjunto con otros, sugiere que los CB1Rs se involucran de manera distinta de acuerdo con el tipo de información, sistema de memoria, estructura, proceso o localización anatómica. La tarea de evitación inhibitoria tiene componentes contextuales, espaciales, temporales, de toma de decisiones, nociceptivos, de actividad motora entre otros, en los que participan múltiples estructuras en un proceso de integración. El estriado anterodorsal, sitio anatómico en el que se hicieron las administraciones de AM251 y corticosterona, participa en la codificación del contexto, en la ejecución de conductas motoras, pero no en la modulación del eje HHA como en el hipotálamo, donde la unión de la corticosterona a los GR induce la síntesis y liberación de endocannabinoides que se unen a los CB1Rs presinápticos y controlan la actividad del eje HHA (Di et al., 2003), mientras que el mismo mecanismo en la BLA modula la consolidación de la memoria (Campolongo et al., 2009). Presumiblemente en el estriado dorsal el mecanismo, ya que no tiene participación en el eje HHA, de manera similar a lo que sucede en la amígdala, participa en la consolidación de la memoria motivada por contenidos emotivamente aversivos.

En el Experimento 5 (Figura 11) se administró en el EAD la corticosterona:BSA, maniobra que permitiría la unión de la hormona a receptores que se acoplan a la membrana celular (GRm) pero no en el citoplasma o en el núcleo (GRn) de las células con la finalidad de averiguar si los efectos de la corticosterona sobre la consolidación de la memoria, se dan también por vías de activación membranal rápida. Hasta el momento no se ha descrito que este tipo de efectos en el estriado dorsal sucedan mediante este tipo de mecanismos. Se sabe que es a través de receptores GR (Medina et al., 2007) presumiblemente nucleares, sin embargo no existe un fármaco que sea específico para bloquear el receptor nuclear o el receptor membranal selectivamente. Mientras que se ha descrito que en la mPFC, los efectos

de facilitación de la memoria se dan por la actividad de los GR α al administrar corticosterona:BSA (Barsegyan et al., 2010). Los resultados sugieren que los efectos pudieron deberse al GR α , ya que se obtuvo un efecto de facilitación de la memoria con la administración de corticosterona:BSA, tanto con la dosis de 5 ng como con la dosis de 10 ng. En estudios aún no publicados del laboratorio se han observado efectos de facilitación en la memoria de corto plazo evaluada a los 30 min, lo que apunta a que son efectos no genómicos, que, si bien se observan a las 48 horas, no se descarta que esta actividad posteriormente se lleve a cabo también por la actividad nuclear.

Sin embargo, no hay que perder de vista que se desconoce la cantidad de corticosterona que no está conjugada a la BSA en el fármaco corticosterona:BSA utilizado en la presente tesis por lo que existe la posibilidad de que haya una porción de corticosterona libre o que penetre a la célula como se ha observado en el hígado (Nishimura & Nakano, 2000).

En un estudio en el que conjugaron corticosterona con BSA de manera que el complejo quedara ausente de corticosterona libre, con una relación de 30 moléculas de la hormona por una de BSA, demostraron que la administración de este complejo en el hipocampo de ratones deteriora la evocación de la memoria y estos efectos se mantienen incluso ante la administración del inhibidor de síntesis de proteínas anisomicina (Dorey et al., 2011).

Alternativamente se tendría que administrar corticosterona:BSA y un inhibidor de la síntesis de proteínas para comprobar que es por GR α y no por la actividad del factor de transcripción del GR β que se dan los efectos sobre la memoria, sin embargo es probable que estos mecanismos no sean mutuamente excluyentes sino que sean complementarios y así garantizar los cambios celulares como la activación de las vías de señalización de la pKA, pKC, ERK y MAPK así como la transactivación de la traducción de genes a proteínas.

También se exploró, en este Experimento 5, la posibilidad de que los CB1Rs se integraran en la actividad de los GR α mediante la administración de AM251 inmediatamente después del entrenamiento y 10 minutos antes de la administración

de corticosterona:BSA. El efecto que se observó a las 48 horas fue el bloqueo de la facilitación que previamente se había observado con la dosis de 10 ng de corticosterona:BSA. Lo que indica que se requiere de la participación de los CB1Rs para que haya una facilitación de la memoria independientemente de que esté activa la señalización por el GRm, es insuficiente la propia actividad de los glucocorticoides y su sistema. Es importante destacar que no se observó deterioro de la memoria, ya que las latencias de retención no fueron significativamente menores que los grupos control, sin embargo, sí fueron significativamente menores que las latencias de retención del grupo que recibió la dosis de 10 ng de corticosterona:BSA. Asimismo, como se observó en el Experimento 3, la dosis de 0.28 ng de AM251 no fue amnésica *per se*, sin embargo, parece ser necesaria para bloquear el funcionamiento de los CB1Rs en su interacción con los glucocorticoides.

Consistentemente, estos tres experimentos sugieren que los CB1Rs del EAD tienen una participación fundamental en la modulación de la memoria; los glucocorticoides circulantes, los glucocorticoides directamente en el estriado y los glucocorticoides conjugados con la proteína BSA que son impermeables a la membrana, dependen de la disponibilidad de los CB1Rs del estriado para facilitar la retención. Aunque los CB1Rs de la BLA, del hipocampo, de la mPFC, estructuras relacionadas con la memoria emotiva, estuviesen disponibles, no sería suficiente su actividad para mantener la facilitación de la memoria por la actividad de los glucocorticoides.

Los dos principales endocannabinoides que se sintetizan (principalmente “en demanda”) y liberan para modular la transmisión sináptica son la anandamida y el 2-AG. Se desconoce en el estriado cuál de las dos moléculas podría modular la respuesta. En otras estructuras como la BLA, el hipocampo o la mPFC, Morena et al. (2014) reporta que después de un entrenamiento en la tarea de evitación inhibitoria, la anandamida incrementa considerablemente en las tres estructuras, además si se incrementa su actividad al inhibir la enzima de síntesis, hay una mejora en la retención, y si, por otro lado, se bloquea el receptor CB1 ya no se presenta la facilitación. Por lo que ese estudio sugiere que una experiencia aversiva induce la

síntesis de anandamida que a través de los CB1Rs de estructuras que participan en la consolidación de la memoria se modula la consolidación de la memoria.

Además, la administración del agonista de CB1Rs WIN55,212-2 facilita la memoria de tareas aversivas como la evitación inhibitoria cuando se administra en la BLA después del entrenamiento (Campolongo et al., 2009). Así como de la tarea de reconocimiento de objetos, ya que cuando se administra por vía sistémica, se mejora la memoria solamente si no hay una habituación previa al contexto en el que se entrenen las ratas (se genera un mayor estado de alerta y ansiedad), en cambio, si se reduce este efecto ansiogénico al familiarizar a las ratas con el contexto, no hay efectos del agonista sobre la memoria (Campolongo et al., 2013).

Asimismo, en protocolos que inducen estrés crónico, también se han observado incrementos en la anandamida en el estriado ventral de ratones después de 10 días de restricción (1 sesión por día), pero no de 1 o 7, mientras que la restricción durante 1, 7 o 10 sesiones disminuye significativamente los niveles de anandamida presentes en la amígdala y provoca una disminución significativa después de 7 o 10 sesiones pero no de 1 sesión en la mPFC (Rademacher et al., 2008), lo cual indica una actividad diferencial en las distintas regiones del cerebro.

El estresor agudo que se utiliza en la tarea de evitación inhibitoria es un choque eléctrico en las patas de las ratas con una duración de segundos y no de minutos como los protocolos de restricción o de nado forzado; no se han registrado incrementos significativos en los niveles de corticosterona circulante medida 15 min después de un entrenamiento en la tarea de evitación inhibitoria con un choque de 0.5 mA durante 5 s (González- Franco et al., 2017), sin embargo, cabe la posibilidad de que el incremento en los niveles de corticosterona sea en un tiempo menor a 15 min. La intensidad que se utilizó en esta tesis fue de 0.45 mA por 1 s y se desconoce la cantidad de corticosterona que se libera al torrente sanguíneo, aunque podría tener un comportamiento similar al del estudio de González- Franco et al. (2017).

En el estriado dorsal se desconoce si hay un incremento en la cantidad de endocannabinoides ante una experiencia aversiva que involucre la participación del eje HHA como en el estudio de Morena et al. (2014) en la tarea de evitación

inhibitoria que fue la que se utilizó en los experimentos de esta tesis y que pudiese sugerir los mecanismos que están involucrados en los resultados que se obtuvieron.

Los mecanismos involucrados en la comunicación neuronal en el estriado ante retos de estrés y ansiedad se ha observado que se dan por la actividad de los CB1Rs sobre la transmisión GABAérgica y son principalmente por la actividad de la anandamida que disminuye las corrientes inhibitorias postsinápticas espontáneas (Rossi et al., 2008; Rossi et al, 2010).

Otro componente que se debe tomar en cuenta para explicar los efectos de los glucocorticoides y endocannabinoides sobre los resultados que se observaron en esta tesis es el componente conductual motriz. Ciertamente el estriado no está involucrado, como las estructuras límbicas, en el procesamiento de la valencia emocional o en el eje HHA en donde los CB1Rs tienen un papel de regulación negativa, sin embargo, la respuesta motora que se ejecuta es parte de la respuesta al estrés, los animales resuelven las situaciones estresantes que involucran amenaza o miedo mediante la lucha, la huida o el congelamiento (Shields et al., 2016).

La respuesta motora está dada por la vía directa e indirecta del estriado, de manera que un cambio en la actividad del circuito estriatal podría generar cambios en la ejecución de los movimientos. Se observó que solamente cuando los CB1Rs estriatales están bajo la acción del antagonista AM251 (0.28 ng), los glucocorticoides son inefectivos en inducir facilitación de la memoria, es decir, la conducta de evitar cruzar hacia el lugar donde se recibió el choque ya no se favorece si se bloquean los CB1Rs y en su lugar, las ratas ejecutan el movimiento y cruzan hacia el compartimiento de castigo, de modo que los CB1Rs podrían influir en la memoria del procedimiento relacionado con la consecuencia de evitar un potencial choque eléctrico en las patas.

Adicionalmente, la conducta de evitación implica un procesamiento contextual que sitúa al animal en tiempo, espacio y estado emocional que con base en las experiencias pasadas, predice la respuesta más adaptativa (en este caso evitar el compartimiento de castigo); este procesamiento y la manera en la que sucede toda

la integración se propone que ocurre en la mPFC (Euston, Gruber, & McNaughton, 2012). La información contextual, además se complementa mediante las proyecciones de la mPFC hacia el estriado dorsal (Voorn et al., 2004) y finalmente se puede expresar o inhibir la conducta motora.

En este sentido, cabe destacar que las pruebas de retención de cada experimento se realizaron 48 h después del entrenamiento y los fármacos se administraron o inmediatamente o hasta 10 min después del entrenamiento, por lo que a las 48 h que se llevó a cabo la prueba, no estaban ya presentes en el organismo y directamente no afectaron el desempeño de la conducta motora durante la observación de la prueba.

Por otra parte, con los experimentos realizados sobre la posible integración de los CB1Rs estriatales en la señalización de los glucocorticoides durante la formación de la memoria y los efectos de facilitación que previamente se habían reportado, los hallazgos sugieren un patrón común de acción. Se reclutan río abajo de mecanismos membranales preferencialmente a través de los GRm y en conjunto esta interacción converge en la facilitación de la memoria.

Se propone que en la BLA. los CB1Rs actúan en las neuronas GABAérgicas (Campolongo et al., 2009) en entrenamientos aversivos con estresores agudos, mientras que probablemente también suceda en las neuronas GABAérgicas del estriado que si bien no se han realizado estudios con estresores de la mismas cualidades, hay indicios de que probablemente así sucedería (Rossi et al., 2008). En la BLA, el siguiente relevo que se modula por la actividad del GABA es la actividad noradrenérgica (Atsak et al., 2012), en el estriado aún no se realizan estudios que indiquen específicamente el siguiente relevo. Sin embargo, se descubrió previamente que los glucocorticoides interactúan con el sistema colinérgico en la consolidación de la memoria de la tarea de evitación inhibitoria (Sanchez-Resendis et al., 2012), aunque falta la evidencia experimental que demuestre que la actividad colinérgica estriatal involucrada en la consolidación de la memoria está subrogada a la actividad GABAérgica modulada por los CB1Rs, en un contexto fisiológico de respuesta al estrés desencadenado por un estímulo aversivo.

En un marco más amplio de los CB1Rs como blanco terapéutico en la clínica, recientemente se lleva a cabo la implementación de cannabinoides sintéticos o fitocannabinoides extraídos de la planta *Cannabis sativa* en los tratamientos asociados con estresores patológicos psicológicos y físicos. Potencialmente se propone utilizar a los cannabinoides en el tratamiento de desórdenes psiquiátricos como la esquizofrenia; la depresión mayor en la que hay una hipofunción en estructuras asociadas con la toma de decisiones como la corteza media prefrontal y la corteza orbitofrontal además de afectar los centros de recompensa y motivación del estriado ventral; el síndrome de estrés postraumático, patología en la que la reactividad del sistema límbico es exacerbada sobre todo de la amígdala y que tiene por consecuencia la experimentación constante de memorias traumáticas con vividez y respuestas fisiológicas exacerbadas; en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas como la esclerosis múltiple, la enfermedad de Parkinson o la enfermedad de Alzheimer, dadas sus características moduladoras de la transmisión sináptica y su amplia distribución en el tejido nervioso (Rossi et al., 2009).

