



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
MAESTRÍA EN CIENCIAS (NEUROBIOLOGÍA)
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

EFFECTO DEL BLOQUEO DE ACTIVIDAD DE LA PKC EN EL ESTRIADO
DORSOMEDIAL DE RATAS SOBRE LA CONSOLIDACIÓN DE UN
ENTRENAMIENTO MODERADO O INTENSO DE EVITACIÓN INHIBITORIA

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS (NEUROBIOLOGÍA)

PRESENTA

LIC. HANOI IVÁN GUILLERMO MONTIEL

TUTOR

DR. ROBERTO A. PRADO ALCALÁ
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA UNAM

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR

DRA. MARTHA L. ESCOBAR RODRÍGUEZ
FACULTAD DE PSICOLOGÍA, UNAM

DR. FEDERICO BERMÚDEZ RATTONI
INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA CELULAR, UNAM

QUERÉTARO, QUERÉTARO, MAYO DEL 2021



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.

RESUMEN

Se ha encontrado que los tratamientos que producen amnesia se vuelven inocuos cuando los animales son sometidos a un entrenamiento intenso en la tarea de evitación inhibitoria (EI). Los mecanismos neurobiológicos que pudieran estar implicados en la consolidación de este tipo de memoria altamente aversivas son aún desconocidos. Se sabe que la participación de la proteína cinasa C (PKC) es requerida para llevar a cabo distintos procesos mnemónicos, lo cual, permite suponer que su inhibición podría deteriorar la consolidación de este tipo de memoria. Para probar esta hipótesis, se implantaron cánulas bilateralmente en el estriado dorsomedial (EDM) de ratas adultas. Después de un periodo de recuperación, seguida de una fase de manipulación, se les administró queleritrina (QUEL) (un inhibidor de todas las isoformas de PKC) 20 minutos antes del entrenamiento. Se emplearon distintas intensidades de choque (1.0 y 3.0 mA). Pasadas 48 h, se realizó una prueba de retención para evaluar si se presentaba un deterioro en la consolidación de la memoria. Los resultados permiten concluir que el bloqueo de la PKC induce un deterioro en la consolidación de este tipo de memoria independientemente de la intensidad con la que se lleve a cabo el entrenamiento. Por otro lado, para determinar cuál de las dos vías de los glucocorticoides (genómica o no genómica) está ejerciendo sus efectos sobre la consolidación de este tipo de memoria, se administró anisomicina (ANI) -un inhibidor de la síntesis de proteínas – en la misma región cerebral 20 minutos antes del entrenamiento y se encontró un deterioro en la memoria sólo en aquellos animales que habían sido entrenados con la intensidad más baja (1.0 mA). En contraste, aquellos grupos que recibieron la intensidad más alta de entrenamiento (3.0 mA), se observó un efecto protector de la memoria. Nuestros resultados sugieren la posibilidad de que la PKC esté participando en la consolidación de un entrenamiento intenso como resultado de la activación de la vía no genómica de los glucocorticoides.

SUMMARY

It was found that the treatments that produce amnesia becomes harmless when the animals are subjected to intense training in the Inhibitory Avoidance (IA) task. The neurobiological mechanisms that are involved in the consolidation of this type of high aversive memories are still unknown. The involvement of protein kinase C (PKC) is known to be required in different mnemonic processes, suggesting that its inhibition could impair the consolidation of this type of memory. To determine the validity of this proposal, cannulas were implanted bilaterally in the dorsomedial striatum (DSM) in adult rats. After a recovery period and a manipulation phase, chelerythrine (CHEL) – an inhibitor of all PKC isoforms – was administered bilaterally 20 minutes before training. Different intensities of foot-shock (1.0 and 3.0 mA) were used for training. Forty-eight hours later, a retention test was carried out to assess whether there was a deterioration in memory consolidation. The results indicate the blockade of PKC induces a deterioration in the establishment of long-term memory aversive regardless of the intensity of training. In other hand, to determine which of two molecular glucocorticoid pathways (genomic and nongenomic) participates in the consolidation of this type of memory, anisomycin (ANI) – a protein synthesis inhibitor (ISP) – was administered in the same brain region 20 minutes before training and memory impairments were found only in animals that were trained with the lower intensity of training. In contrast, those animals that received the highest foot-shock training intensity were found a protective effect of memory due to intense training. Our results suggest the possibility that PKC is involved in the consolidation of intense training as a consequence of activation of nongenomic glucocorticoid pathway.

ABREVIATURAS

[3H] PDBU: [3H] forbol-12, 13 – dibutirato.

ANI: anisomicina.

AMPA: ácido α -amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico.

CORT: corticosterona

CaMKII: proteína cinasa Ca^{2+} /calmodulina II

cAMP: adenosín monofosfato cíclico.

DAG: diacilglicerol.

EDM: estriado dorsomedial.

EI: evitación inhibitoria.

FS: interneuronas de disparo rápido.

GR: receptor a glucocorticoides.

ISP: inhibidor de la síntesis de proteínas.

LTS: interneuronas de bajo umbral.

MCP: memoria de corto plazo

mGlu5: receptor metabotrópico glutamatérgico 5

MLP: memoria de largo plazo.

MR: receptor a minerocorticoides.

MSNs: neuronas medianas espinosas.

NMDA: N-metil-D-aspartato.

PKA: proteína cinasa A.

PKC: proteína cinasa C.

QUEL: queleritrina.

TTX: tetrodotoxina.

AGRADECIMIENTOS

La realización de este trabajo de tesis fue posible gracias al decidido compromiso por la educación, la investigación científica y la cultura que la Universidad Nacional Autónoma de México tiene de manera universal, el cual, se reflejó en todas las facilidades para cumplir con este proyecto y en las oportunidades para enriquecer mi formación.

Quiero hacer presente mi extenso agradecimiento al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) (Becario 1004224) así como al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) (Proyecto IN203918) por el apoyo económico brindado durante la realización de este trabajo de investigación.

De igual modo, quiero reconocer la increíble labor que mi tutor, el Dr. Roberto A. Prado Alcalá tuvo conmigo durante todo este trayecto. Muchas gracias por su confianza, su orientación y su disposición para llevar mi formación (y este proyecto) con la mayor calidad y cuidado posible. Soy muy afortunado de haber compartido con él este tiempo en donde me nutrí no sólo de su gran sentido científico, sino de su gran mirada humanista y empeño. Jamás tendré todas las palabras (suficientes y adecuadas) para expresar todo el agradecimiento y admiración que le tengo.

Muchas gracias al Dr. Federico Bermúdez Rattoni y a la Dra. Martha L. Escobar Rodríguez por sus acertadas observaciones, constructivos cuestionamientos y precisas aportaciones que enriquecieron mi formación (y a este proyecto); por todo su tiempo para aclarar mis dudas y por su decidido interés en fortalecer mi formación académica. Fue un privilegio y una invaluable oportunidad haberlos tenido en mi comité tutor.

También quiero agradecer a la Dra. Sofía Y. Díaz Miranda por todos sus consejos, observaciones, cuidado y apoyo; por brindarme un sincero espacio dentro de su laboratorio en donde obtuve muchos conocimientos y entrañables experiencias, sin las cuales, mi paso por la maestría no hubiera sido tan provechoso. Agradezco, de igual modo, los convenientes comentarios a esta tesis que permitieron una mejora argumentativa y técnica.

Muchas gracias al Dr. Francisco Sotrés Bayón y al Dr. Pavel E. Rueda Orozco por su tiempo y comentarios para mejorar la calidad de este escrito. Sus muchas observaciones contribuyeron a fortalecer la parte teórica y experimental en gran medida.

Hay tanto que agradecerle a la Dra. Andrea Cristina Medina Fragoso: su disponibilidad para enseñarme todas las técnicas que se emplearon en este proyecto, por sus atinados consejos para mejorarlo y por el decidido apoyo en la fase experimental del mismo. Me queda un maravilloso recuerdo de todos esos días de trabajo compartidos así como un profundo respeto y admiración.

Quiero darle las gracias a la Dra. Gina L. Quirarte por su interés en mi formación académica, por todo el apoyo recibido, por la confianza y las facilidades que me dio, por los buenos consejos y por el cariño que, sin duda, son indispensables.

Infinitas gracias:

Al M. V. Z. Martín García Servín, a la Dra. Alejandra Castilla León y a la Dra. Martha Carbajo Mata, encargados del bioterio del Instituto, por las facilidades para la obtención de animales.

Al Dr. Francisco Javier Valles Valenzuela y a la Lic. Soledad Medina Malagón, responsables de la Biblioteca del Campus Juriquilla UNAM que, durante estos tiempos, me proveyeron incontables veces del material bibliográfico necesario para la realización de esta tesis.

A la Dra. Nury Aranda López, responsable de la Unidad de Enseñanza del Instituto, por su tiempo en la gestión burocrática y administrativa.

A la Lic. María de Lourdes Lara Ayala (q.e.p.d.), responsable del Servicio de Videoconferencia, por su excelente trabajo.

Al Ing. Ramón Martínez Olvera, responsable de la Unidad de Computo, que en conjunto con la Ing. María Eugenia Rosas Alatorre, el Ing. Omar González y el M. en C. Alberto Lara Ruvalcaba otorgaron los distintos permisos y recursos digitales ocupados en este trabajo

Estudiar una maestría es una enorme responsabilidad y compromiso en donde busqué adquirir más habilidades, más conocimientos y más pericia en el quehacer científico. Sin embargo, también es tomar forma y ser lo que se busca: un científico. Detrás de esta tesis, o más bien dentro de su núcleo, hay un reflejo de todas las personas con las cuales compartí este tiempo. Sus anécdotas, su apoyo, su compañía, sus consejos, se notan en cada página y en cada idea. Hay mucho de todos ustedes en este trabajo.

Muchas gracias mamá por todo. Este trabajo es un resultante de tus consejos sobre cómo trabajar, cómo estudiar y cómo hacer realidad los sueños. Sin esas largas pláticas, sin esa infinita paciencia y sin ese cariño, esta historia hubiera sido diferente.

Hay mucho agradecimiento para mi hermano. Sin su admiración, respeto y apoyo a mi trabajo son (y fueron) fundamentales para mí. Sin mi hermano, quizá los momentos más difíciles (cuando las complicaciones laborales y personales se unieron) hubieran tenido desenlaces más alejados de este sueño que se está materializando. Gracias por creer en mí y no dejarme claudicar.

Muchas gracias a mi abuela y a mi tía por continuar con los buenos ánimos hacia mi trabajo, por no permitir la duda en mis pasos. Muchas gracias por estar y seguir.

Si bien este viaje llegó a su fin, las personas que conocí durante este trayecto seguirán, de muchas formas.

Quiero aprovechar estas líneas para darle el más sincero agradecimiento a la Dra. Erika M. Orta Salazar. Son tantos momentos que me resulta muy complicado expresarlos. Su amistad, su cariño, su buen humor, sus consejos, su compañías fueron sumamente importantes en este trayecto. Fueron tantas aventuras que siempre se acompañaron con una sonrisa. Recapitulando todo ésto, queda una sincera amistad de por medio, de la cual, me siento muy afortunado.

Hay que también reconocer el increíble papel que jugó la M. en C. Ana Laura Pinedo Vargas. Sin su amistad, su buen humor, sus ocurrencias, su incondicional apoyo, sus consejos... sin su ayuda hubiera sido muy complicado comenzar esta aventura y superar todo tipo de obstáculos. No tengo todas las palabras para decir lo mucho que agradezco haber coincidido con ella. Queda mucho cariño y mucho amor en cada recuerdo compartido y una sólida amistad.

Faltan palabras para decir el profundo agradecimiento que le tengo a la Médica Vanessa Rosales Romero. Su apoyo, su cariño, su compañía y su consejo siempre son indispensables. En esta etapa, mucho del crecimiento persona que logré fue gracias a nuestras pláticas. Mucho de lo que viene fue gracias a sus consejos.

También, quiero agradecer al Dr. Isaac Vargas Rodríguez por su agudo sentido científico, por su amistad, por todos los artículos compartidos, por los debates fructíferos e intercambios de ideas constructivos, por todas las risas y por el sentido de humor inteligente. Hay una gran admiración y me siento muy afortunado de haberlo conocido.

Nuevamente, quiero darle las gracias a la Lic. Silvia Cisneros por darme el empujón necesario para continuar con mis sueños, por las reminiscencias que me ayudaron a superar el momento más difícil, por su sincera amistad y por su inigualable personalidad.

Sin la amistad de los Psicólogos Elías Mina y Juan Emilio Montiel, esta tesis hubiera tomado caminos distintos. Muchas gracias por compartir y por estar en los momentos oportunos, por los intercambios de ideas y de risas.

Sin el grupo de estudio que formé con mis colegas Erik Macías y Daniel Martínez, la maestría quizá hubiese sido más aburrida. Muchas gracias por su tiempo y por compartir todo su conocimiento que se vio reflejado en los excelentes resultados obtenidos.

Los consejos y la orientación que recibí de la Dra. Mayra Itzel Torres Flores y del Dr. Felipe A. Méndez Salcido fueron decisivos para el desarrollo de este trabajo. Su agudo interés y sincera crítica contribuyeron mucho a las decisiones de los proyectos tan prometedores que me deparan. Infinitas gracias a ambos.

Quiero agradecer a Alma Rodríguez por no permitirme olvidar mi vena artística y por esos intercambios tan fructíferos de ideas. Quiero agradecer también a David Poblano, por su buen humor y carisma que hicieron que este viaje fuera más divertido.

De igual modo, quiero darle las gracias a Diego Ángeles, Felisa Barrera, Alejandra López Castro, Deyaniera Munguía, Daniela Saavedra, Ana Aquiles, Alex Ramírez, Alhelí Marín, por todos los proyectos compartidos y por su buen compañerismo; a la Dra. Susana Castro por sus cálidos consejos y sabiduría y a Clemente Sánchez por su increíble amistad.