9. CONCLUSIONES

1. La administración de corticosterona en el EDL facilitó la memoria de procedimiento y aceleró el uso de la estrategia de respuesta en la tarea del laberinto de Tolman.
2. La administración de corticosterona en el EDL no facilitó ningún tipo de memoria y no cambió el uso de las estrategias espacial o de procedimiento en la tarea del laberinto de Tolman.
3. La previa administración del antagonista de receptores CB1 AM251 en el EAD bloqueó la facilitación de la memoria de la tarea de evitación inhibitoria debida a la administración sistémica de corticosterona.
4. La facilitación de la memoria de la tarea de evitación inhibitoria por la administración de corticosterona (10 ng) en el EAD se impidió al bloquear previamente los CB1Rs estriatales con AM251 (0.28 ng).
5. La facilitación de la memoria de la tarea de evitación inhibitoria inducida por la administración de corticosterona:BSA (10 ng) en el EAD sugiere que es un mecanismo no genómico mediante el GRm.
6. La facilitación de la memoria de la tarea de evitación inhibitoria por la activación de los GRm (corticosterona:BSA, 10 ng) en el EAD depende de los CB1Rs estriatales ya que el AM251 (0.28 ng) impidió el efecto de facilitación.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahima, R. S., Krozowski, Z., & Harlan, R. E. (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. doi: 10.1002/cne.903130312
- Arenos, J. D., Musty, R. E., & Bucci, D. J. (2006). Blockade of cannabinoid CB1 receptors alters contextual learning and memory. *European Journal of Pharmacology*, *539*(3), 177-183. doi: 10.1016/j.ejphar.2006.04.017
- Arsalidou, M., Duerden, E. G., & Taylor, M. J. (2013). The centre of the brain: Topographical model of motor, cognitive, affective, and somatosensory functions of the basal ganglia. *Human Brain Mapping*, *34*(11), 3031-3054. doi: 10.1002/hbm.22124
- Atsak, P., Hauer, D., Campolongo, P., Schelling, G., Fornari, R. V., & Roozendaal, B. (2015). Endocannabinoid signaling within the basolateral amygdala integrates multiple stress hormone effects on memory consolidation. *Neuropsychopharmacology*, *40*(6), 1485-1494. doi: 10.1038/npp.2014.334
- Atsak, P., Roozendaal, B., & Campolongo, P. (2012). Role of the endocannabinoid system in regulating glucocorticoid effects on memory for emotional experiences. *Neuroscience*, *204*, 104-116. doi: 10.1016/j.neuroscience.2011.08.047
- Balleine, B. W., Delgado, M. R., & Hikosaka, O. (2007). The role of the dorsal striatum in reward and decision-making. *The Journal of Neuroscience*, *27*(31), 8161-8165. doi: 10.1523/jneurosci.1554-07.2007
- Balleine, B. W., & O'Doherty, J. P. (2010). Human and rodent homologies in action control: Corticostriatal determinants of goal-directed and habitual action. *Neuropsychopharmacology*, *35*(1), 48-69. doi: 10.1038/npp.2009.131
- Barsegyan, A., Mackenzie, S. M., Kurose, B. D., McGaugh, J. L., & Roozendaal, B. (2010). Glucocorticoids in the prefrontal cortex enhance memory consolidation and impair working memory by a common neural mechanism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *107*(38), 16655-16660. doi: 10.1073/pnas.1011975107
- Bos, J. J., Vinck, M., van Mourik-Donga, L. A., Jackson, J. C., Witter, M. P., & Pennartz, C. M. A. (2017). Perirhinal firing patterns are sustained across large spatial segments of the task environment. *Nature Communications*, *8*, 15602. doi: 10.1038/ncomms15602
- Braun, S., & Hauber, W. (2011). The dorsomedial striatum mediates flexible choice behavior in spatial tasks. *Behavioural Brain Research*, *220*(2), 288-293. doi: 10.1016/j.bbr.2011.02.008
- Burgess, N. (2008). Spatial cognition and the brain. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1124*, 77-97. doi: 10.1196/annals.1440.002
- Cahill, L., & McGaugh, J. L. (1998). Mechanisms of emotional arousal and lasting declarative memory. *Trends in Neurosciences*, *21*(7), 294-299. doi: 10.1016/S0166-2236(97)01214-9
- Campolongo, P., Morena, M., Scaccianoce, S., Trezza, V., Chiarotti, F., Schelling, G., . . . Roozendaal, B. (2013). Novelty-induced emotional arousal modulates

- cannabinoid effects on recognition memory and adrenocortical activity. *Neuropsychopharmacology*, 38(7), 1276-1286. doi: 10.1038/npp.2013.26
- Campolongo, P., Roozendaal, B., Trezza, V., Hauer, D., Schelling, G., McGaugh, J. L., & Cuomo, V. (2009). Endocannabinoids in the rat basolateral amygdala enhance memory consolidation and enable glucocorticoid modulation of memory. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(12), 4888-4893. doi: 10.1073/pnas.0900835106
- Cannon, W. D. (1915). *Bodily changes in pain, hunger, fear and rage*. New York, NY: D. Appleton & Company.
- Castellano, C., Ventura, R., Cabib, S., & Puglisi-Allegra, S. (1999). Strain-dependent effects of anandamide on memory consolidation in mice are antagonized by naltrexone. *Behavioural Pharmacology*, 10(5), 453-457.
- Dallman, M. F. (2005). Fast glucocorticoid actions on brain: Back to the future. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 26(3-4), 103-108. doi: 10.1016/j.yfrne.2005.08.001
- de Kloet, E. R., Oitzl, M. S., & Joëls, M. (1999). Stress and cognition: Are corticosteroids good or bad guys? *Trends in Neurosciences*, 22(10), 422-426. doi: 10.1016/S0166-2236(99)01438-1
- De Kloet, E. R., & Reul, J. M. (1987). Feedback action and tonic influence of corticosteroids on brain function: A concept arising from the heterogeneity of brain receptor systems. *Psychoneuroendocrinology*, 12(2), 83-105. doi: 10.1016/0306-4530(87)90040-0
- De Oliveira Alvares, L., Genro, B. P., Diehl, F., & Quilfeldt, J. A. (2008). Differential role of the hippocampal endocannabinoid system in the memory consolidation and retrieval mechanisms. *Neurobiology of Learning and Memory*, 90(1), 1-9. doi: 10.1016/j.nlm.2008.01.009
- Defiore, C. H., & Turner, B. B. (1983). [3H]corticosterone binding in the caudate-putamen. *Brain Research*, 278(1-2), 93-101. doi: 10.1016/0006-8993(83)90227-5
- Denver, R. J. (2009). Structural and functional evolution of vertebrate neuroendocrine stress systems. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1163, 1-16. doi: 10.1111/j.1749-6632.2009.04433.x
- Di Marzo, V., Melck, D., Bisogno, T., & De Petrocellis, L. (1998). Endocannabinoids: Endogenous cannabinoid receptor ligands with neuromodulatory action. *Trends in Neurosciences*, 21(12), 521-528. doi: 10.1016/S0166-2236(98)01283-1
- Di, S., Malcher-Lopes, R., Halmos, K. C., & Tasker, J. G. (2003). Nongenomic glucocorticoid inhibition via endocannabinoid release in the hypothalamus: A fast feedback mechanism. *The Journal of Neuroscience*, 23(12), 4850-4857.
- Dorey, R., Piérard, C., Shinkaruk, S., Tronche, C., Chauveau, F., Baudonnat, M., & Béracochéa, D. (2011). Membrane Mineralocorticoid but not Glucocorticoid Receptors of the Dorsal Hippocampus Mediate the Rapid Effects of Corticosterone on Memory Retrieval. *Neuropsychopharmacology*, 36(13), 2639–2649. <http://doi.org/10.1038/npp.2011.152>
- Droste, S. K., de Groote, L., Atkinson, H. C., Lightman, S. L., Reul, J. M. H. M., & Linthorst, A. C. E. (2008). Corticosterone levels in the brain show a distinct

- ultradian rhythm but a delayed response to forced swim stress *Endocrinology*, 149(7), 3244-3253. doi: 10.1210/en.2008-0103
- Dudai, Y. (2002). Molecular bases of long-term memories: A question of persistence. *Current Opinion in Neurobiology*, 12(2), 211-216. doi: 10.1016/S0959-4388(02)00305-7
- Eichenbaum, H., & Cohen, N. J. (2004). Habits, skills, and procedural memory. En N. J. Mackintosh, D. Schacter, A. Triesman, J. L. McGaugh, T. Shallice & L. Weiskrantz (Eds.), *From conditioning to conscious recollection*. (pp. 435-470): Oxford University Press.
- Eichenbaum, H., Dudchenko, P., Wood, E., Shapiro, M., & Tanila, H. (1999). The hippocampus, memory, and place cells: Is it spatial memory or a memory space? *Neuron*, 23(2), 209-226. doi: 10.1016/S0896-6273(00)80773-4
- Euston, David R., Gruber, Aaron J., & McNaughton, Bruce L. (2012). The role of medial prefrontal cortex in memory and decision making. *Neuron*, 76(6), 1057-1070. doi: 10.1016/j.neuron.2012.12.002
- Fernandez-Ruiz, J., Lastres-Becker, I., Cabranes, A., Gonzalez, S., & Ramos, J. A. (2002). Endocannabinoids and basal ganglia functionality. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids (PLEFA)*, 66(2-3), 257-267. doi: 10.1054/plf.2001.0350
- Finsterwald, C., & Alberini, C. M. (2014). Stress and glucocorticoid receptor-dependent mechanisms in long-term memory: From adaptive responses to psychopathologies. *Neurobiology of Learning and Memory*, 112, 17-29. doi: 10.1016/j.nlm.2013.09.017
- Fride, E. (2002). Endocannabinoids in the central nervous system - an overview. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 66(2-3), 221-233. doi: 10.1054/plf.2001.0360
- Gallo, P. V., & Weinberg, J. (1981). Corticosterone rhythmicity in the rat: Interactive effects of dietary restriction and schedule of feeding. *The Journal of Nutrition*, 111(2), 208-218.
- Gerfen, C. R., & Bolam, J. P. (2010). The neuroanatomical organization of the basal ganglia. En H. Steiner & K. Y. Tseng (Eds.), *Handbook of basal ganglia structure and function*. (pp. 3-28). San Diego, CA: Academic Press.
- Gerfen, C. R., & Wilson, C. J. (1996). The basal ganglia. En L. W. Swanson, A. Bjorklund & T. Hökfelt (Eds.), *Handbook of chemical neuroanatomy*. (pp. 371-468). Amsterdam: Science BV.
- Gold, P. E., & van Buskirk, R. B. (1975). Facilitation of time-dependent memory processes with posttrial epinephrine injections. *Behavioral Biology*, 13(2), 145-153. doi: 10.1016/S0091-6773(75)91784-8
- Gong, J. P., Onaivi, E. S., Ishiguro, H., Liu, Q. R., Tagliaferro, P. A., Brusco, A., & Uhl, G. R. (2006). Cannabinoid CB2 receptors: Immunohistochemical localization in rat brain. *Brain Research*, 1071(1), 10-23. doi: 10.1016/j.brainres.2005.11.035
- González- Franco, D. A., Ramírez-Amaya, V., Joseph-Bravo, P., Prado-Alcalá, R. A., & Quirarte, G. L. (2017). Differential Arc protein expression in dorsal and ventral striatum after moderate and intense inhibitory avoidance training. *Neurobiology of Learning and Memory*, 140, 17-26. doi: 10.1016/j.nlm.2017.02.001

- Goodman, J., Leong, K.-C., & Packard, M. G. (2012). Emotional modulation of multiple memory systems: Implications for the neurobiology of post-traumatic stress disorder. *Reviews in the Neurosciences*, 23(5-6), 627. doi: 10.1515/revneuro-2012-0049
- Goodman, J., Leong, K. C., & Packard, M. G. (2015). Glucocorticoid enhancement of dorsolateral striatum-dependent habit memory requires concurrent noradrenergic activity. *Neuroscience*, 311, 1-8. doi: 10.1016/j.neuroscience.2015.10.014
- Goodman, J., & Packard, M. G. (2014). Peripheral and intra-dorsolateral striatum injections of the cannabinoid receptor agonist WIN 55,212-2 impair consolidation of stimulus-response memory. *Neuroscience*, 274, 128-137. doi: 10.1016/j.neuroscience.2014.05.007
- Gouvêa, T. S., Monteiro, T., Motiwala, A., Soares, S., Machens, C., & Paton, J. J. (2015). Striatal dynamics explain duration judgments. *eLife*, 4, e11386. doi: 10.7554/eLife.11386
- Gray, J. M., Vecchiarelli, H. A., & Hill, M. N. (2014). Endocannabinoid signaling and synaptic plasticity during stress. En M. Popoli, D. Diamond & G. Sanacora (Eds.), *Synaptic stress and pathogenesis of neuropsychiatric disorders*. (pp. 99-124). New York, NY: Springer New York.
- Groeneweg, F. L., Karst, H., de Kloet, E. R., & Joels, M. (2012). Mineralocorticoid and glucocorticoid receptors at the neuronal membrane, regulators of nongenomic corticosteroid signalling. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 350(2), 299-309. doi: 10.1016/j.mce.2011.06.020
- Groeneweg, F. L., Karst, H., de Kloet, E. R., & Joëls, M. (2011). Rapid non-genomic effects of corticosteroids and their role in the central stress response. *The Journal of Endocrinology*, 209(2), 153-167. doi: 10.1530/JOE-10-0472
- Hambusch, B., Landgraf, R., Czibere, L., & Touma, C. (2009). Genetic transmission of behavior and its neuroendocrine correlates. En D. W. Pfaff, A. P. Arnold, A. M. Etgen, S. E. Fahrbach & R. T. Rubin (Eds.), *Hormones, brain and behavior*. (pp. 2633-2673). San Diego: Academic Press.
- Herkenham, M., Lynn, A. B., Little, M. D., Johnson, M. R., Melvin, L. S., de Costa, B. R., & Rice, K. C. (1990). Cannabinoid receptor localization in brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 87(5), 1932-1936. doi: 10.1073/pnas.87.5.1932
- Hill, M. N., Karatsoreos, I. N., Hillard, C. J., & McEwen, B. S. (2010). Rapid elevations in limbic endocannabinoid content by glucocorticoid hormones in vivo. *Psychoneuroendocrinology*, 35(9), 1333-1338. doi: 10.1016/j.psyneuen.2010.03.005
- Hill, M. N., & McEwen, B. S. (2009). Endocannabinoids: The silent partner of glucocorticoids in the synapse. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(12), 4579-4580. doi: 10.1073/pnas.0901519106
- Hill, M. N., & McEwen, B. S. (2010). Involvement of the endocannabinoid system in the neurobehavioural effects of stress and glucocorticoids. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 34(5), 791-797. doi: 10.1016/j.pnpbp.2009.11.001

- Jamali-Raeufy, N., Nasehi, M., & Zarrindast, M. R. (2011). Influence of N-methyl D-aspartate receptor mechanism on WIN55,212-2-induced amnesia in rat dorsal hippocampus. *Behavioural Pharmacology*, *22*(7), 645-654. doi: 10.1097/FBP.0b013e32834aff1f
- Joëls, M., & Baram, T. Z. (2009). The neuro-symphony of stress. *Nature Reviews Neuroscience*, *10*(6), 459-466. doi: 10.1038/nrn2632
- Johnson, L. R., Farb, C., Morrison, J. H., McEwen, B. S., & LeDoux, J. E. (2005). Localization of glucocorticoid receptors at postsynaptic membranes in the lateral amygdala. *Neuroscience*, *136*(1), 289–299. <http://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2005.06.050>
- Kandel, E. R., Kupfermann, I., & Iversen, S. (2006). Learning and memory. En E. R. Kandel, J. H. Schwartz & T. M. Jessell (Eds.), *Principles of neural science*. (pp. 1228-1247). New York: McGraw Hill.
- Karst, H., Berger, S., Turiault, M., Tronche, F., Schutz, G., & Joëls, M. (2005). Mineralocorticoid receptors are indispensable for nongenomic modulation of hippocampal glutamate transmission by corticosterone. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *102*(52), 19204-19207. doi: 10.1073/pnas.0507572102
- Killcross, S., & Coutureau, E. (2003). Coordination of actions and habits in the medial prefrontal cortex of rats. *Cerebral Cortex*, *13*(4), 400-408. doi: 10.1093/cercor/13.4.400
- Kim, E. J., Pellman, B., & Kim, J. J. (2015). Stress effects on the hippocampus: A critical review. *Learning & Memory*, *22*(9), 411-416. doi: 10.1101/lm.037291.114
- Kim, J. J., Song, E. Y., & Kosten, T. A. (2006). Stress effects in the hippocampus: Synaptic plasticity and memory. *Stress: The International Journal on the Biology of Stress*, *9*(1), 1-11. doi: 10.1080/10253890600678004
- Knowlton, B. J., & Greenberg, D. L. (2008). Implicit learning and memory. En M. J. Aminoff, F. Boller, D. F. Swaab, G. Goldenberg & B. L. Miller (Eds.), *Handbook of clinical neurology*. (pp. 225-236). London: Elsevier.
- Lee, A. S., André, J. M., & Pittenger, C. (2014). Lesions of the dorsomedial striatum delay spatial learning and render cue-based navigation inflexible in a water maze task in mice. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, *8*, 42. doi: 10.3389/fnbeh.2014.00042
- Lex, B., Sommer, S., & Hauber, W. (2011). The role of dopamine in the dorsomedial striatum in place and response learning. *Neuroscience*, *172*, 212-218. doi: 10.1016/j.neuroscience.2010.10.081
- Liljeholm, M., & O'Doherty, J. P. (2012). Contributions of the striatum to learning, motivation, and performance: An associative account. *Trends in Cognitive Sciences*, *16*(9), 467-475. doi: 10.1016/j.tics.2012.07.007
- Liston, C., & Gan, W. B. (2011). Glucocorticoids are critical regulators of dendritic spine development and plasticity in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *108*(38), 16074-16079. doi: 10.1073/pnas.1110444108
- Lovinger, D., Gremel, C., & Mathur, B. (2012). Endocannabinoids in striatal plasticity. *Parkinsonism & Related Disorders*, *18*, S86 82.12.84. doi: 10.1016/S1353-8020(11)70415-1