A todos, de nuevo, muchas gracias por contribuir a cumplir este sueño. Porque no hay nada que me guste más que hacer ciencia, ciencia sobre la memoria.

DEDICATORIA

A ti, por nunca rendirte, por tu espíritu indómito, curioso, sincero y tenaz que lleva a un verdadero Odiseo por dentro.

Para mamá y para mi hermano, con todo el amor del mundo.

«We are our memories»

James L. McGaugh

ÍNDICE

| | |
|---|----|
| RESUMEN | I |
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| II. ANTECEDENTES | 2 |
| 1. El proceso de la consolidación de la memoria..... | 2 |
| 2. Anatomía de la consolidación de la memoria..... | 3 |
| 3. El papel del estriado en la consolidación de la memoria..... | 4 |
| 4. Descripción anatómica y funcional del estriado..... | 6 |
| 5. Biología molecular de la consolidación de la memoria..... | 8 |
| 5.1 Proteína Cinasa C (PKC)..... | 9 |
| 6. Efecto protector del entrenamiento intenso sobre la memoria..... | 10 |
| III. JUSTIFICACIÓN | 19 |
| IV. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN | 19 |
| V. OBJETIVO GENERAL | 20 |
| VI. HIPÓTESIS | 20 |
| VII. MÉTODO GENERAL Y DISEÑO EXPERIMENTAL | 20 |
| 1. Animales..... | 20 |
| 2. Cirugía estereotáxica..... | 21 |
| 3. Microinyección..... | 21 |
| 4. Tarea de evitación inhibitoria (EI)..... | 21 |
| 4.1 Aparatos..... | 21 |
| 4.2 Manipulación..... | 22 |
| 4.3 Entrenamiento..... | 22 |
| 4.4 Prueba de retención..... | 23 |
| 5. Análisis histológico..... | 23 |
| 5.1 Tinción de Nissl y verificación de cánulas..... | 23 |
| 6. Análisis estadísticos..... | 24 |

| | |
|--|-----------|
| VIII. RESULTADOS DE LA TINCIÓN DE NISSL Y LA VERIFICACIÓN DE CÁNULAS..... | 24 |
| IX. EXPERIMENTO I: CURVA DOSIS RESPUESTA DE LA QUELERITRINA..... | 26 |
| 1. Método y diseño experimental..... | 26 |
| 2. Resultados..... | 27 |
| X. EXPERIMENTO II: DEPENDENCIA DE ESTADO CON 1.0 mA..... | 28 |
| 1. Método y diseño experimental..... | 28 |
| 2. Resultados..... | 30 |
| XI. EXPERIMENTO III: MEMORIA DE CORTO PLAZO..... | 31 |
| 1. Método y diseño experimental..... | 31 |
| 2. Resultados..... | 32 |
| XII. EXPERIMENTO IV: ENTRENAMIENTO INTENSO..... | 33 |
| 1. Método y diseño experimental..... | 33 |
| 2. Resultados..... | 33 |
| XIII. EXPERIMENTO V: DEPENDENCIA DE ESTADO CON 3.0 mA..... | 34 |
| 1. Método y diseño experimental..... | 34 |
| 2. Resultados..... | 35 |
| XIV. EXPERIMENTO VI: EFECTO PROTECTOR DE LA MEMORIA..... | 37 |
| 1. Método y diseño experimental..... | 37 |
| 2. Resultados..... | 37 |
| XV. RESUMEN DE LOS DATOS EXPERIMENTALES..... | 39 |
| XVI. DISCUSIÓN..... | 39 |
| XVI. CONCLUSIONES..... | 43 |
| XVII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 44 |

I. INTRODUCCIÓN

La memoria es la capacidad que tienen los organismos para almacenar y evocar la información derivada de una experiencia (Kandel, 2001), siendo su temporalidad una de las maneras de clasificarla (Dudai, 2004). Esta clasificación remarca la importancia que tiene el periodo en el cual la información puede ser recuperada y proponer que la memoria puede ser de corto plazo (MCP) o de largo plazo (MLP) (McGaugh, 2003).

Una de las estructuras cerebrales que participa en el proceso de consolidación de la memoria es el estriado dorsal, ya que cuando se administran tratamientos que bloquean su actividad colinérgica (Giordano y Prado-Alcalá, 1986), serotoninérgica (Prado-Alcalá et al., 2003) o GABAérgica (Salado-Castillo et al., 1996) se observa un deterioro en la memoria. Lo mismo ocurre cuando se le administran fármacos que producen una inactivación neuronal temporal como la lidocaína (Pérez-Ruiz y Prado-Alcalá, 1989; Salado-Castillo et al., 2011) y con inhibidores de la síntesis de proteínas (ISP) como la anisomicina (ANI) (González-Franco et al., 2019).

Sin embargo, la persistencia de la memoria depende de la intensidad del entrenamiento, es decir, mientras más intenso sea un entrenamiento más inmune se vuelve su memoria a la acción de fármacos amnésicos. A este fenómeno se le ha denominado efecto protector de la memoria (Prado-Alcalá, Medina, Serafín-López y Quirarte, 2012).

La información derivada del entrenamiento intenso se consolida incluso ante el bloqueo farmacológico de estructuras que participan en la consolidación de la memoria como la sustancia nigra (Cobos-Zapiaín et al., 1996), la amígdala (Salado-Castillo et al., 2011), el hipocampo (Quiroz et al., 2003) y el estriado (Giordano y Prado-Alcalá, 1986). Lo mismo se observa cuando se administran ISPs en el hipocampo dorsal (Medina et al., 2019) y en el estriado (González-Franco et al., 2017).

Para encontrar alguno de los posibles mecanismos neurobiológicos que subyacen a este fenómeno de protección, se ha planteado explorar las distintas cascadas de señalización que

participan en la memoria, como la de las proteínas cinasas. El presente trabajo buscó explorar el papel que desempeña la proteína cinasa C (PKC), ya que se ha reportado que cuando se bloquea su sitio catalítico, usando queleritina (QUEL), se observan deterioros en la memoria (Núñez-Jaramillo, Delint-Ramírez y Bermúdez-Rattoni, 2007; Rodríguez-Durán y Escobar, 2014).

ANTECEDENTES

1. El proceso de consolidación de la memoria

La información neural derivada de una experiencia persiste en el tiempo gracias a un proceso denominado memoria, el cual, permite su almacenamiento y posterior evocación (Kandel, 2001). Una de las maneras de clasificar a la memoria es por su duración (Dudai, 2004). Esta clasificación remarca la importancia que tiene el periodo en el cual la información puede ser recuperada y propone que la memoria puede ser de corto plazo (MCP) o de largo plazo (MLP) (Fig. 1).

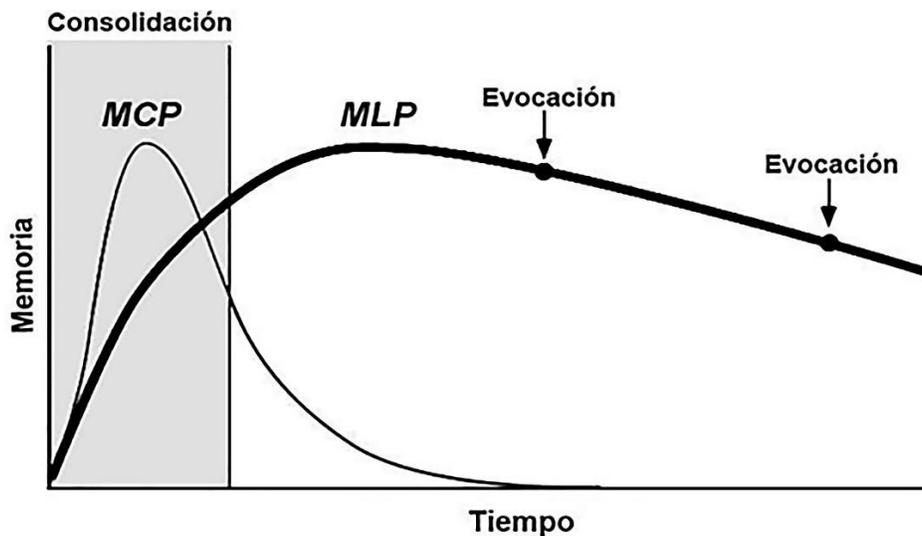


Figura 1. Representación de la clasificación de la memoria por su duración. El paso de la memoria de corto plazo (MCP) a la memoria de largo plazo (MLP), en donde la información se vuelve estable y persistente, se denomina consolidación y está señalada en gris. Modificado de Dudai (2004).

Este modelo considera que cuando la información ingresa al sistema nervioso para ser procesada se mantiene en la MCP por un periodo breve, pudiéndose evocar en una ventana temporal que va de segundos a minutos, siendo fácilmente modificable y frágil. Sin embargo, durante la consolidación, la información pasa de manera gradual de este estado lábil a uno relativamente permanente, es decir, a la MLP. Cabe señalar que la única forma de comprobar que este proceso ocurrió es a través de la evocación, es decir, la salida de información almacenada para que el animal ajuste sus respuestas según las demandas del medio (Atkinson y Schiffrin, 1968; McGaugh, 1973). Sin embargo, los cambios en las condiciones externas (como la ausencia de un reforzador o de un estímulo incondicionado) pueden reducir la frecuencia de la evocación de las respuestas aprendidas, disminuyendo con ello su probabilidad de aparición. Este fenómeno se denomina extinción (McGaugh, 1973) y mientras más fuertemente esté almacenada una memoria este fenómeno tardará más tiempo en aparecer (Bello-Medina et al., 2016; McGaugh, 1973).

2. Anatomía de la consolidación de la memoria

Las memorias son representaciones cerebrales que se deben a la experiencia, en otras palabras, son modelos adquiridos del mundo que se codifican en la actividad de los circuitos cerebrales pudiéndose abordar desde la perspectiva de sistemas o desde la perspectiva sináptica (Dudai, 2002).

Por su temporalidad, ocurre primero la consolidación sináptica en la que la memoria se vuelve persistente a interferencias o interrupciones en las primeras horas después del entrenamiento en alguna tarea conductual (Dudai, 2002). Luego, se lleva a cabo la consolidación por sistemas, en la que participan varias estructuras cerebrales y se propone que inicialmente se lleva a cabo en el hipocampo y, posteriormente, se extiende hacia otras estructuras como la corteza, la amígdala o el estriado (Euston, Gruber y McNaughton, 2012). Cabe señalar que varios tipos de información sensorial son responsables de habilitar las respuestas motoras (McGaugh, 2003).

La información que forma parte de las experiencias tiene múltiples modalidades y se codifica, se procesa y se integra en distintas redes cerebrales funcionales que forman (cuando menos) tres sistemas cerebrales de memoria que operan en paralelo (White y McDonald, 2002). Cada sistema consiste en una estructura central y un conjunto de estructuras neuronales interconectadas. La estructura central de estos circuitos diferentes incluye al hipocampo, a la amígdala y al estriado dorsal. Estos sistemas de memoria adquieren información de manera simultánea y están altamente conectados. En conjunto, 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 (White y McDonald, 2002; Prado-Alcalá et al., 2006).

Entre estas tres estructuras centrales del sistema de memoria, se piensa que el hipocampo es crítico para la formación de memorias episódicas. La amígdala se ha involucrado en la formación y el almacenamiento de memorias con contenidos emocionales. Estas memorias emocionales únicamente codifican la valencia subjetiva de la misma (positiva o negativa). Finalmente, el estriado dorsal se ha involucrado en los procesos de aprendizaje y memoria de procedimientos y hábitos (McDonald y Hong, 2004).

3. El papel del estriado dorsal en la consolidación de la memoria

Numerosos estudios han demostrado que el estriado está íntimamente involucrado en la adquisición, consolidación y evocación de la memoria de varias tareas conductuales (Divac y Oberg, 1979; Packard y Knowlton, 2002; Prado-Alcalá, 1995; White, 2009; Stanley et al., 2021).

Se ha propuesto que el estriado está involucrado en diferentes tipos de aprendizaje con la participación de tres circuitos: (1) el *asociativo* en el que participan regiones corticales de asociación como es el caso de la corteza prefrontal medial, la cual, proyecta al estriado dorsomedial; (2) el *sensorimotor* en el que se involucran las cortezas sensoriales y motoras, las cuales, proyectan hacia el estriado dorsolateral; (3) el *límbico*, el cual, implica regiones

cerebrales límbicas como la amígdala basolateral y el hipocampo, mismas que proyectan al estriado ventral y al núcleo accumbens (Yin y Knowlton, 2006).

Existe una participación clara y diferencial de las regiones dorsal y ventral del estriado con respecto a sus funciones cognitivas (Voorn et al., 2004). La región dorsolateral del estriado (EDL) recibe aferencias corticales de la neocorteza sensorimotora y participa en la memoria de procedimental de tipo estímulo-respuesta (S-R) (Packard y Knowlton, 2002).

La región dorsomedial del estriado (EDM) recibe información sensorial, ejecutiva y afectiva de la neocorteza y de la amígdala (Devan, Hong y McDonald, 2011). Aunque no se conoce alguna conectividad anatómica directa entre el EDM y el hipocampo sí se ha demostrado que estas estructuras interactúan a través de la corteza prefrontal (Ferino, Thierry y Glowinski, 1987; Gabbot et al., 2005) y que juntas participan en el aprendizaje de lugar (Packard y McGaugh, 1996; Yin y Knowlton, 2004; Fouquet et al., 2013).