- Lozano, Y. R., Serafín, N., Prado-Alcalá, R. A., Roozendaal, B., & Quirarte, G. L. (2013). Glucocorticoids in the dorsomedial striatum modulate the consolidation of spatial but not procedural memory. *Neurobiology of Learning and Memory*, *101*, 55-64. doi: 10.1016/j.nlm.2013.01.001
- Luchicchi, A., & Pistis, M. (2012). Anandamide and 2-arachidonoylglycerol: Pharmacological properties, functional features, and emerging specificities of the two major endocannabinoids. *Molecular Neurobiology*, *46*(2), 374-392. doi: 10.1007/s12035-012-8299-0
- Mátyás, F., Yanovsky, Y., MacKie, K., Kelsch, W., Misgeld, U., & Freund, T. F. (2006). Subcellular localization of type 1 cannabinoid receptors in the rat basal ganglia. *Neuroscience*, *137*(1), 337-361. doi: 10.1016/j.neuroscience.2005.09.005
- McDonald, R. J., Devan, B. D., & Hong, N. S. (2004). Multiple memory systems: The power of interactions. *Neurobiology of Learning and Memory*, *82*(3), 333-346. doi: 10.1016/j.nlm.2004.05.009
- McEwen, Bruce S., & Morrison, John H. (2013). The brain on stress: Vulnerability and plasticity of the prefrontal cortex over the life course. *Neuron*, *79*(1), 16-29. doi: 10.1016/j.neuron.2013.06.028
- McEwen, B. S., & Sapolsky, R. M. (1995). Stress and cognitive function. *Current Opinion in Neurobiology*, *5*(2), 205-216. doi: 10.1016/0959-4388(95)80028-X
- 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. doi: 10.1038/220911a0
- McGaugh, J. L. (2000). Memory—a century of consolidation. *Science*, *287*(5451), 248-251. doi: 10.1126/science.287.5451.248
- 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. doi: 10.1016/S0959-4388(02)00306-9
- McGeorge, A. J., & Faull, R. L. (1989). The organization of the projection from the cerebral cortex to the striatum in the rat. *Neuroscience*, *29*(3), 503-537. doi: 10.1016/0306-4522(89)90128-0
- McLaughlin, P. J., Winston, K., Swezey, L., Wisniecki, A., Aberman, J., Tardif, D. J., . . . Salamone, J. D. (2003). The cannabinoid CB1 antagonists SR 141716A and AM 251 suppress food intake and food-reinforced behavior in a variety of tasks in rats. *Behavioural Pharmacology*, *14*(8), 583-588. doi: 10.1097/01.fbp.0000104882.69384.aa
- 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. doi: 10.1101/lm.654407
- Mizumori, S. J. Y., Ragozzino, K. E., & Cooper, B. G. (2000). Location and head direction representation in the dorsal striatum of rats. *Psychobiology*, *28*(4), 441-462. doi: 10.3758/bf03332003
- Mora, F., Segovia, G., del Arco, A., de Blas, M., & Garrido, P. (2012). Stress, neurotransmitters, corticosterone and body–brain integration. *Brain Research*, *1476*, 71-85. doi: 10.1016/j.brainres.2011.12.049

- Morena, M., & Campolongo, P. (2014). The endocannabinoid system: An emotional buffer in the modulation of memory function. *Neurobiology of Learning and Memory*, *112*, 30-43. doi: 10.1016/j.nlm.2013.12.010
- Morena, M., De Castro, V., Gray, J. M., Palmery, M., Trezza, V., Roozendaal, B., . . . Campolongo, P. (2015). Training-associated emotional arousal shapes endocannabinoid modulation of spatial memory retrieval in rats. *The Journal of Neuroscience*, *35*(41), 13962-13974. doi: 10.1523/jneurosci.1983-15.2015
- Morena, M., Roozendaal, B., Trezza, V., Ratano, P., Peloso, A., Hauer, D., . . . Campolongo, P. (2014). Endogenous cannabinoid release within prefrontal- limbic pathways affects memory consolidation of emotional training. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *111*(51), 18333-18338. doi: 10.1073/pnas.1420285111
- 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. doi: 10.1016/S0168-0102(96)01105-4
- Moser, E. I., Kropff, E., & Moser, M. B. (2008). Place cells, grid cells, and the brain's spatial representation system. *Annual Review of Neuroscience*, *31*, 69-89. doi: 10.1146/annurev.neuro.31.061307.090723
- Murillo-Rodríguez, E., Sánchez-Alavez, M., Navarro, L., Martínez-González, D., Drucker-Colín, R., & Prospéro-García, O. (1998). Anandamide modulates sleep and memory in rats. *Brain Research*, *812*(1), 270-274. doi: 10.1016/S0006-8993(98)00969-X
- Nishimura, T., & Nakano, T. (2000). Immunocytochemical localization of bovine serum albumin (BSA) in the liver and testis of rats injected with testosterone-BSA, hydrocortisone-BSA or corticosterone-BSA. *Cell Structure and Function*, *25*(3), 161-169. <http://doi.org/10.1247/csf.25.161>
- National Research Council. (2011). *Guide for the care and use of laboratory animals*. (8th ed.) Washington, DC: The National Academies Press.
- NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. (2001). Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio, Resumen, 65. México: SENASICA.
- O'Keefe, J., & Dostrovsky, J. (1971). The hippocampus as a spatial map: Preliminary evidence from unit activity in the freely moving rat. *Brain Research*, *34*, 171-175. doi: 10.1016/0006-8993(71)90358-1
- O'Keefe, J., & Nadel, L. (1978). *The hippocampus as a cognitive map*. Oxford: Clarendon Press.
- Oitzl, M. S., de Kloet, E. R., Joëls, M., Schmid, W., & Cole, T. J. (1997). Spatial learning deficits in mice with a targeted glucocorticoid receptor gene disruption. *European Journal of Neuroscience*, *9*(11), 2284-2296. doi: 10.1111/j.1460-9568.1997.tb01646.x
- Oitzl, M. S., Reichardt, H. M., Joëls, M., & de Kloet, E. R. (2001). Point mutation in the mouse glucocorticoid receptor preventing DNA binding impairs spatial memory. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *98*(22), 12790-12795. doi: 10.1073/pnas.231313998
- Olijslagers, J. E., de Kloet, E. R., Elgersma, Y., van Woerden, G. M., Joels, M., & Karst, H. (2008). Rapid changes in hippocampal CA1 pyramidal cell function

- via pre- as well as postsynaptic membrane mineralocorticoid receptors. *The European Journal of Neuroscience*, 27(10), 2542-2550. doi: 10.1111/j.1460-9568.2008.06220.x
- Packard, M. G. (1999). Glutamate infused posttraining into the hippocampus or caudate-putamen differentially strengthens place and response learning. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96(22), 12881-12886. doi: 10.1073/pnas.96.22.12881
- Packard, M. G., & Knowlton, B. J. (2002). Learning and memory functions of the basal ganglia. *Annual Review of Neuroscience*, 25, 563-593. doi: 10.1146/annurev.neuro.25.112701.142937
- Packard, M. G., & McGaugh, J. L. (1996). Inactivation of hippocampus or caudate nucleus with lidocaine differentially affects expression of place and response learning. *Neurobiology of Learning and Memory*, 65(1), 65-72. doi: 10.1006/nlme.1996.0007
- Packard, M. G., & Teather, L. A. (1998). Amygdala modulation of multiple memory systems: Hippocampus and caudate-putamen. *Neurobiology of Learning and Memory*, 69(2), 163-203. doi: 10.1006/nlme.1997.3815
- Palencia, C. A., & Ragozzino, M. E. (2004). The influence of NMDA receptors in the dorsomedial striatum on response reversal learning. *Neurobiology of Learning and Memory*, 82(2), 81-89. doi: 10.1016/j.nlm.2004.04.004
- Pan, B., Wang, W., Zhong, P., Blankman, J. L., Cravatt, B. F., & Liu, Q. S. (2011). Alterations of endocannabinoid signaling, synaptic plasticity, learning, and memory in monoacylglycerol lipase knock-out mice. *The Journal of Neuroscience*, 31(38), 13420-13430. doi: 10.1523/jneurosci.2075-11.2011
- Pardridge, W. M., & Mietus, L. J. (1979). Regional blood-brain barrier transport of the steroid hormones. *Journal of Neurochemistry*, 33(2), 579-581. doi: 10.1111/j.1471-4159.1979.tb05192.x
- Paxinos, G., & Watson, C. (2007). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. (6th ed.) Burlington, MA: Academic Press.
- Pennartz, C. M., Berke, J. D., Graybiel, A. M., Ito, R., Lansink, C. S., van der Meer, M., . . . Voorn, P. (2009). Corticostriatal interactions during learning, memory processing, and decision making. *The Journal of Neuroscience*, 29(41), 12831-12838. doi: 10.1523/jneurosci.3177-09.2009
- Pérez-Ruiz, C., & Prado-Alcalá, R. A. (1989). Retrograde amnesia induced by lidocaine injection into the striatum: Protective effect of the negative reinforcer. *Brain Research Bulletin*, 22(4), 599-603. doi: 10.1016/0361-9230(89)90076-2
- Prager, E. M., & Johnson, L. R. (2009). Stress at the synapse: Signal transduction mechanisms of adrenal steroids at neuronal membranes. *Science Signaling*, 2(86), re5. doi: 10.1126/scisignal.286re5
- 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. doi: 10.1101/lm.1493609
- 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. doi: 10.1073/pnas.94.25.14048
- Rademacher, D. J., Meier, S. E., Shi, L., Vanessa Ho, W. S., Jarrahan, A., & Hillard, C. J. (2008). Effects of acute and repeated restraint stress on endocannabinoid content in the amygdala, ventral striatum, and medial prefrontal cortex in mice. *Neuropharmacology*, 54(1), 108-116. doi: 10.1016/j.neuropharm.2007.06.012
- Radley, J. J., Rocher, A. B., Miller, M., Janssen, W. G. M., Liston, C., Hof, P. R., . . . Morrison, J. H. (2006). Repeated stress induces dendritic spine loss in the rat medial prefrontal cortex. *Cerebral Cortex*, 16(3), 313-320. doi: 10.1093/cercor/bhi104
- Ragozzino, M. E., & Choi, D. (2004). Dynamic changes in acetylcholine output in the medial striatum during place reversal learning. *Learning & Memory*, 11(1), 70-77. doi: 10.1101/lm.65404
- 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. doi: 10.1210/endo-117-6-2505
- Richardson, J. D., Aanonsen, L., & Hargreaves, K. M. (1997). SR 141716A, a cannabinoid receptor antagonist, produces hyperalgesia in untreated mice. *European Journal of Pharmacology*, 319(2-3), R3-4. doi: 10.1016/S0014-2999(96)00952-1
- Riedemann, T., Patchev, A. V., Cho, K., & Almeida, O. F. (2010). Corticosteroids: Way upstream. *Molecular Brain*, 3, 2. doi: 10.1186/1756-6606-3-2
- Rooszendaal, B., McEwen, B. S., & Chattarji, S. (2009). Stress, memory and the amygdala. *Nature Reviews Neuroscience*, 10(6), 423-433. doi: 10.1038/nrn2651
- Rooszendaal, B., & McGaugh, J. L. (1997). Basolateral amygdala lesions block the memory-enhancing effect of glucocorticoid administration in the dorsal hippocampus of rats. *European Journal of Neuroscience*, 9(1), 76-83. doi: 10.1111/j.1460-9568.1997.tb01355.x
- Rooszendaal, B., & McGaugh, J. L. (2011). Memory modulation. *Behavioral Neuroscience*, 125(6), 797-824. doi: 10.1037/a0026187
- Rooszendaal, 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. doi: 10.1073/pnas.96.20.11642
- Rossi, S., De Chiara, V., Musella, A., Kusayanagi, H., Mataluni, G., Bernardi, G., . . . Centonze, D. (2008). Chronic psychoemotional stress impairs cannabinoid-receptor-mediated control of gaba transmission in the striatum. *The Journal of Neuroscience*, 28(29), 7284-7292. doi: 10.1523/jneurosci.5346-07.2008
- Rossi, S., De Chiara, V., Musella, A., Mataluni, G., Sacchetti, L., Bernardi, G., . . . Centonze, D. (2009). Adaptations of striatal endocannabinoid system during stress. *Molecular Neurobiology*, 39(3), 178-184. doi: 10.1007/s12035-009-8061-4
- Rossi, S., De Chiara, V., Musella, A., Sacchetti, L., Cantarella, C., Castelli, M., . . . Centonze, D. (2010). Preservation of striatal cannabinoid CB1 receptor