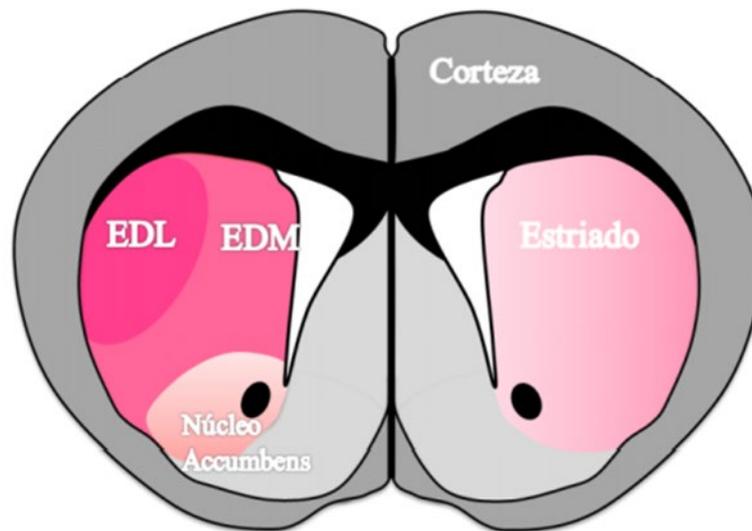


Figura 2. Representación funcional del estriado en roedores. Se muestra un corte coronal en donde el hemisferio izquierdo ilustra las regiones dorsomedial (EDM), dorsolateral (EDL) y el núcleo accumbens. En el hemisferio derecho se muestra la organización de tipo parche-matriz en color rosado. Modificado de Kreitzer (2009).

4. Descripción anatómica y funcional del estriado

El estriado es la estructura aferente principal de los ganglios basales. En los mamíferos superiores, el cuerpo estriado comprende al núcleo caudado, el putamen y el núcleo accumbens (Gerfen y Bolam, 2010). En los roedores, el estriado, a pesar de estar formado por estas regiones, se estudia como una entidad única dado que el tejido no muestra una clara división en su citoarquitectura.

Anatómicamente, el estriado presenta una distribución celular homogénea. Las células estriatales se dividen en tres grandes tipos: las neuronas medianas espinosas (MSNs), las interneuronas grandes y las interneuronas medianas, ambas sin espinas (Kreitzer, 2009).

Cabe resaltar que las interneuronas sin espinas también se pueden clasificar por su patrón de disparo en interneuronas de disparo rápido (FS, por sus siglas en inglés) e interneuronas de bajo umbral (LTS, por sus siglas en inglés). Las interneuronas positivas a somatostatina presentan tasas de disparo rápido de manera sostenida, por lo cual, se clasifican como FS, mientras que las positivas a somatostatina tienen una tasa de disparo menor así que se clasifican como LTS (Kreitzer, 2009; Tepper y Plenz, 2008).

Las neuronas estriatales tienen patrones de proyección que se han agrupado en dos vías: la vía directa (que va hacia el seguimiento interno del globo pálido y la sustancia nigra pars reticulata) y la vía indirecta (que va hacia el segmento interno del globo pálido y regresa hacia las neuronas de la vía directa) (Gerfen, Paletzki y Heintz, 2013).

Además de los circuitos de proyección compuestos por las neuronas del estriado, hay una serie de conexiones adicionales dentro de los núcleos basales que forman parte de otros sistemas de retroalimentación. El sistema nigroestriatal es uno de éstos. Este sistema está formado por las neuronas dopaminérgicas en la sustancia nigra que proyectan al estriado. También existen otros circuitos de retroalimentación formados por las proyecciones desde el globo pálido al estriado, desde el núcleo subtalámico hacia el globo pálido y el estriado y

desde el tálamo hacia el estriado. Tales circuitos de retroalimentación contribuyen de manera significativa a la función de los ganglios basales (Gerfen y Wilson, 1996).

Los ganglios basales participan en los procesos de memoria y aprendizaje. Aunque hay poca evidencia sobre cómo esta región media las respuestas de evitación y escape hacia un estímulo aversivo, se sabe que los ganglios basales participan en este tipo de memoria (Packard y Knowlton, 2002; Prado-Alcalá et al., 2017). Por ejemplo, en la tarea de evitación inhibitoria (EI), los animales aprenden a evitar un entorno en el que previamente han sido expuestos a un estímulo aversivo (como un choque en las patas, el cual, funciona como estímulo incondicionado) permaneciendo en el lado iluminado de una cámara de dos compartimentos (evitación inhibitoria) o corriendo hacia el compartimento del lado opuesto tras la presentación de un estímulo condicionado (evitación activa). En ambos casos, los animales tienen que suprimir su tendencia a evitar zonas luminosas y abiertas (Stanley et al., 2021).

En el caso de la evitación activa, se ha descrito que participa en función de tres etapas distintas en las que van participando diferentes circuitos neuronales (LeDoux et al., 2017). La primera etapa consiste en que los animales aprendan que un estímulo predice una amenaza y participa la vía de la amígdala basolateral – amígdala central – sustancia gris. La segunda etapa implica que los animales aprendan a realizar una acción que ponga fin a su contacto con el estímulo aversivo y depende de la activación de la amígdala basolateral – núcleo accumbens junto con la activación de la corteza prefrontal infralímbica, la cual, es reclutada para suprimir la respuesta de congelación mediada por la amígdala central y facilitar con ello la evitación (Moscarello y LeDoux, 2013). En tercer lugar, la evitación se convierte en un hábito (es decir, se vuelve una conducta independiente del resultado) y, probablemente, implique al estriado dorsal (Stanley et al., 2021).

La manera en cómo procesa el estriado la entrada y la salida de información de este tipo de situaciones aversivas está muy poco estudiado. Pese a ello, se sabe que las memorias de tipo aversivo tienen un procesamiento diferente a las memorias de tipo apetitivo (Leljeholm y O'Donherty, 2012).

Para explicar esta participación diferencial de las subregiones del estriado dorsal en las memorias de tipo aversivo frente a las memorias de tipo apetitivo, Stanley y colaboradores (2021) han propuesto la siguiente hipótesis: (1) el EDL puede trabajar en conjunto con la amígdala para desarrollar asociaciones estímulo-respuesta. Sin embargo, un entrenamiento intenso en paradigmas de evitación podría inducir la formación de conductas defensivas habituales y estaría a cargo del estriado dorsomedial y (2) la capacidad del EDM para responder e impulsar la evitación innata en tareas de laberinto elevado y campo abierto (LeBlanc et al., 2020) sugiere que su actividad es importante para la conducta de evitación innata. De esta manera, el EDM podría desempeñar un papel importante en la conducta de evitación condicionada y, con un entrenamiento intenso, podría ir tomando mayor importancia a medida que el animal va adquiriendo estrategias de evitación exitosas, en donde distintas cascadas moleculares tendrían lugar.

5. Biología molecular de la consolidación de la memoria

Dentro de las diversas estructuras que participan en el proceso de consolidación de la memoria ocurren diferentes modificaciones moleculares que resultan en cambios sinápticos. Por ello, la investigación actual no se conforma con sólo la identificación de áreas cerebrales que participan en el procesamiento y en el almacenamiento de la memoria, sino también buscan identificar las moléculas que resultan importantes para tales cambios (Milner, Squire y Kandel, 1998).

Actualmente, se propone que la memoria se almacena en conjuntos de neuronas denominados ensambles en donde las células se comunican a través de conexiones sinápticas (Buzsáki, 2010). De la porción presináptica se liberan los neurotransmisores, los cuales, son recibidos por una o varias neuronas postsinápticas (Kandel et. al. 2000). La recepción del neurotransmisión por parte de la neurona postsináptica tiene como resultado el inicio de varios cambios intracelulares mediadas por segundos mensajeros y cambios en el flujo de iones a través de los canales. De hecho, se considera que las conexiones sinápticas son plásticas ya que pueden sufrir cambios a corto y a largo plazo en la fuerza con la que se establecen las sinapsis y en el umbral para transmitir el mensaje a otras células (Kandel et al.,

2000). Debido a esta plasticidad sináptica que permite cambios temporales en la actividad neuronal un mismo ensamble neuronal puede almacenar diversos tipos de información de manera simultánea (Buzsáki, 2010).

Tanto la MCP como la MLP tienen representaciones celulares diferentes. Ésto se explica debido a que la representación celular de la MCP en cada paso implica modificaciones de proteínas preexistentes por distintas proteínas cinasas que adhieren grupos fosfato (Abel et al., 1995). Por el contrario, la representación celular de la MLP (en algunas ocasiones) puede implicar una nueva síntesis de proteínas. De esta manera, las moléculas como el adenosín monofosfato cíclico (cAMP), la proteína cinasa A (PKA), la proteína cinasa C (PKC), la proteína calcio calmodulina cinasa II (CaMKII) así como la transcripción mediada por CREB de genes posteriores pueden considerarse como agentes moleculares que permiten la consolidación de la memoria (Milner, Squire y Kandel, 1998; Alberini, 2005). Ambas formas parecen recurrir a cambios morfológicos en la sinapsis para estabilizar a la MLP (Abel et al., 1995). De hecho, existe una gran cantidad de investigaciones que indican que la espinogénesis dendrítica se desarrolla como resultado de las experiencias de aprendizaje y que representa al sustrato neuroanatómico de la memoria (Segal, 2017).

5.2 Proteína Cinasa C (PKC)

Los primeros trabajos en los que se estudió esta proteína brindaron evidencia que es en el cerebro, en comparación con cualquier otro tejido, donde tiene su mayor actividad (Nishizuka, 1995). La actividad de la PKC ha sido relacionada como un mecanismo que participa en la memoria (Alkon et al., 2005).

En realidad, la PKC se refiere a una familia de enzimas que participan en una amplia variedad de procesos celulares a través de la transducción de señales acopladas a receptores que inician una cascada de degradación de los componentes lipídicos de la membrana celular (Callender y Newton, 2017).

Las isoenzimas de la PKC se clasifican en una de las tres subfamilias en función de su composición de dominio lo que a su vez determina su sensibilidad a los segundos mensajeros y cofactores (Fig. 3). La familia de las PKC se divide en tres grupos. En el primer grupo se encuentran las PKC convencionales (α , β I, β II, y γ) que se activan ante la presencia del diacilglicerol (DAG) y el calcio (Ca^{2+}). El segundo grupo lo integran las PKC denominadas nuevas (δ , ϵ , θ y η) que son únicamente activadas por DAG (Callender y Newton, 2017). Finalmente, ni el DAG ni el calcio activan a las PKC atípicas, pero la unión de lípidos al dominio C1 sigue siendo importante para su activación. Las PKC atípicas (λ , ι) tienen un dominio PB1 al pseudosustrato y las interacciones proteína-proteína a través de este dominio son importantes para su activación (Hirano et al., 2004; Sossin, 2007).

Aunque todas las PKC comparten un dominio cinasa (el cual conserva las funciones catalíticas) y un extremo C-terminal, difieren en el dominio regulatorio. Las PKC clásicas tienen un pseudosustrato, seguido del tándem C1, el cual, se une al DAG. También, cuentan con un dominio C2, el cual, se une al calcio de forma dependiente de los fosfolípidos. Las PKC novedosas tienen un dominio C2 N-terminal que no se une al DAG. Por último, las PKC atípicas tienen un dominio PB1 que participa en las interacciones proteína-proteína, seguido de un pseudosustrato y un único dominio C1 típico mismo que no se une al DAG (Sossin, 2007).

Las isoformas de la PKC se distribuyen de manera diferente y también se activan de manera distinta por segundos mensajeros, pero generalmente se asume que la movilización de calcio intracelular y la estimulación del recambio de fosfolípidos promueven la translocación y la activación de la PKC (Bonini et al., 2005).

El proceso de activación de la PKC sucede como resultado de la activación de un receptor acoplado a una proteína G_q lo que resulta en la generación de dos moléculas lipídicas que actúan como segundos mensajeros: el inositol trifosfato (IP_3) y el DAG (Callender y Newton, 2017).