- function correlates with the antianxiety effects of fatty acid amide hydrolase inhibition. *Molecular Pharmacology*, 78(2), 260-268. doi: 10.1124/mol.110.064196
- Rueda-Orozco, P. E., Montes-Rodriguez, C. J., Soria-Gomez, E., Méndez-Díaz, M., & Prospéro-García, O. (2008). Impairment of endocannabinoids activity in the dorsolateral striatum delays extinction of behavior in a procedural memory task in rats. *Neuropharmacology*, 55(1), 55-62. doi: 10.1016/j.neuropharm.2008.04.013
- Rueda-Orozco, P. E., & Robbe, D. (2015). The striatum multiplexes contextual and kinematic information to constrain motor habits execution. *Nature Neuroscience*, 18(3), 453-460. doi: 10.1038/nn.3924
- Salzet, M., Breton, C., Bisogno, T., & Di Marzo, V. (2000). Comparative biology of the endocannabinoid system possible role in the immune response. *European Journal of Biochemistry*, 267(16), 4917-4927. doi: 10.1046/j.1432-1327.2000.01550.x
- Sanchez-Resendis, O., Medina, A. C., Serafin, N., Prado-Alcalá, R. A., Roozendaal, B., & Quirarte, G. L. (2012). Glucocorticoid-cholinergic interactions in the dorsal striatum in memory consolidation of inhibitory avoidance training. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 6, 33. doi: 10.3389/fnbeh.2012.00033
- Sandi, C. (2003). Implicacion de los glucocorticoides en la consolidacion de la memoria. *Revista de Neurologia*, 37(9), 843-848.
- Sandi, C. (2011). Glucocorticoids act on glutamatergic pathways to affect memory processes. *Trends in Neurosciences*, 34(4), 165-176. doi: 10.1016/j.tins.2011.01.006
- Sandi, C. (2013). Stress and cognition. *Wiley interdisciplinary reviews. Cognitive science*, 4(3), 245-261. doi: 10.1002/wcs.1222
- Sandi, C., Loscertales, M., & Guaza, C. (1997). Experience-dependent facilitating effect of corticosterone on spatial memory formation in the water maze. *European Journal of Neuroscience*, 9(4), 637-642. doi: 10.1111/j.1460-9568.1997.tb01412.x
- Santucci, V., Storme, J. J., Soubrie, P., & Le Fur, G. (1996). Arousal-enhancing properties of the CB1 cannabinoid receptor antagonist SR 141716A in rats as assessed by electroencephalographic spectral and sleep-waking cycle analysis. *Life Sciences*, 58(6), PL103-110. doi: 10.1016/0024-3205(95)02319-4
- Schwabe, L., Schachinger, H., de Kloet, E. R., & Oitzl, M. S. (2010). Corticosteroids operate as a switch between memory systems. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 22(7), 1362-1372. doi: 10.1162/jocn.2009.21278
- Schwabe, L., Tegenthoff, M., Höffken, O., & Wolf, O. T. (2013). Mineralocorticoid receptor blockade prevents stress-induced modulation of multiple memory systems in the human brain. *Biological Psychiatry*, 74(11), 801-808. doi: 10.1016/j.biopsych.2013.06.001
- Schwabe, L., & Wolf, O. T. (2009). Stress prompts habit behavior in humans. *The Journal of Neuroscience*, 29(22), 7191-7198. doi: 10.1523/jneurosci.0979-09.2009

- Schwabe, L., & Wolf, O. T. (2011). Stress-induced modulation of instrumental behavior: From goal-directed to habitual control of action. *Behavioural Brain Research*, 219(2), 321-328. doi: 10.1016/j.bbr.2010.12.038
- Schwabe, L., & Wolf, O. T. (2012). Stress modulates the engagement of multiple memory systems in classification learning. *The Journal of Neuroscience*, 32(32), 11042-11049. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1484-12.2012
- Schwabe, L., & Wolf, O. T. (2013). Stress and multiple memory systems: From 'thinking' to 'doing'. *Trends in Cognitive Sciences*, 17(2), 68. doi: 10.1016/j.tics.2012.12.001
- Sharp, P. E. (2005). Regional distribution and variation in the firing properties of head direction cells. En S. Wiener & J. F. Taube (Eds.), *Head direction cells and the neural mechanisms of spatial orientation*. (pp. 3-15). Cambridge, Massachusetts: The MIT Press
- Shields, G. S., Sazma, M. A., & Yonelinas, A. P. (2016). The effects of acute stress on core executive functions: A meta-analysis and comparison with cortisol. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 68, 651-668. doi: 10.1016/j.neubiorev.2016.06.038
- Siller-Pérez, C., Serafín, N., Prado-Alcalá, R. A., Roozendaal, B., & Quirarte, G. L. (2017). Glucocorticoid administration into the dorsolateral but not dorsomedial striatum accelerates the shift from a spatial toward procedural memory. *Neurobiology of Learning and Memory*, 141, 124-133. doi: 10.1016/j.nlm.2017.03.020
- Tasker, J. G. (2006). Rapid glucocorticoid actions in the hypothalamus as a mechanism of homeostatic integration. *Obesity*, 14(S8), 259S-265S. doi: 10.1038/oby.2006.320
- Taylor, S. B., Anglin, J. M., Paode, P. R., Riggert, A. G., Olive, M. F., & Conrad, C. D. (2014). Chronic stress may facilitate the recruitment of habit- and addiction-related neurocircuitries through neuronal restructuring of the striatum. *Neuroscience*, 280, 231-242. doi: 10.1016/j.neuroscience.2014.09.029
- Tepper, J. M., & Plenz, D. (2008). Microcircuits in the striatum striatal cell types and their interaction. En S. Grilner & M. A. Graybiel (Eds.), *Microcircuits: The interface between neurons and global brain function*. (pp. 105- 126). Cambridge, MA: MIT Press.
- Tolman, E. C. (1948). Cognitive maps in rats and men. *Psychological Review*, 55(4), 189-208. doi: 10.1037/h0061626
- Tse, Y. C., Bagot, R. C., & Wong, T. P. (2012). Dynamic regulation of NMDAR function in the adult brain by the stress hormone corticosterone. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 6, 9. doi: 10.3389/fncel.2012.00009
- Uchoa, E. T., Aguilera, G., Herman, J. P., Fiedler, J. L., Deak, T., & de Sousa, M. B. C. (2014). Novel aspects of glucocorticoid actions. *Journal of Neuroendocrinology*, 26(9), 557-572. doi: 10.1111/jne.12157
- Van Sickle, M. D., Duncan, M., Kingsley, P. J., Mouihate, A., Urbani, P., Mackie, K., . . . Sharkey, K. A. (2005). Identification and functional characterization of brainstem cannabinoid CB2 receptors. *Science*, 310(5746), 329-332. doi: 10.1126/science.1115740

- Van Waes, V., Beverley, J. A., Siman, H., Tseng, K. Y., & Steiner, H. (2012). CB1 Cannabinoid receptor expression in the striatum: Association with corticostriatal circuits and developmental regulation. *Frontiers in Pharmacology*, 3, 21. doi: 10.3389/fphar.2012.00021
- Vogel, S., Fernandez, G., Joels, M., & Schwabe, L. (2016). Cognitive adaptation under stress: A case for the mineralocorticoid receptor. *Trends in Cognitive Sciences*, 20(3), 192-203. doi: 10.1016/j.tics.2015.12.003
- Voorn, P., Vanderschuren, L., Groenewegen, H. J., Robbins, T. W., & Pennartz, C. M. A. (2004). Putting a spin on the dorsal-ventral divide of the striatum. *Trends in Neurosciences*, 27(8), 468-474. doi: 10.1016/j.tins.2004.06.006
- Vyas, A., Mitra, R., Shankaranarayana Rao, B. S., & Chattarji, S. (2002). Chronic stress induces contrasting patterns of dendritic remodeling in hippocampal and amygdaloid neurons. *The Journal of Neuroscience*, 22(15), 6810-6818.
- Walker, J. M., & Huang, S. M. (2002). Endocannabinoids in pain modulation. *Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids*, 66(2-3), 235-242. doi: 10.1054/plef.2001.0361
- Wang, H., Hu, Y., & Tsien, J. Z. (2006). Molecular and systems mechanisms of memory consolidation and storage. *Progress in Neurobiology*. <http://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2006.06.004>
- 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. doi: 10.1006/nlme.2001.4008
- Wiener, S. I. (1993). Spatial and behavioral correlates of striatal neurons in rats performing a self-initiated navigation task. *The Journal of Neuroscience*, 13(9), 3802-3817.
- Xiao, L., Feng, C., & Chen, Y. (2010). Glucocorticoid rapidly enhances NMDA-evoked neurotoxicity by attenuating the NR2A-containing NMDA receptor-mediated ERK1/2 activation. *Molecular Endocrinology*, 24(3), 497-510. doi: 10.1210/me.2009-0422
- Yin, H. H., & Knowlton, B. J. (2004). Contributions of striatal subregions to place and response learning. *Learning & Memory*, 11(4), 459-463. doi: 10.1101/lm.81004
- Yin, H. H., Knowlton, B. J., & Balleine, B. W. (2004). Lesions of dorsolateral striatum preserve outcome expectancy but disrupt habit formation in instrumental learning. *The European Journal of Neuroscience*, 19(1), 181-189. doi: 10.1111/j.1460-9568.2004.03095.x
- Yin, H. H., Knowlton, B. J., & Balleine, B. W. (2006). Inactivation of dorsolateral striatum enhances sensitivity to changes in the action-outcome contingency in instrumental conditioning. *Behavioural Brain Research*, 166(2), 189-196. doi: 10.1016/j.bbr.2005.07.012
- Yin, H. H., Mulcare, S. P., Hilario, M. R. F., Clouse, E., Holloway, T., Davis, M. I., . . . Costa, R. M. (2009). Dynamic reorganization of striatal circuits during the acquisition and consolidation of a skill. *Nature Neuroscience*, 12(3), 333-341. doi: 10.1038/nn.2261
- Yongue, B. G., & Roy, E. J. (1987). Endogenous aldosterone and corticosterone in brain cell nuclei of adrenal-intact rats: Regional distribution and effects of

- physiological variations in serum steroids. *Brain Research*, 436(1), 49-61. doi: 10.1016/0006-8993(87)91555-1
- Yuen, E. Y., Liu, W., Karatsoreos, I. N., Feng, J., McEwen, B. S., & Yan, Z. (2009). Acute stress enhances glutamatergic transmission in prefrontal cortex and facilitates working memory. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(33), 14075-14079. doi: 10.1073/pnas.0906791106
- Zheng, G., Zhang, X., Chen, Y., Zhang, Y., Luo, W., & Chen, J. (2007). Evidence for a role of GABAA receptor in the acute restraint stress-induced enhancement of spatial memory. *Brain Research*, 1181, 61-73. doi: 10.1016/j.brainres.2007.08.077

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1 Grupos independientes de ratas que se formaron según la combinación de tratamientos utilizados en el Experimento 3	52
Tabla 2 Grupos independientes de ratas que se formaron según la combinación de tratamientos utilizados en el Experimento 4	53
Tabla 3 Grupos independientes de ratas que se formaron según la combinación de tratamientos utilizados en el Experimento 5	53
Tabla 4 Número de ratas que fueron aprendices por lugar o aprendices por respuesta en la Prueba 1 realizada en el Día 6 y en la Prueba 2 evaluada en el Día 14 y que recibieron los tratamientos en el EDL	58
Tabla 5 Número de ratas que fueron aprendices por lugar o aprendices por respuesta en la Prueba 1 realizada en el Día 6 y en la Prueba 2 evaluada en el Día 14 y que recibieron los tratamientos VEH (vehículo) o CORT (corticosterona) en las dosis de 10 o 30 ng, en el EDM	61
Figura 1. El concepto del procesamiento en paralelo.....	15
Figura 2. Modelo propuesto por Hill & McEwen (2009) del papel del sistema endocannabinoide en la amígdala basolateral en la mediación de los efectos de los glucocorticoides en la liberación de la norepinefrina que regula la consolidación de la memoria	37
Figura 3. Fotomicrografías representativas de la ubicación de las puntas de las cánulas en el EDL, EDM y el EAD.....	45
Figura 4. Representación esquemática del protocolo conductual.....	48
Figura 5. Cámara de evitación inhibitoria.	50
Figura 6. Representación esquemática del protocolo conductual.....	52
Figura 7. Efecto de la administración de corticosterona (CORT) en el estriado dorsolateral (EDL) en los días de entrenamiento 2-5.	57
Figura 8. Efecto de la administración de corticosterona (CORT) en el estriado dorsolateral (EDM) en los días de entrenamiento 2-5.	60
Figura 9. Efecto de la administración sistémica (3 mg/kg, i. p.) de corticosterona (CORT) y del antagonista de receptores CB1 AM251 (0.28 ng/μl) en el estriado inmediatamente después del entrenamiento en la tarea de evitación inhibitoria.....	62
Figura 10. Efecto de la administración de 10 o 30 ng/0.5 μl de corticosterona (CORT) y del antagonista de receptores CB1 AM251 (0.28 ng/0.5 μl) en conjunto con 10 ng de CORT (0.5 μl) en el estriado después del entrenamiento en la tarea de evitación inhibitoria... ..	65
Figura 11. Efecto de la administración de 5 o 10 ng/0.5 μl de corticosterona conjugada con la proteína impermeable a la membrana celular BSA (CORT:BSA) y del antagonista de receptores CB1 AM251 (0.28 ng/0.5 μl) en conjunto con 10 ng de CORT:BSA (0.5 μl) en el estriado después del entrenamiento en la tarea de evitación inhibitoria.....	67

APÉNDICE: Publicación como primer autor en una revista internacional indizada

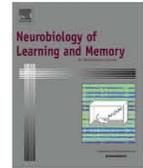
Neurobiology of Learning and Memory 141 (2017) 124–133



Contents lists available at ScienceDirect

Neurobiology of Learning and Memory

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ynlme



Glucocorticoid administration into the dorsolateral but not dorsomedial striatum accelerates the shift from a spatial toward procedural memory



Cristina Siller-Pérez^a, Norma Serafin^a, Roberto A. Prado-Alcalá^a, Benno Roozendaal^{b,c}, Gina L. Quirarte^{a,*}

^a Departamento de Neurobiología Conductual y Cognitiva, Instituto de Neurobiología, UNAM Campus Juriquilla, Querétaro, Qro., Mexico

^b Department of Cognitive Neuroscience, Radboud University Medical Center, Nijmegen, The Netherlands

^c Donders Institute for Brain, Cognition and Behaviour, Radboud University Nijmegen, Nijmegen, The Netherlands

ARTICLE INFO

Article history:

Received 27 June 2016
Revised 27 March 2017
Accepted 29 March 2017
Available online 30 March 2017

Keywords:

Dorsal striatum
Habit learning
Glucocorticoids
Memory consolidation
Memory systems
Behavioral switch

ABSTRACT

Glucocorticoid stress hormones are known to enhance the consolidation of hippocampus-dependent spatial and contextual memory. Recent findings indicate that glucocorticoids also enhance the consolidation of procedural memory that relies on the dorsal striatum. The dorsal striatum can be functionally subdivided into the dorsolateral striatum (DLS), which is primarily implicated in shaping procedural memories, and the dorsomedial striatum (DMS), which is engaged in spatial memory. Here, we investigated the hypothesis that posttraining glucocorticoid administration into the DLS promotes the formation of a procedural memory that will normally take place only with extensive training. Male Wistar rats were trained to find a reward in a cross maze that can be solved through either place or response learning. Rats received four trials per day for 5 days, a probe trial on Day 6, further training on Days 7–13, and an additional probe trial on Day 14. On Days 2–4 of training, they received posttraining infusions of corticosterone (10 or 30 ng) or vehicle into either the DLS or DMS. Rats treated with vehicle into either the DLS or DMS displayed place learning on Day 6 and response learning on Day 14, indicating a shift in control of learned behavior toward a habit-like procedural strategy with extended training. Rats administered corticosterone (10 ng) into the DLS displayed response learning on both Days 6 and 14, indicating an accelerated shift to response learning. In contrast, corticosterone administered posttraining into the DMS did not significantly alter the shift from place to response learning. These findings indicate that glucocorticoid administration into the DLS enhances memory consolidation of procedural learning and thereby influences the timing of the switch from the use of spatial/contextual memory to habit-like procedural memory to guide behavior.