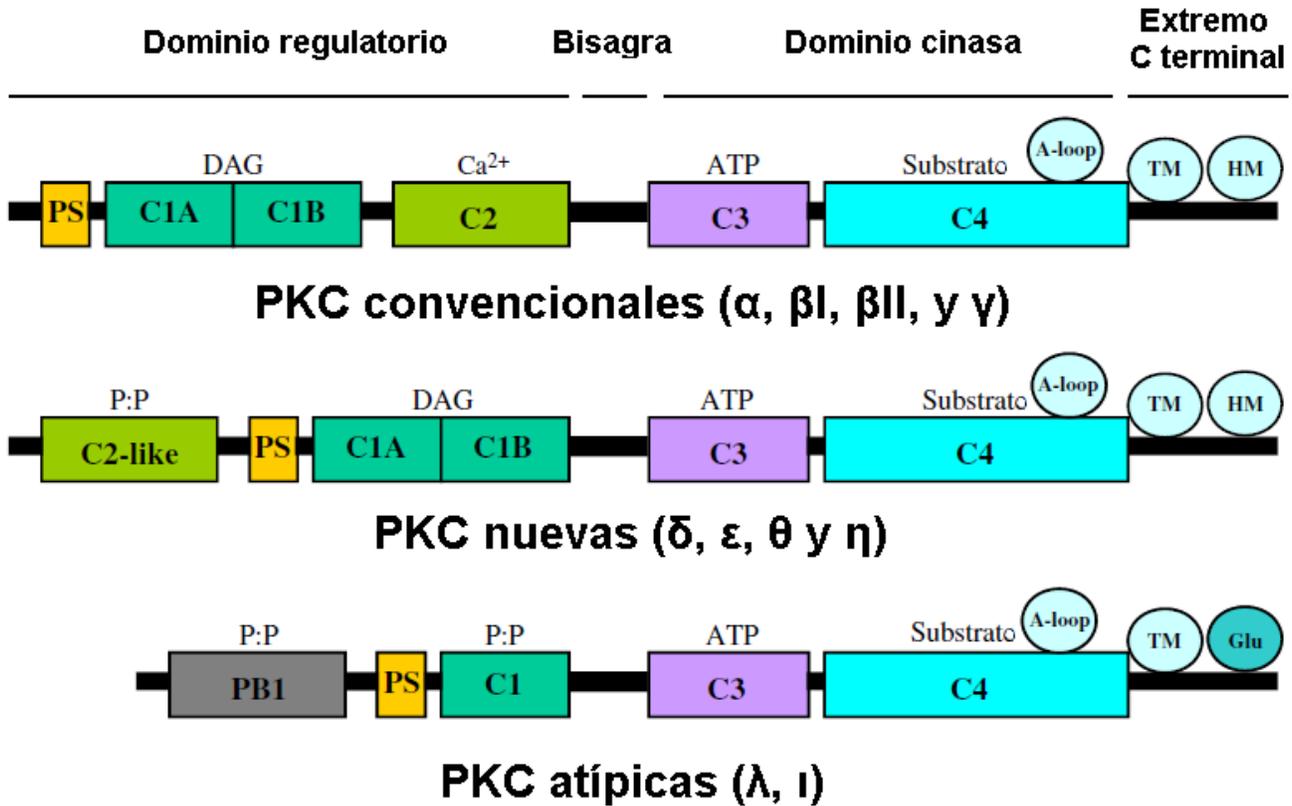


Figura 3. Estructura de las subfamilias de las PKC. Se muestran las formas convencionales, nuevas y atípicas así como sus correspondientes dominios regulatorios, cinasa (catalítico) y extremos c-terminales. PS = sitio de pseudosubstrato, P:P= Dominios de interacción proteína-proteína. Modificado de Freelely et al. (2011)

Todas las isoenzimas de la PKC se mantienen autoinhibidas hasta que se presentan los segundos mensajeros adecuados. Específicamente, la unión de un agonista al dominio C1 con detección al DAG y al dominio C2 con detección al calcio provoca que se rompan los contactos intramoleculares para “abrir” a la PKC y permitir su fosforilación (Callender y Newton, 2017; Freelely et al., 2011).

La PKC está implicada en la regulación de la neurotransmisión y la plasticidad sináptica a través de la fosforilación de transportadores, canales iónicos y receptores acoplados a proteínas G. Por ejemplo, la PKC fosforila y regula al transportador de dopamina y a receptores a glutamato como AMPA, NMDA y mGlu5 (Callender y Newton, 2017; Newton, 2018; Steinberg, 2008) (Fig. 4). Tales fosforilaciones resultan importantes para la consolidación de la memoria (Izquierdo et al., 2006).

En la búsqueda de correlatos moleculares asociados a la PKC y la consolidación de la memoria, se ha reportado un aumento específico y dependiente del tiempo de la unión de [3H] forbol-12, 13 – dibutirato ([3H] PDBu) a la PKC asociada a la membrana en áreas cerebrales como CA1 y CA2 del hipocampo dorsal, lo cual, sugiere aumentos de la PKC dentro de estas regiones (Bernabeu et al., 1995). Del mismo modo, se sabe que la consolidación de la tarea de evitación inhibitoria está asociada con un rápido y específico aumento en los niveles de fosforilación de B-50/GAP43 *in vitro* así como un incremento en la actividad de PKC dentro de los sinaptosomas membranales del hipocampo dorsal (Cammarato et al., 1997).

Como se había comentado anteriormente, la PKC es en realidad una gran familia de cinasas. Algunos trabajos han encontrado un aumento en los niveles de la PKC β I en las membranas plasmáticas sinápticas, lo cual, sugiere la participación de las neuronas pre y post sinápticas glutamatérgicas hipocampales en la consolidación de este tipo de tarea; además de que tales aumentos podrían vincularse con la fosforilación de B-50 y GAP43 encontrados previamente en el hipocampo dorsal (Paratcha et al., 2000).

La PKC participa en la consolidación de la memoria, pero con una dinámica temporal propia según la región cerebral que se esté evaluando. En un trabajo de Bonini y colaboradores (2005) se demostró que hay una participación temporal diferente de las distintas isoformas de la PKC dentro de la amígdala basolateral y la corteza parietal. Sus resultados indican que la PKC α , β I, β II, tienen una participación importante desde las dos, tres y cuatro horas post-entrenamiento, mientras que las otras isoformas adquieren relevancia a partir de las tres o cuatro horas después del entrenamiento. Los resultados que encontraron en la amígdala basolateral muestran que esta estructura es importante inmediatamente luego del entrenamiento y hasta 30 minutos posterior a él. Sin embargo, los datos mostrados en la corteza parietal sugieren una dinámica molecular diferente dado que cobra relevancia a partir de los 240 minutos post-entrenamiento.