© 2017 Elsevier Inc. All rights reserved.

1. Introduction

Stressful and emotionally arousing experiences are typically well retained, and it seems certainly highly adaptive to remember both dangerous and favorable situations (Joëls & Baram, 2009; Roozendaal & McGaugh, 2011). In these conditions, it is important to create strong memories of space, location, context, and stimulus-stimulus associations that all depend on the hippocampus, as well as to build skills or procedures leading to habits and stimulus-response associations that are encoded by other memory systems (White & McDonald, 2002). Extensive evidence indicates

that the glucocorticoid hormones cortisol (in humans) and corticosterone (in rats) are crucially involved in mediating the facilitating effects of stress and emotional arousal on the consolidation of memory processing (Gaikwad et al., 2011; Roozendaal, 2000; Roozendaal, McEwen, & Chattarji, 2009; Roozendaal et al., 2010; Sandi & Rose, 1994; Schwabe, Joëls, Roozendaal, Wolf, & Oitzl, 2012; Schwabe & Wolf, 2010). Although most studies investigating the effects of glucocorticoids on memory consolidation have focused on their influence on hippocampal function and memory (Chaouloff & Groc, 2011; Cordero & Sandi, 1998; Lupien & Lepage, 2001; Roozendaal & McGaugh, 1997; Sandi, Loscertales, & Guaza, 1997; Schwabe, Bohringer, & Wolf, 2009; Schwabe, Romer, et al., 2009; Schwabe & Wolf, 2009; Schwabe & Wolf, 2012; Smeets, Giesbrecht, Jelicic, & Merckelbach, 2007), there is now accumulating evidence indicating that stress and glucocorticoids also influence the processing of non-hippocampal information (Atsak et al., 2016; Schwabe & Wolf, 2009; Schwabe & Wolf,

* Corresponding author at: Departamento de Neurobiología Conductual y Cognitiva, Instituto de Neurobiología, UNAM Campus Juriquilla, Boulevard Juriquilla, 3001, Querétaro, Qro. 76230, Mexico.

E-mail addresses: cristinasiller@gmail.com (C. Siller-Pérez), nserafin@unam.mx (N. Serafin), prado@unam.mx (R.A. Prado-Alcalá), Benno.Roozendaal@radboudumc.nl (B. Roozendaal), ginaqui@unam.mx (G.L. Quirarte).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.nlm.2017.03.020>
1074-7427/© 2017 Elsevier Inc. All rights reserved.

2012). Recent findings indicate that during stressful conditions both rodents and humans show a tendency to bias or prompt from a hippocampus-dependent spatial strategy to a striatum-dependent procedural-like strategy (Guenzel, Wolf, & Schwabe, 2014; Schwabe, Schachinger, de Kloet, & Oitzl, 2010). We previously reported that posttraining infusions of corticosterone into the dorsal striatum of rats enhanced the consolidation of inhibitory avoidance memory (Medina et al., 2007). Similarly, intra-striatal administration of corticosterone enhanced memory consolidation of cued training in a water maze, whereas it did not affect memory of spatial training (Quirarte et al., 2009). In the cued task, rats are trained to use a procedural-like strategy based on stimulus-response associations to swim to a visible cue mounted on a platform, which is placed in a different spatial location on each trial. These findings thus provide evidence of direct actions of glucocorticoids within the dorsal striatum in enhancing memory consolidation of procedural learning.

Procedural memory refers to memory for knowing how to do something and is non-accessible to awareness knowledge, manifested only through performance of a task and is built up gradually and incrementally with practice (Knowlton & Greenberg, 2008). It is known that procedural memories rely heavily on the dorsal striatum (Devan & White, 1999; Jog, Kubota, Connolly, Hillegaart, & Graybiel, 1999; McDonald & White, 1994; Mishkin, Malamut, & Bachevalier, 1984; Packard & Knowlton, 2002; Saint-Cyr, Taylor, & Lang, 1988). The dorsal striatum can be divided into several functionally distinct sub-regions (Yin & Knowlton, 2004). The dorsolateral striatum (DLS) is engaged in processing procedural memory, whereas the dorsomedial striatum (DMS) is primarily involved in spatial-contextual processing (Liljeholm & O'Doherty, 2012; Voorn, Vanderschuren, Groenewegen, Robbins, & Pennartz, 2004; Yin et al., 2009). Lesion and inactivation studies of the DLS have shown impairments in habit formation and, in parallel, an enhancement in the ability to detect changes in action-outcome contingencies (Packard & McGaugh, 1996; Yin, Knowlton, & Balleine, 2004; Yin, Knowlton, & Balleine, 2006). Furthermore, interfering with glutamatergic activity of the DLS impairs the acquisition of procedural learning (Palencia & Ragozzino, 2005). On the other hand, lesions of the DMS delay the onset of spatial learning (Lee, André, & Pittenger, 2014), and temporary inactivation of the DMS impairs reversal learning on a spatial task without affecting the initial learning (Ragozzino & Choi, 2004). Consistent with these findings, we recently reported that corticosterone administered selectively into the DMS enhanced memory consolidation of spatial, but not cued, water-maze training (Lozano, Serafin, Prado-Alcalá, Roozendaal, & Quirarte, 2013).

In the present study, we investigated the effect of corticosterone administration into the DLS and DMS on memory consolidation in a dual-solution task in a cross maze that could be solved by either a procedural or spatial strategy. By training rats to find a reward at a fixed location in a cross maze, at earlier phases of acquisition a place strategy is shaped, which is encoded by the hippocampus and DMS (Pennartz et al., 2009; Ragozzino & Choi, 2004; Yin & Knowlton, 2004). After extensive training, a shift occurs to a complimentary mechanism based on a more habit-like response strategy operated by the DLS (Barnes, Kubota, Hu, Jin, & Graybiel, 2005; Packard & McGaugh, 1996). A previous study reported that glutamate administered posttraining into the hippocampus during an early stage of training promoted the persistent use of a place strategy, whereas similar infusions into the dorsal striatum, not explicitly differentiating between the DLS and DMS, facilitated the expression of a response strategy (Packard, 1999). Here, we examined the effect of posttraining corticosterone infusions administered into either the DLS or DMS during an early phase of training on the relative use of a place and response strategy. We predicted that corticosterone administered into the DLS would

enhance the consolidation of procedural memory and thereby accelerate the switch toward a response strategy, whereas corticosterone infused into the DMS would facilitate spatial memory which might attenuate the shift to a response strategy seen with extended training.

2. Methods

2.1. Subjects

Male adult Wistar rats ($n = 171$, eight weeks old, weighing 250–350 g at the time of surgery) were obtained from the breeding colony at the Instituto de Neurobiología, Universidad Nacional Autónoma de México. They were housed individually in transparent acrylic cages at a room temperature of 22 °C and a 12-h:12-h light:dark cycle (lights on from 7:00 to 19:00 h). Food was available *ad libitum* until food restriction commenced, and water was available in the home cage throughout the experiment. All experimental procedures were in compliance with the NIH Guide for Care and Use of Laboratory Animals (National Research Council, 2011) and were approved by the Ethics Committee of the Instituto de Neurobiología.

2.2. Surgery

After an acclimatization period of at least 1 week, rats received surgical implantation of bilateral cannulae aimed at either the DLS or DMS. They were first injected with atropine (PiSa, 0.4 mg/kg, ip) to prevent respiratory tract obstruction and maintain breathing, followed by sodium pentobarbital (Pisabarbital 50 mg/kg, ip) to induce anesthesia. Subsequently, 2 ml of isotonic saline was injected subcutaneously to prevent dehydration and facilitate clearance of the drugs. The rats were positioned in a stereotaxic frame (Stoelting Co, Illinois) with an incisor bar, and stainless-steel guide cannulae (11 mm, 23 gauge) were implanted bilaterally with the cannula tips aimed at either the DLS [coordinates: anteroposterior (AP): +0.7 mm to Bregma, mediolateral (ML): ± 3.6 mm to midline, dorsoventral (DV): 4.0 mm below skull surface] or the DMS [coordinates: AP: +0.7 mm, ML: ± 2.6 mm, DV: -4.0 mm], according to the atlas of Paxinos and Watson (2007). The cannulae were anchored to the skull with two jeweler's screws and dental acrylic. Stylets (11 mm long) were inserted into each cannula to maintain patency and were removed only during the handling sessions ("dummy injections") and drug administrations. After surgery, the rats were allowed to recover from anesthesia in an incubator until they were fully awake and were then returned to their home cages. They were allowed 1 week to recover before initiation of behavioral procedures.

2.3. Behavioral procedures

2.3.1. Apparatus

The apparatus was a wooden cross maze painted flat gray. The four identical arms (north, south, east and west) measured 16.5 cm wide \times 22 cm high \times 80 cm long with a recessed food well present at the end of each arm. The maze was located in a dimly illuminated room and surrounded by black curtains hanging from the ceiling to the floor. There were several extramaze cues attached to the curtains such as a black-and-white circle pattern (35 cm diameter), a poster (90 \times 120 cm), a green star figure (25 cm high) and a cyan triangle framed by a white rectangle (40 \times 35 cm). The experimenter was also considered an extramaze cue, so she remained at the same location for all training and test trials.

2.3.2. Food restriction and habituation

One week before the behavioral procedures started, food intake was gradually reduced until the rats reached a body weight of 85% of *ad libitum* body weights and were maintained on this condition throughout the experiment. Animals were fed daily at 18:00 h (one hour before the lights were turned off) to reduce a disruption of the circadian hypothalamus-pituitary-adrenal-axis rhythm and the release of endogenous corticosterone caused by the food restriction (Gallo & Weinberg, 1981). Rats were handled for 3–5 min for three consecutive days before the initiation of behavioral procedures. The highly palatable sugar pills (11 mg each; Similia, México) that were used as reward were presented at the rat's home cage for two days (10 pills each day) prior to habituation.

On two consecutive days, the rats were placed in the start arm (south) of the cross maze and allowed to freely explore the maze for 5 min. No reward was present in the maze on either of these two habituation days. Access to the north arm was blocked during the habituation sessions and the subsequent rewarded training trials. During the habituation sessions, entries into each arm were recorded. If an animal exhibited a preference for a particular arm, then to prevent bias, the rat was rewarded for entering the opposite arm.

2.3.3. Training and probe trial procedures

The behavioral training and test procedures were based on Packard and McGaugh (1996) with some modifications. Fig. 1 shows a timeline of the experimental design. Rats were semi-randomly assigned to the different drug treatment groups (vehicle, 10 or 30 ng corticosterone) such that for each group half of the rats were rewarded on the west arm and the other half on the east arm. On each trial, rats were placed into the start arm (south) and allowed to explore the maze and consume a single sugar pill located consistently in the food well at the end of the goal arm (east or west arm). Only during the initial trial, a track of four pills was placed along the goal arm. Each rat received four rewarded tri-

als per day. Entries into the rewarded arm during the training trials were scored as correct responses and entries into the non-rewarded arm were scored as incorrect responses. After the reward was eaten or if a rat failed to consume it within 2 min, the trial was terminated and the rat was placed in a holding cage behind the curtain for a 45-s inter-trial interval. The apparatus was cleaned with 1% acetic acid after each trial. Days 1–5 of training were considered as a limited training phase. Drug or control infusions were given immediately after the last training trial on Days 2, 3, and 4.

On Day 6, after the first 5 days of training, a single probe trial was given. On the probe trial, rats were placed into the start arm opposite to that used during training (i.e., north) and were allowed to make a single entry into either the originally rewarded or non-rewarded arm. The entrance to the south arm (i.e., the arm containing the start box during training) was blocked on the probe trial. Animals entering the arm where the reward had been located were designated “place learners” (i.e., animals going to the place where the reward was located during training), and animals entering the non-rewarded arm on the test trial were denominated “response learners” (i.e., animals making the same turning response as during training). No reward was present on the probe trial.

On Days 7–13, rewarded training (four trials per day) was reinstated using procedures identical to those on training Days 1–5. These additional training days were considered the extended training phase (Packard & McGaugh, 1996). On Day 14, a second probe trial was given and animals were again allowed to make a single entry into either the originally rewarded or non-rewarded arm.

2.4. Local drug administration

Corticosterone (10 or 30 ng in 0.5 μ l; Sigma–Aldrich) was first dissolved in 100% ethanol and subsequently diluted in sterile isotonic saline to reach the appropriate concentration. The final ethanol concentration was 2%. Drug or an equivalent volume of vehicle (2% ethanol in saline only) was administered bilaterally into the

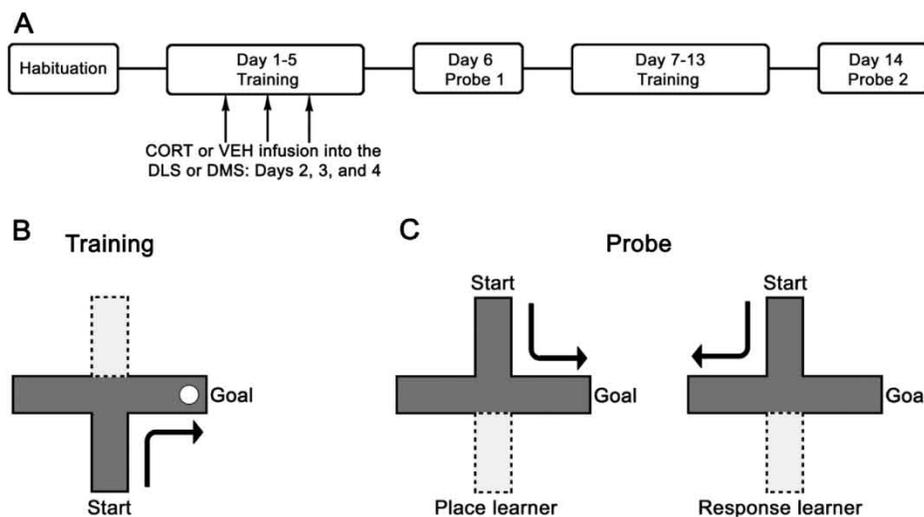


Fig. 1. Schematic representation of the experimental design. (A) Timeline of the experiment. Rats were first habituated to the apparatus on two consecutive days. On Days 1–5, they were trained on the cross maze, four trials per day, followed by immediate posttraining administration of vehicle or corticosterone (10 or 30 ng) into the dorsolateral (DLS) or dorsomedial striatum (DMS) on Days 2, 3, and 4, indicated by arrows. On Day 6, rats were given a first test trial (Probe 1). Rats received continued training on Days 7–13; and, finally, a second test trial (Probe 2) was given on Day 14. (B) Schematic representation of maze and reward location during training. On the training trials, rats were always placed in the south arm (start position) and were rewarded for entering the goal arm, which was kept consistent across training. (C) On the probe trials, rats were placed into the start arm that was opposite to that used during training (north) and were allowed to make a single entry into either the previously rewarded or non-rewarded arm. Rats going to the place where the reward had been located during training were designated “place learners”. Rats making the same body turn response as during training were designated “response learners”.

DLS or DMS immediately after the fourth trial on Days 2, 3, and 4 (i.e., each rat received three identical infusions) via 30-gauge injection needles connected to 10- μ l Hamilton microsyringes by polyethylene tubing. The injection needles protruded 1.0 mm beyond the cannula tips and a 0.5 μ l injection volume per hemisphere was infused over a period of 60 s by an automated syringe pump (WPI, model 220i). The injection needles were retained within the cannulae for an additional 60 s to maximize diffusion and to prevent backflow of drug into the cannulae. Drug doses and the infusion volume were based on previous findings from our laboratory (Lozano et al., 2013; Sanchez-Resendis et al., 2012). All drug solutions were freshly prepared before each experiment.

2.5. Histology

After completion of behavioral testing, the rats were deeply anesthetized with sodium pentobarbital (100 mg/kg, ip) and perfused transcardially with 0.9% saline followed by 4% formaldehyde. The brains were removed and stored in 4% formaldehyde. Coronal sections of 50 μ m were cut on a cryostat, mounted on gelatin-coated glass slides and stained with the Nissl technique. Injection needle placement was examined under a light microscope by an observer blind to drug treatment condition. Seven and eight rats

with injection needle placements outside the borders of the DLS or DMS, respectively, were excluded from statistical analyses. Fig. 2 shows the injection needle tip placements in the DLS and DMS from all rats included in the analyses.

2.6. Statistics

Entrance latencies and the number of errors during training averaged per day (mean \pm SEM) were analyzed with a two-way repeated-measures ANOVA with drug treatment as between-subject factor and training day as repeated measure. Further analyses used Tukey *post hoc* comparison tests to determine the source of the detected significance, when appropriate. The probe trials were analyzed with a one-sided Chi-square test. In all cases, observed frequencies were compared to expected frequencies (0.5 for place and 0.5 for response category). Comparisons were made both within each treatment group as well as between the different treatment groups. Latencies and errors were analyzed with Sigma Plot 12.0 software and probe trial performance with the GraphPad 5.0 software. Statistical significance was set at $p \leq 0.05$. The number of rats per group is indicated in the figure legends.

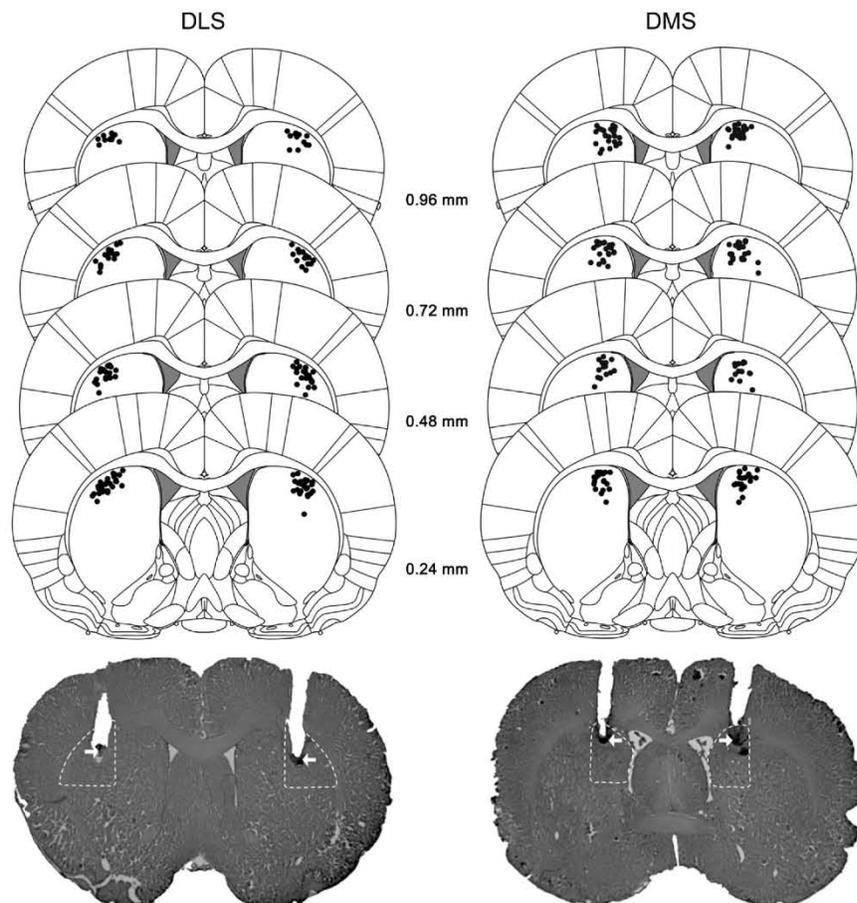


Fig. 2. The location of infusion needle tips in the dorsolateral (DLS) and dorsomedial striatum (DMS) of all rats included in the statistical analyses. Adapted from Paxinos and Watson (2007). The photomicrographs illustrate representative examples of infusion needle tips terminating within either the DLS or DMS. The arrows point to the needle tips. The dashed lines indicate the anatomical borders of the DLS and DMS.

DLS or DMS immediately after the fourth trial on Days 2, 3, and 4 (i.e., each rat received three identical infusions) via 30-gauge injection needles connected to 10- μ l Hamilton microsyringes by polyethylene tubing. The injection needles protruded 1.0 mm beyond the cannula tips and a 0.5 μ l injection volume per hemisphere was infused over a period of 60 s by an automated syringe pump (WPI, model 220i). The injection needles were retained within the cannulae for an additional 60 s to maximize diffusion and to prevent backflow of drug into the cannulae. Drug doses and the infusion volume were based on previous findings from our laboratory (Lozano et al., 2013; Sanchez-Resendis et al., 2012). All drug solutions were freshly prepared before each experiment.

2.5. Histology

After completion of behavioral testing, the rats were deeply anesthetized with sodium pentobarbital (100 mg/kg, ip) and perfused transcardially with 0.9% saline followed by 4% formaldehyde. The brains were removed and stored in 4% formaldehyde. Coronal sections of 50 μ m were cut on a cryostat, mounted on gelatin-coated glass slides and stained with the Nissl technique. Injection needle placement was examined under a light microscope by an observer blind to drug treatment condition. Seven and eight rats

with injection needle placements outside the borders of the DLS or DMS, respectively, were excluded from statistical analyses. Fig. 2 shows the injection needle tip placements in the DLS and DMS from all rats included in the analyses.

2.6. Statistics

Entrance latencies and the number of errors during training averaged per day (mean \pm SEM) were analyzed with a two-way repeated-measures ANOVA with drug treatment as between-subject factor and training day as repeated measure. Further analyses used Tukey *post hoc* comparison tests to determine the source of the detected significance, when appropriate. The probe trials were analyzed with a one-sided Chi-square test. In all cases, observed frequencies were compared to expected frequencies (0.5 for place and 0.5 for response category). Comparisons were made both within each treatment group as well as between the different treatment groups. Latencies and errors were analyzed with Sigma Plot 12.0 software and probe trial performance with the GraphPad 5.0 software. Statistical significance was set at $p \leq 0.05$. The number of rats per group is indicated in the figure legends.

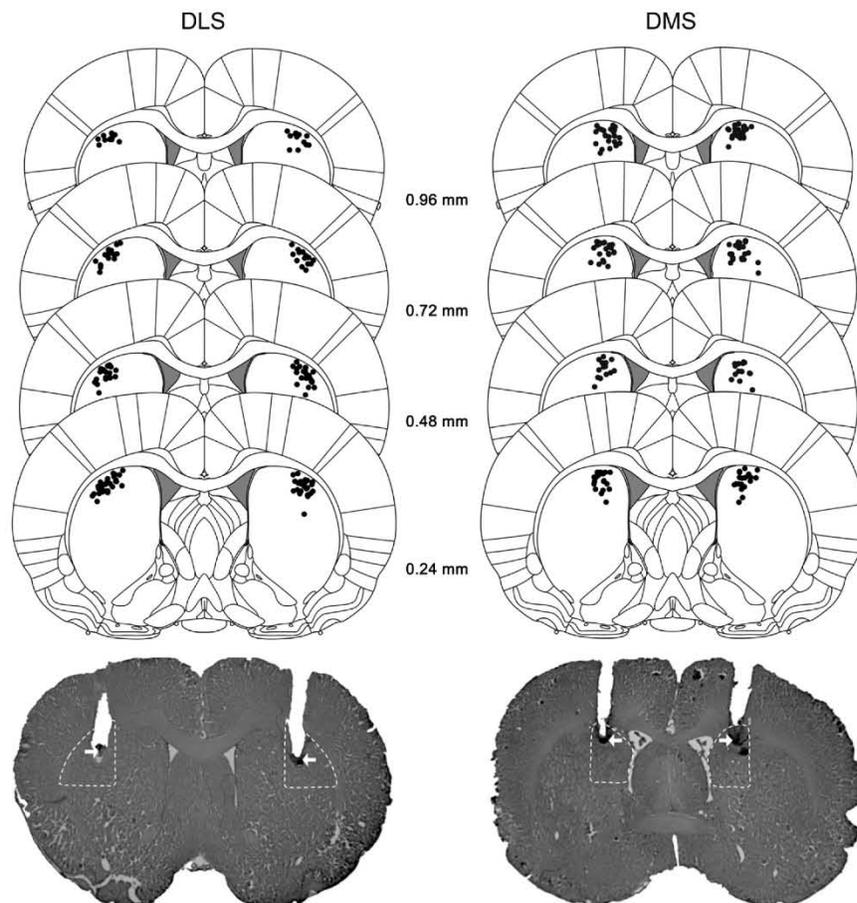


Fig. 2. The location of infusion needle tips in the dorsolateral (DLS) and dorsomedial striatum (DMS) of all rats included in the statistical analyses. Adapted from Paxinos and Watson (2007). The photomicrographs illustrate representative examples of infusion needle tips terminating within either the DLS or DMS. The arrows point to the needle tips. The dashed lines indicate the anatomical borders of the DLS and DMS.

mance of rats administered the lower dose of corticosterone was significantly different from that of rats given vehicle ($X^2 = 17.33$, $p < 0.001$) or the higher dose of corticosterone ($X^2 = 9.43$, $p < 0.01$). Probe trial performance of rats given the higher dose of corticosterone did not differ significantly from that of vehicle-treated rats ($X^2 = 1.56$, $p = 0.11$). These findings thus indicate that posttraining administration of corticosterone into the DLS dose-dependently biased rats to display response learning.

On the Day 14 probe trial (Fig. 3D), rats previously given post-training infusions of vehicle into the DLS were predominantly response learners (20 and 6, response and place, respectively; $X^2 = 4.06$, $p < 0.05$). These findings considered together with the results of the first probe trial indicate that with extended training vehicle-treated rats switched from displaying place learning toward response learning. Rats receiving posttraining infusions of the lower dose of corticosterone into the DLS also predominantly displayed response learning on Day 14 (20 and 6, response and place, respectively; $X^2 = 4.06$, $p < 0.05$), whereas rats receiving the higher dose of corticosterone did not show a statistically significant preference for a particular strategy (18 and 8, response and place, respectively; $X^2 = 1.99$, $p = 0.08$). Between-group comparisons did not reveal any significant differences in probe trial performance.

3.2. Corticosterone administration into the DMS during early stages of training does not change the use of a response or place strategy

Next, we investigated the effect of posttraining corticosterone infusions into the DMS on acquisition of the task and the relative use of a place or response strategy. Vehicle, corticosterone 10 or 30 ng were independent groups assigned with 26 rats each. Highly comparable to the findings of the first experiment, all groups improved performance across training days. Two-way repeated-measures ANOVA for mean entrance latency revealed no significant treatment effect ($F_{(2,825)} = 1.13$, $p = 0.33$; Fig. 4A), but a significant training day effect ($F_{(11,825)} = 73.90$, $p < 0.001$). Tukey *post hoc* tests indicated that latencies on Day 1 were significantly longer than those on the subsequent training days ($p < 0.001$). Similarly, two-way repeated-measures ANOVA for the mean number of errors indicated no significant treatment effect ($F_{(2,825)} = 1.50$, $p = 0.23$; Fig. 4B), but a significant training day effect ($F_{(11,825)} = 33.43$, $p < 0.001$). Tukey *post hoc* tests revealed that the mean number of errors on Day 1 was significantly higher than that on any of the subsequent training days ($p < 0.001$). These findings indicate that rats learned the task efficiently and that the post-training drug treatments did not alter the rate of task acquisition.

On the Day 6 probe trial (Fig. 4C), rats previously given post-training infusions of vehicle into the DMS were predominantly place learners (4 and 22, response and place, respectively; $X^2 = 7.08$, $p < 0.01$). Rats receiving 10 or 30 ng of corticosterone also showed a significant preference for displaying place learning (10 ng: 6 and 20, response and place respectively; $X^2 = 4.06$, $p < 0.05$; 30 ng: 7 and 19, response and place, respectively; $X^2 = 2.93$, $p < 0.05$). Between-group comparisons did not reveal any significant differences in probe trial performance. These findings indicate that, unlike DLS infusions, posttraining corticosterone infusions into the DMS did not induce a significant preference to display a response strategy.

On the Day 14 probe trial (Fig. 4D), rats previously given vehicle were predominantly response learners (21 and 5, response and place, respectively; $X^2 = 5.44$, $p < 0.01$). Rats administered either the lower or higher dose of corticosterone also showed a significant preference to use a response strategy (10 ng: 19 and 7, response and place, respectively; $X^2 = 2.93$, $p < 0.05$; 30 ng: 19 and 7, response and place, respectively; $X^2 = 2.93$, $p < 0.05$). Between-group comparisons did not reveal any significant differences in

probe trial performance. These findings indicate that with extended training all groups tend to switch from displaying place learning toward response learning.

4. Discussion

In this study, we investigated the effect of posttraining corticosterone administration into the DLS or DMS on memory consolidation in a dual-solution task that could be solved by using either a place or a response strategy. We found that rats receiving vehicle infusions into either the DLS or DMS shifted from using a place to a response strategy after extensive training. Corticosterone infusions into the DLS dose-dependently enhanced the early appearance of a response strategy and promoted the predominance of this strategy throughout the experiment. Consistent with prior evidence that glucocorticoids, like many other neuromodulatory compounds, induce inverted-U-shaped dose-response effects on memory (Okuda, Roozendaal, & McGaugh, 2004; Quirarte et al., 2009), the lower, but not higher, dose of corticosterone administered into the DLS enhanced procedural memory. In contrast, corticosterone infusions into the DMS appeared ineffective and did not modify the experience-dependent shift from place to response strategy. Corticosterone infusions into the DLS or DMS did not affect the rate of task acquisition *per se*. This latter finding is consistent with those of Packard (1999) indicating that glutamate infusions into the hippocampus and dorsal striatum also changed the relative use of a place vs response strategy without altering task acquisition. These findings thus indicate that glucocorticoid administration into the DLS, and not DMS, enhances the consolidation of a procedural memory with a positive reinforcement, and the consequent expression of a response strategy to guide behavior.

The formation of a strong habit memory requires a refined and efficient process that takes time and is acquired progressively. It is started by a hippocampus-dependent activity that provides the contextual and spatial components, and an extended network by recruiting the prefrontal cortex and the DMS that allows flexible goal-directed processing giving continuous updating to the animal when it is solving a task like the cross maze. Over time and after continuous repetitions, the animal appears to show a more inflexible habitual behavior which is strongly shaped by the DLS (Killcross & Coutureau, 2003; Packard, 2009; Packard & McGaugh, 1996; Yin & Knowlton, 2006). In an electrophysiological correlate, (Yin et al., 2009) reported that medium spiny neurons located in the DMS had an increased activity at the beginning of the acquisition of a skill, but were silenced during later phases of training corresponding to the procedural representation *per se*. By contrast, spiny neurons in the DLS were silenced at the beginning of training, but their firing rates increased when the skill became well performed.

In this study, we assessed how the glucocorticoid stress hormone corticosterone administered into either the DLS or DMS affects this time-dependent shift from spatial toward procedural learning. It is well known that glucocorticoids released by an emotionally arousing training experience or administered exogenously enhance the consolidation of memory (Roozendaal & McGaugh, 2011). There is abundant evidence that stress and glucocorticoids influence a variety of different memory systems, like the hippocampus, basolateral amygdala and several cortical regions (for reviews see: Kim, Pellman, & Kim, 2015; Kim, Song, & Kosten, 2006; Roozendaal & McGaugh, 2011; Roozendaal et al., 2009). Much less is known concerning stress and glucocorticoid effects on the dorsal striatum. The few studies that have examined the cellular effects of glucocorticoids on the dorsal striatum suggested that the striatum and hippocampus might be equally sensitive to the effects of stress and glucocorticoids. *In situ* hybridization

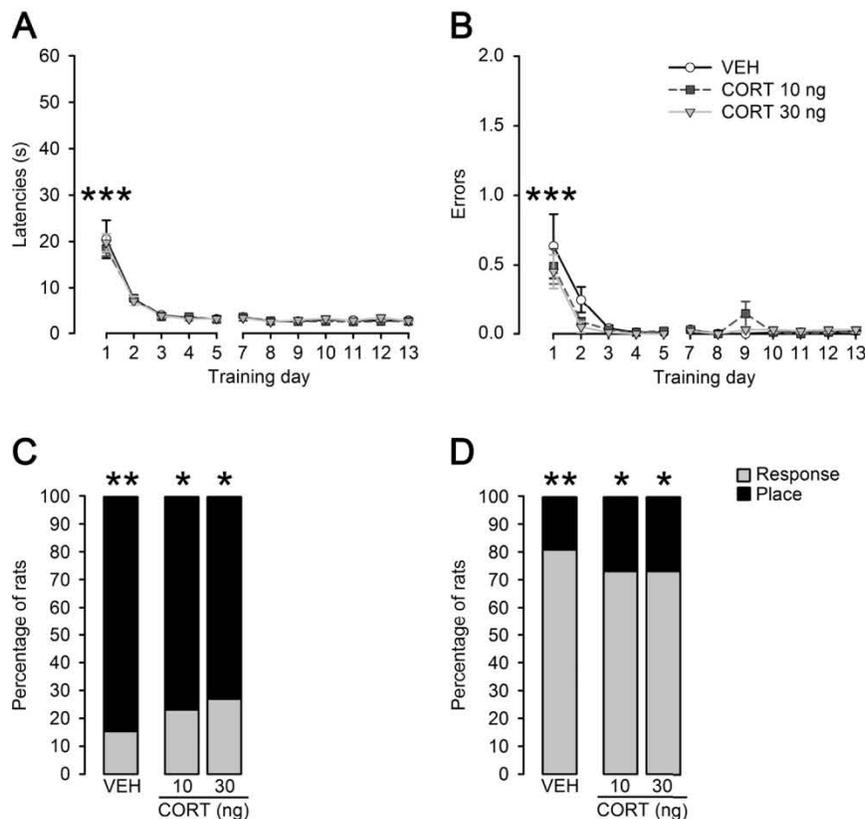


Fig. 4. The effect of corticosterone administration into the dorsomedial striatum (DMS), immediately after training on Days 2–4, on training and probe trial performance. (A) Mean entrance latencies (averaged per day in seconds \pm SEM) to enter the rewarded arm on the training days. *** $p < 0.001$ indicates that entrance latencies on Day 1 were significantly longer than those on all subsequent days. (B) Mean number of errors (averaged per day \pm SEM) to complete the task on the training days. *** $p < 0.001$ indicates that the mean number of errors on Day 1 was significantly higher than that on all subsequent days. (C) Percentage of rats in each treatment group that exhibited place or response learning on the first probe trial (Day 6). (D) Percentage of rats in each treatment group that exhibited place or response learning on the second probe trial (Day 14). Asterisks indicate comparisons within groups * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$. VEH (vehicle, $n = 26$), CORT 10 (corticosterone 10 ng, $n = 26$), and CORT 30 (corticosterone 30 ng, $n = 26$).

experiments indicated the presence of a moderate density of glucocorticoid receptors (GR) and binding of [3 H] corticosterone in the dorsal striatum (Defiore & Turner, 1983), with an even distribution in the DLS and DMS (Morimoto, Morita, Ozawa, Yokoyama, & Kawata, 1996). Further, functional studies indicated that upon ligand binding GRs are translocated into the nucleus successfully and equally effective as in the hippocampus in terms of activity and functionality (Yongue & Roy, 1987). Complimentary evidence indicated that exposure to stress of a forced swim test induced a significant increase of free corticosterone in the dorsal striatum that was even more pronounced than in the hippocampus (Droste et al., 2008).

In several recent studies, we have examined the effect of glucocorticoid administration on influencing striatal-dependent cognitive processing. Medina et al. (2007) reported that microinfusions of corticosterone administered directly into the dorsal striatum enhanced the consolidation of memory of aversively motivated inhibitory avoidance training. This corticosterone effect was both time and dose dependent: Memory enhancement was seen when the corticosterone was administered shortly after the training but not 1 h later. Moreover, memory enhancement was found with a 10 ng dose of corticosterone whereas a higher dose of 60 ng induced memory impairment. In the same study, the GR antagonist RU 38486 administered concurrently blocked the corticosterone-

induced memory enhancement, indicating an involvement of GRs in mediating the enhancing effects of glucocorticoids on striatum-dependent memory consolidation processes (Medina et al., 2007). Other findings from our laboratory demonstrated that rats that were trained to solve a water-maze task and administered corticosterone into the dorsal striatum immediately after the training had a better retention of the cued (procedural-like) version of the task, but no memory enhancement of the spatial version of the task (Quirarte et al., 2009). On the other hand, Lozano et al. (2013) showed that corticosterone administered selectively into the DMS enhanced memory of the spatial training whereas it did not affect performance of the cued task.

In accordance with this previous evidence that stress and glucocorticoids enhance procedural memory, the present findings indicate that corticosterone administration into the DLS accelerated the timing for shaping a procedural memory, biasing rats to the use of a more habit-like response strategy already during early stages of training. However, unlike the findings by Lozano et al. (2013), corticosterone administration into the DMS did not appear to enhance spatial learning and memory. As the GR is evenly expressed within the DLS and DMS (Ahima, Krozowski, & Harlan, 1991; Morimoto et al., 1996), it seems unlikely that a differential efficacy of corticosterone to activate GRs within these two regions might be responsible for the lack of effect of DMS infusions. A more

likely explanation is that activation of GRs within the DMS is sufficient to induce immediate enhancement of spatial memory (Lozano et al., 2013) but that concomitant neuroplasticity changes within the hippocampus are required to ensure the persistent use of this spatial memory to guide behavior and to prevent the experience-dependent shift toward a response strategy (Packard & McGaugh, 1996). Another possible explanation for the different effects of DMS infusions in the two studies is a difference in the aversiveness of the training tasks used. In the Morris water maze used by Lozano et al. (2013), rats must learn to escape from water, which is highly aversive and causes the release of high endogenous corticosterone levels. On the other hand, learning to locate a food reward in the cross maze has an appetitive component and thus is probably associated with lower endogenous stress hormone release. Such endogenous corticosterone levels are known to interact with exogenously administered corticosterone in modulating memory consolidation (Roosendaal, 2000). Therefore, the use of higher doses of corticosterone administered into the DMS might compensate for the lower endogenous levels and enhance spatial memory also in the cross-maze task. Alternatively, glucocorticoids are known to essentially interact with other neurotransmitter systems in influencing memory consolidation, and these neurotransmitters could be differently expressed between the DLS and DMS and thereby influence the efficacy of glucocorticoids in modulating memory consolidation. For example, recent findings indicate that glucocorticoids recruit endocannabinoid signaling in modulating memory consolidation (Atsak et al., 2015; Morena et al., 2015). The cannabinoid receptor type 1 (CB1Rs) is also found in the striatum (Mátyás et al., 2006; Pettit, Harrison, Olson, Spencer, & Cabral, 1998). However, as CB1Rs have a higher expression profile in the DLS than in the DMS (Van Waes, Beverley, Siman, Tseng, & Steiner, 2012), this could influence the dose of corticosterone that is required to enhance memory consolidation. Moreover, as endocannabinoid release is highly dependent on arousal status (Campolongo et al., 2013; Morena et al., 2015), this could potentially also explain why corticosterone infusions into the DMS were able to enhance spatial memory formation in the aversive water-maze task but were ineffective in the appetitive cross-maze task.

Some studies provided a more integrated vision, bringing together the complementary transference from hippocampus-dependent to striatum-dependent strategies during stressful conditions which ultimately shapes animal's behavior from a goal-oriented spatial or 'cognitive' strategy to a more stimulus-response-dependent habitual strategy (Goodman, Leong, & Packard, 2015; Schwabe & Wolf, 2009; Schwabe et al., 2010). Evidence from both rodent and human studies indicates that stress, anxiety and high levels of emotional arousal, through a basolateral amygdala-dependent mechanism, can cause a temporary bias from using a hippocampus-dependent strategy to a striatum-dependent strategy (Goodman, Leong, & Packard, 2012; Goodman et al., 2015). This shift appears to depend on the mineralocorticoid receptor for corticosterone (Schwabe et al., 2010). The DLS-dependent memory system, characterized by a rigid and non-flexible outcome, guarantees that a learned action or response can be available to solve a situation without demanding new learning. Glucocorticoid hormones can provide support to this system by accelerating the consolidation of a procedural memory strategy. Chronic stress conditions can more permanently alter behavior toward a habit-like strategy (Taylor et al., 2014). Moreover, some evidence indicates that chronic stress conditions can affect the cellular structure of DLS and DMS medium spiny neurons differentially. In the DLS, chronic stress causes an increase in dendritic complexity, particularly in the proximal region where there is input of cholinergic and parvalbumin-positive GABAergic interneurons. On the other hand, medium spiny neurons in the DMS do not show such an increase in dendritic complexity (Taylor et al., 2014). Such a stress-induced

shift toward a striatal-dependent procedural strategy might normally be an adaptive process and ensures that environmental information can be processed while the animal can respond efficiently to a stimulus. In more chronic stress conditions, however, such primarily habitual-like guided behaviors might also lead to maladaptive responses by promoting pathological conditions such as addictions, obsessive-compulsive disorder or traumatic memories (Goodman et al., 2012).

Acknowledgments

We thank the excellent technical support of Cristina Medina, Ángel Méndez, Martín García, Omar González, Ramón Martínez, Leonor Casanova, Deysi Gasca, Lourdes Lara, and the helpful input from Patricia Joseph-Bravo, Magda Giordano and Michael Jezorski for developing the ideas presented here. Cristina Siller Pérez is a doctoral student of Programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) and received fellowship 371741 from CONACYT. This work was supported by PAPIIT-DGAPA, UNAM México, Grant IN202414, and CONACYT México (Grant 251634 and 130524).

References

- Ahima, R. S., Krozowski, Z., & Harlan, R. E. (1991). Type I corticosteroid receptor-like immunoreactivity in the rat CNS: Distribution and regulation by corticosteroids. *The Journal of Comparative Neurology*, 313, 522–538. <http://dx.doi.org/10.1002/cne.903130312>.
- Atsak, P., Guenzel, F. M., Kantar-Gok, D., Zalachoras, I., Yargicoglu, P., Meijer, O. C., ... Roosendaal, B. (2016). Glucocorticoids mediate stress-induced impairment of retrieval of stimulus-response memory. *Psychoneuroendocrinology*, 67, 207–215. <http://dx.doi.org/10.1016/j.psyneuen.2016.02.006>.
- Atsak, P., Hauer, D., Campolongo, P., Schelling, G., Fornari, R. V., & Roosendaal, B. (2015). Endocannabinoid signaling within the basolateral amygdala integrates multiple stress hormone effects on memory consolidation. *Neuropsychopharmacology*, 40, 1485–1494. <http://dx.doi.org/10.1038/npp.2014.334>.
- Barnes, T. D., Kubota, Y., Hu, D., Jin, D. Z., & Graybiel, A. M. (2005). Activity of striatal neurons reflects dynamic encoding and recoding of procedural memories. *Nature*, 437, 1158–1161. <http://dx.doi.org/10.1038/nature04053>.
- Campolongo, P., Morena, M., Scaccianoce, S., Trezza, V., Chiarotti, F., Schelling, G., ... Roosendaal, B. (2013). Novelty-induced emotional arousal modulates cannabinoid effects on recognition memory and adrenocortical activity. *Neuropsychopharmacology*, 38, 1276–1286. <http://dx.doi.org/10.1038/npp.2013.26>.
- Chaouloff, F., & Groc, L. (2011). Temporal modulation of hippocampal excitatory transmission by corticosteroids and stress. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 32, 25–42. <http://dx.doi.org/10.1016/j.yfrme.2010.07.004>.
- Cordero, M. I., & Sandi, C. (1998). A role for brain glucocorticoid receptors in contextual fear conditioning: Dependence upon training intensity. *Brain Research*, 786, 11–17. [http://dx.doi.org/10.1016/S0006-8993\(97\)01420-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0006-8993(97)01420-0).
- DeFlore, C. H., & Turner, B. B. (1983). [3H]corticosterone binding in the caudate-putamen. *Brain Research*, 278, 93–101. [http://dx.doi.org/10.1016/0006-8993\(83\)90227-5](http://dx.doi.org/10.1016/0006-8993(83)90227-5).
- Devan, B. D., & White, N. M. (1999). Parallel information processing in the dorsal striatum: Relation to hippocampal function. *The Journal of Neuroscience*, 19, 2789–2798.
- Droste, S. K., de Groot, L., Atkinson, H. C., Lightman, S. L., Reul, J. M. H. M., & Linthorst, A. C. E. (2008). Corticosterone levels in the brain show a distinct ultradian rhythm but a delayed response to forced swim. *Stress Endocrinology*, 149, 3244–3253. <http://dx.doi.org/10.1210/en.2008-0103>.
- Gaikwad, S., Stewart, A., Hart, P., Wong, K., Piet, V., Cachat, J., & Kalueff, A. V. (2011). Acute stress disrupts performance of zebrafish in the cued and spatial memory tests: The utility of fish models to study stress-memory interplay. *Behavioural Processes*, 87, 224–230. <http://dx.doi.org/10.1016/j.beproc.2011.04.004>.
- Gallo, P. V., & Weinberg, J. (1981). Corticosterone rhythmicity in the rat: Interactive effects of dietary restriction and schedule of feeding. *The Journal of Nutrition*, 111, 208–218.
- Goodman, J., Leong, K.-C., & Packard, M. G. (2012). Emotional modulation of multiple memory systems: Implications for the neurobiology of post-traumatic stress disorder. *Reviews in the Neurosciences*, 23, 627. <http://dx.doi.org/10.1515/revneuro-2012-0049>.
- Goodman, J., Leong, K. C., & Packard, M. G. (2015). Glucocorticoid enhancement of dorsolateral striatum-dependent habit memory requires concurrent noradrenergic activity. *Neuroscience*, 311, 1–8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.10.014>.
- Guenzel, F. M., Wolf, O. T., & Schwabe, L. (2014). Glucocorticoids boost stimulus-response memory formation in humans. *Psychoneuroendocrinology*, 45, 21–30. <http://dx.doi.org/10.1016/j.psyneuen.2014.02.015>.

- Joëls, M., & Baram, T. Z. (2009). The neuro-symphony of stress. *Nature Reviews Neuroscience*, 10, 459–466. <http://dx.doi.org/10.1038/nrn2632>.
- Jog, M. S., Kubota, Y., Connolly, C. L., Hilligaart, V., & Graybiel, A. M. (1999). Building neural representations of habits. *Science*, 286, 1745–1749. <http://dx.doi.org/10.1126/science.286.5445.1745>.
- Killcross, S., & Coutureau, E. (2003). Coordination of actions and habits in the medial prefrontal cortex of rats. *Cerebral Cortex*, 13, 400–408. <http://dx.doi.org/10.1093/cercor/13.4.400>.
- Kim, E. J., Pelman, B., & Kim, J. J. (2015). Stress effects on the hippocampus: A critical review. *Learning & Memory*, 22, 411–416. <http://dx.doi.org/10.1101/lm.037291.114>.
- Kim, J. J., Song, E. Y., & Kosten, T. A. (2006). Stress effects in the hippocampus: Synaptic plasticity and memory. *Stress: The International Journal on the Biology of Stress*, 9, 1–11. <http://dx.doi.org/10.1080/10253890600678004>.
- Knowlton, B. J., & Greenberg, D. L. (2008). Implicit learning and memory. In M. J. Aminoff, F. Bolter, D. F. Swaab, G. Goldenberg, & B. L. Miller (Eds.), *Handbook of clinical neurology* (pp. 225–236). London: Elsevier.
- Lee, A. S., André, J. M., & Pittenger, C. (2014). Lesions of the dorsomedial striatum delay spatial learning and render cue-based navigation inflexible in a water maze task in mice. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 8. <http://dx.doi.org/10.3389/fnbeh.2014.00042>.
- Liljeholm, M., & O'Doherty, J. P. (2012). Contributions of the striatum to learning, motivation, and performance: An associative account. *Trends in Cognitive Sciences*, 16, 467–475. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tics.2012.07.007>.
- Lozano, Y. R., Serafin, N., Prado-Alcalá, R. A., Roozendaal, B., & Quirarte, G. L. (2013). Glucocorticoids in the dorsomedial striatum modulate the consolidation of spatial but not procedural memory. *Neurobiology of Learning and Memory*, 101, 55–64. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nlm.2013.01.001>.
- Lupien, S. J., & Lepage, M. (2001). Stress, memory, and the hippocampus: Can't live with it, can't live without it. *Behavioural Brain Research*, 127, 137–158. [http://dx.doi.org/10.1016/S0166-4328\(01\)00361-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0166-4328(01)00361-8).
- Mátyás, F., Yanovsky, Y., Mackie, K., Kelsch, W., Misgeld, U., & Freund, T. F. (2006). Subcellular localization of type 1 cannabinoid receptors in the rat basal ganglia. *Neuroscience*, 137, 337–361. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2005.09.005>.
- McDonald, R. J., & White, N. M. (1994). Parallel information processing in the water maze: Evidence for independent memory systems involving dorsal striatum and hippocampus. *Behavioral and Neural Biology*, 61, 260–270. [http://dx.doi.org/10.1016/S0163-1047\(95\)80009-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0163-1047(95)80009-3).
- 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, 673–677. <http://dx.doi.org/10.1101/lm.654407>.
- Mishkin, M., Malamut, B., & Bachevalier, J. (1984). Memories and habits: Two neural systems. In G. Lynch, J. L. McGaugh, & N. M. Weinberger (Eds.), *Neurobiology of learning and memory* (pp. 65–77). New York, NY: Guilford Press.
- Morena, M., De Castro, V., Gray, J. M., Palmery, M., Trezza, V., Roozendaal, B., ... Campolongo, P. (2015). Training-associated emotional arousal shapes endocannabinoid modulation of spatial memory retrieval in rats. *The Journal of Neuroscience*, 35, 13962–13974. <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1983-15.2015>.
- 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, 235–269. [http://dx.doi.org/10.1016/S0168-0102\(96\)01105-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0168-0102(96)01105-4).
- National Research Council (2011). *Guide for the care and use of laboratory animals* (8th ed.). Washington DC: National Academy of Sciences.
- Okuda, S., Roozendaal, B., & McGaugh, J. L. (2004). Glucocorticoid effects on object recognition memory require training-associated emotional arousal. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101, 853–858. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0307803100>.
- Packard, M. G. (1999). Glutamate infused posttraining into the hippocampus or caudate-putamen differentially strengthens place and response learning. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96, 12881–12886. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.96.22.12881>.
- Packard, M. G. (2009). Exhomed from thought: Basal ganglia and response learning in the plus-maze. *Behavioural Brain Research*, 199, 24–31. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2008.12.013>.
- Packard, M. G., & Knowlton, B. J. (2002). Learning and memory functions of the basal ganglia. *Annual Review of Neuroscience*, 25, 563–593. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.neuro.25.112701.142937>.
- Packard, M. G., & McGaugh, J. L. (1996). Inactivation of hippocampus or caudate nucleus with lidocaine differentially affects expression of place and response learning. *Neurobiology of Learning and Memory*, 65, 65–72. <http://dx.doi.org/10.1006/nlme.1996.0007>.
- Palencia, C. A., & Ragozzino, M. E. (2005). The contribution of NMDA receptors in the dorsolateral striatum to egocentric response learning. *Behavioral Neuroscience*, 119, 953–960. <http://dx.doi.org/10.1037/0735-7044.119.4.953>.
- Paxinos, G., & Watson, C. (2007). *The rat brain in stereotaxic coordinates* (6th ed.). Burlington, MA: Academic Press.
- Pennartz, C. M., Berke, J. D., Graybiel, A. M., Ito, R., Lansink, C. S., van der Meer, M., ... Voorn, P. (2009). Corticostriatal interactions during learning, memory processing, and decision making. *The Journal of Neuroscience*, 29, 12831–12838. <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3177-09.2009>.
- Pettit, D. A., Harrison, M. P., Olson, J. M., Spencer, R. F., & Cabral, G. A. (1998). Immunohistochemical localization of the neural cannabinoid receptor in rat brain. *Journal of Neuroscience Research*, 51, 391–402. [http://dx.doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4547\(19980201\)51:3<391::AID-JNR12.3.0.CO;2-A](http://dx.doi.org/10.1002/(SICI)1097-4547(19980201)51:3<391::AID-JNR12.3.0.CO;2-A).
- Quirarte, G. L., de la Teja, I. S., Casillas, M., Serafin, 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, 586–589. <http://dx.doi.org/10.1101/lm.1493609>.
- Ragozzino, M. E., & Choi, D. (2004). Dynamic changes in acetylcholine output in the medial striatum during place reversal learning. *Learning & Memory*, 11, 70–77. <http://dx.doi.org/10.1101/lm.65404>.
- Roozendaal, B. (2000). 1999 Curt P. Richter award. Glucocorticoids and the regulation of memory consolidation. *Psychoneuroendocrinology*, 25, 213–238. [http://dx.doi.org/10.1016/S0306-4530\(99\)00058-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0306-4530(99)00058-X).
- Roozendaal, B., Hernandez, A., Cabrera, S. M., Hagevoud, R., Malvaez, M., Stefanko, D. P., ... Wood, M. A. (2010). Membrane-associated glucocorticoid activity is necessary for modulation of long-term memory via chromatin modification. *The Journal of Neuroscience*, 30, 5037–5046. <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5717-09.2010>.
- Roozendaal, B., McEwen, B. S., & Chattarji, S. (2009). Stress, memory and the amygdala. *Nature Reviews Neuroscience*, 10, 423–433. <http://dx.doi.org/10.1038/nrn2651>.
- Roozendaal, B., & McGaugh, J. L. (1997). Basolateral amygdala lesions block the memory-enhancing effect of glucocorticoid administration in the dorsal hippocampus of rats. *European Journal of Neuroscience*, 9, 76–83. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1460-9568.1997.tb01355.x>.
- Roozendaal, B., & McGaugh, J. L. (2011). Memory modulation. *Behavioral Neuroscience*, 125, 797–824. <http://dx.doi.org/10.1037/a0026187>.
- Saint-Cyr, J. A., Taylor, A. E., & Lang, A. E. (1988). Procedural learning and neostriatal dysfunction in man. *Brain: A Journal of Neurology*, 111(Pt 4), 941–959. <http://dx.doi.org/10.1093/brain/111.4.941>.
- Sánchez-Resendis, O., Medina, A. C., Serafin, N., Prado-Alcalá, R. A., Roozendaal, B., & Quirarte, G. L. (2012). Glucocorticoid-cholinergic interactions in the dorsal striatum in memory consolidation of inhibitory avoidance training. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 6, 33. <http://dx.doi.org/10.3389/fnbeh.2012.00033>.
- Sandi, C., Loscertales, M., & Guaza, C. (1997). Experience-dependent facilitating effect of corticosterone on spatial memory formation in the water maze. *European Journal of Neuroscience*, 9, 637–642. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1460-9568.1997.tb01412.x>.
- Sandi, C., & Rose, S. P. (1994). Corticosterone enhances long-term retention in one-day-old chicks trained in a weak passive avoidance learning paradigm. *Brain Research*, 647, 106–112. [http://dx.doi.org/10.1016/0006-8993\(94\)91404-4](http://dx.doi.org/10.1016/0006-8993(94)91404-4).
- Schwabe, L., Bohringer, A., & Wolf, O. T. (2009). Stress disrupts context-dependent memory. *Learning & Memory*, 16, 110–113. <http://dx.doi.org/10.1101/lm.1257509>.
- Schwabe, L., Joëls, M., Roozendaal, B., Wolf, O. T., & Oitzl, M. S. (2012). Stress effects on memory: An update and integration. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 36, 1740–1749. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neurobiorev.2011.07.002>.
- Schwabe, L., Romer, S., Richter, S., Dockendorf, S., Bilak, B., & Schahinger, H. (2009). Stress effects on declarative memory retrieval are blocked by a beta-adrenoceptor antagonist in humans. *Psychoneuroendocrinology*, 34, 446–454. <http://dx.doi.org/10.1016/j.psyneuen.2008.10.009>.
- Schwabe, L., Schahinger, H., de Kloet, E. R., & Oitzl, M. S. (2010). Corticosteroids operate as a switch between memory systems. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 22, 1362–1372. <http://dx.doi.org/10.1162/jocn.2009.21278>.
- Schwabe, L., & Wolf, O. T. (2009). Stress prompts habit behavior in humans. *The Journal of Neuroscience*, 29, 7191–7198. <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0979-09.2009>.
- Schwabe, L., & Wolf, O. T. (2010). Learning under stress impairs memory formation. *Neurobiology of Learning and Memory*, 93, 183–188. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nlm.2009.09.009>.
- Schwabe, L., & Wolf, O. T. (2012). Stress modulates the engagement of multiple memory systems in classification learning. *The Journal of Neuroscience*, 32, 11042–11049. <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1484-12.2012>.
- Smeets, T., Giesbrecht, T., Jelicic, M., & Merckelbach, H. (2007). Context-dependent enhancement of declarative memory performance following acute psychosocial stress. *Biological Psychology*, 76, 116–123. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsycho.2007.07.001>.
- Taylor, S. B., Anglin, J. M., Paode, P. R., Riggert, A. G., Olive, M. F., & Conrad, C. D. (2014). Chronic stress may facilitate the recruitment of habit- and addiction-related neurocircuits through neuronal restructuring of the striatum. *Neuroscience*, 280, 231–242. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2014.09.029>.
- Van Waes, V., Beverley, J. A., Siman, H., Tseng, K. Y., & Steiner, H. (2012). CB1 Cannabinoid receptor expression in the striatum: Association with corticostriatal circuits and developmental regulation. *Frontiers in Pharmacology*, 3, 21. <http://dx.doi.org/10.3389/fphar.2012.00021>.
- Voorn, P., Vanderschuren, L., Groenewegen, H. J., Robbins, T. W., & Pennartz, C. M. A. (2004). Putting a spin on the dorsal-ventral divide of the striatum. *Trends in Neurosciences*, 27, 468–474. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tins.2004.06.006>.
- White, N. M., & McDonald, R. J. (2002). Multiple parallel memory systems in the brain of the rat. *Neurobiology of Learning and Memory*, 77, 125–184. <http://dx.doi.org/10.1006/nlme.2001.4008>.
- Yin, H. H., & Knowlton, B. J. (2004). Contributions of striatal subregions to place and response learning. *Learning & Memory*, 11, 459–463. <http://dx.doi.org/10.1101/lm.81004>.

- Yin, H. H., & Knowlton, B. J. (2006). The role of the basal ganglia in habit formation. *Nature Reviews Neuroscience*, 7, 464–476. <http://dx.doi.org/10.1038/nrn1919>.
- Yin, H. H., Knowlton, B. J., & Balleine, B. W. (2004). Lesions of dorsolateral striatum preserve outcome expectancy but disrupt habit formation in instrumental learning. *The European Journal of Neuroscience*, 19, 181–189. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1460-9568.2004.03095.x>.
- Yin, H. H., Knowlton, B. J., & Balleine, B. W. (2006). Inactivation of dorsolateral striatum enhances sensitivity to changes in the action-outcome contingency in instrumental conditioning. *Behavioural Brain Research*, 166, 189–196. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2005.07.012>.
- Yin, H. H., Mulcare, S. P., Hilario, M. R. F., Clouse, E., Holloway, T., Davis, M. I., ... Costa, R. M. (2009). Dynamic reorganization of striatal circuits during the acquisition and consolidation of a skill. *Nature Neuroscience*, 12, 333–341. <http://dx.doi.org/10.1038/nn.2261>.
- Yongue, B. G., & Roy, E. J. (1987). Endogenous aldosterone and corticosterone in brain cell nuclei of adrenal-intact rats: Regional distribution and effects of physiological variations in serum steroids. *Brain Research*, 436, 49–61. [http://dx.doi.org/10.1016/0006-8993\(87\)91555-1](http://dx.doi.org/10.1016/0006-8993(87)91555-1).