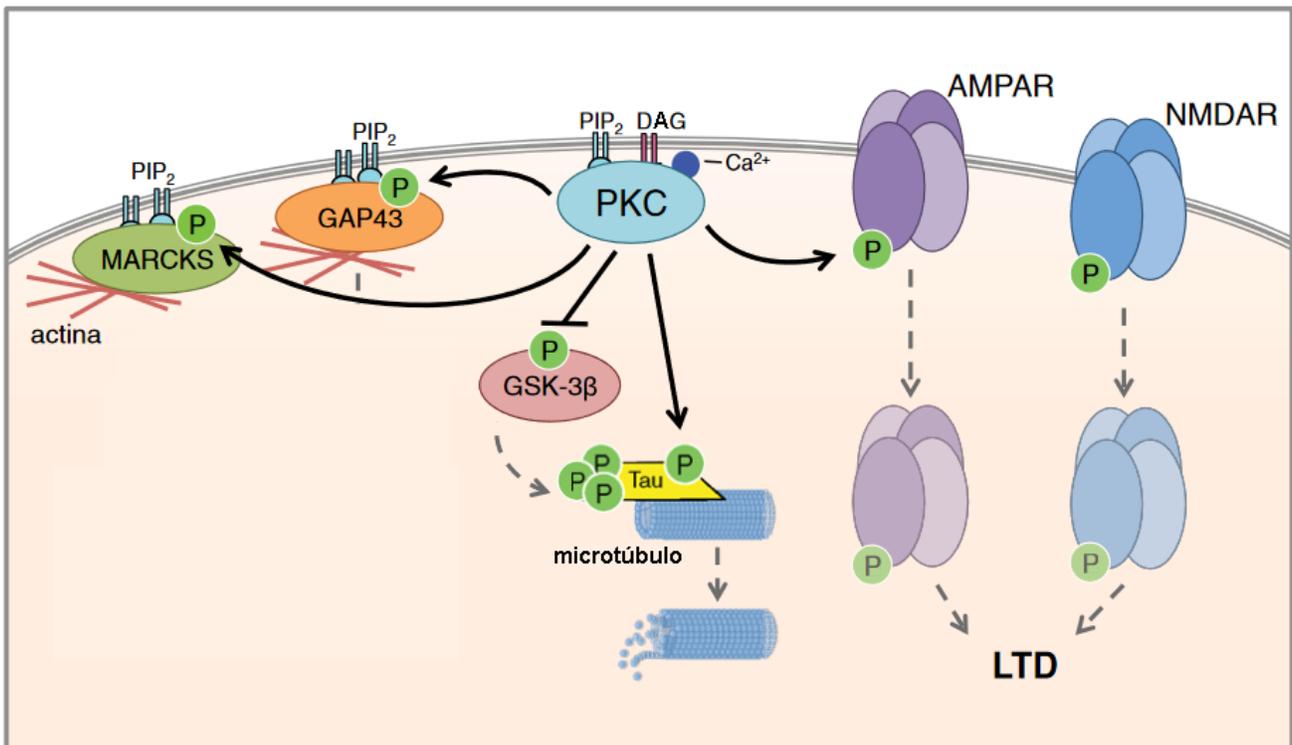


Figura 4. Blancos de la PKC en el sistema nervioso central. La PKC fosforila muchos sustratos presinápticos y postsinápticos. Aquí se muestran algunos ejemplos ilustrativos en una membrana neuronal genérica para facilitar su visualización. La PKC (cian) regula el citoesqueleto de actina (líneas rojas) a través de la fosforilación del sustrato de proteína cinasa C en alina miristoilada (MARCKS, verde) y la proteína 43 asociada al crecimiento (GAP43, naranja). La fosforilación por parte de la PKC hace que estas proteínas se trasladen desde la membrana plasmática para facilitar la polimerización de la actina. La PKC interviene en la dinámica de los microtúbulos (pequeños círculos azules) a través de sus efectos sobre la proteína Tau (amarillo). La PKC fosforila directamente a Tau e indirectamente provoca la desfosforilación de tau mediante la fosforilación e inactivación de la glucógeno sintasa cinasa 3β (GSK-3β, rosa). La PKC regula la plasticidad sináptica mediante la regulación de los niveles postsinápticos del receptor AMPA (púrpura) y del receptor NMDA (azul). La fosforilación por parte de la PKC induce la internalización de estos receptores promoviendo a la depresión a largo plazo (LTP). Modificado de Callender y Newton (2017).

La PKC participa en la consolidación de la memoria, pero la participación de las distintas áreas cerebrales e isoformas tienen una temporalidad diferente. En un trabajo de Bonini y colaboradores (2005), administraron un bloqueador selectivo a las isoformas clásicas de la PKC (Go6976) y un bloqueo inespecífico (Go7874) a diferentes tiempos en animales que fueron entrenados en la tarea de evitación inhibitoria. Sus resultados indican que en la amígdala basolateral son requeridas todas las isoformas de PKC al menos inmediatamente y 30 min después del entrenamiento. En contraste, en la corteza parietal, las isoformas clásicas son requeridas para la formación de la memoria a partir de los 180 min post-entrenamiento y los restantes tipos de isoformas a partir de los 270 min post-entrenamiento.

En este sentido, la participación de la PKC dentro de la amígdala parece ser muy consistente para el proceso de consolidación de la memoria. Se observó un deterioro en la MLP (medida a las 48 h) cuando se aplicó polimixin B (PMB) (un inhibidor inespecífico de la PKC y de la CaMKII) en la amígdala inmediatamente después del entrenamiento en evitación inhibitoria. Se halló el mismo efecto cuando se administró inmediatamente después NPC 15437 (un bloqueador de las isoformas clásicas de PKC) en la amígdala. No se encontró un deterioro en la memoria (medida a las 48 h) cuando se administró PMB en el núcleo caudado (Walker y Gold, 1994).

La consolidación de la MLP requiere de la participación de todas las isoformas en el hipocampo, de acuerdo a lo reportado por Vianna y colaboradores (2000). Estos investigadores administraron a distintos tiempos Go 7874 y Go6976 en el área CA1 del hipocampo dorsal y encontraron un efecto amnésico sobre la MLP cuando se administraban estos fármacos 10 minutos antes o 50 o 110 minutos después del entrenamiento en evitación inhibitoria. El mismo efecto amnésico dentro del CA1 se reporta con el uso de otros bloqueadores selectivos de la PKC como la estaurosporina y CGP 41231, pero a tiempos distintos (0, 50, 120 minutos post-entrenamiento) (Jerusalinsky et al., 1994).

Sin embargo, las diferencias en la temporalidad con la que esta cinasa es empleada por cada área cerebral sugieren diferencias en su distribución dentro del cerebro (Chen et al., 1997; Bonini et al., 2005). De hecho, todavía no se conocen del todo la participación que tiene esta cinasa en otras áreas asociadas a la memoria como el estriado.

Finalmente, dada la gran variedad de isoformas, algunos investigadores han decidido emplear fármacos que alteren el funcionamiento de todas las isoformas, como la queleritrina, la cual, bloquea el dominio cinasa (un sitio común entre todas las isoformas) induciendo deterioros (Herbert et al., 1990). Se sabe que la administración de esta sustancia dentro de la corteza de la ínsula produce detrimentos sobre la memoria de tareas como el condicionamiento de aversión al sabor (Núñez-Jaramillo, Delint-Ramírez y Bermúdez-Rattoni, 2007; Rodríguez-Durán y Escobar, 2014). Incluso este efecto amnésico se ha reportado en otras especies como los pollos en tareas de tipo aversivo (Serrano et al., 1995).

6. Efecto protector del entrenamiento intenso sobre la memoria

La duración de una memoria puede estar en función del número de repeticiones que tenga un evento de aprendizaje, de la intensidad o la magnitud del estímulo asociado a la experiencia a recordar así como si tal experiencia cuenta con elementos emocionales (Kandel et al., 2013; Prado-Alcalá et al., 2007). En este sentido, se denomina entrenamiento intenso a la condición experimental en la que un sujeto recibe un mayor número de sesiones de entrenamiento (sobrentrenamiento) o una mayor intensidad en la estimulación durante la realización de una tarea (sobrerreforzamiento) y tiene como resultado una mayor resistencia a la extinción, es decir, la respuesta condicionada tardará más tiempo en disminuir (Garín-Aguilar et al., 2012; Bello-Medina et al., 2016).

Cuando se aplica esta condición experimental se observa que los tratamientos que típicamente producen amnesia se vuelven inocuos. A este fenómeno se le ha llamado efecto protector de la memoria (Prado-Alcalá et al., 2012).

El entrenamiento intenso protege a la memoria frente a tratamientos amnésicos que actúan sobre el sistema colinérgico (Giordano y Prado-Alcalá, 1986; Díaz del Guante et al., 1991), serotoninérgico (Prado-Alcalá et al., 2003) o GABAérgico (Salado-Castillo et al., 1996). Lo mismo ocurre cuando se le administran fármacos que producen inactivación temporal como la lidocaína (Pérez-Ruiz y Prado-Alcalá, 1989; Salado-Castillo et al., 2011) y la tetrodotoxina (TTX) (Quiroz et al., 2003) así como ISP administrados en estructuras como el hipocampo dorsal (Medina et al., 2019), en el estriado dorsal (González-Franco et al., 2019) o administrados de manera sistémica (Díaz-Trujillo et al., 2009).

En la búsqueda de los sustratos neurobiológicos de este tipo de memoria, se decidió analizar si la espinogénesis podría ser diferente según la intensidad con la que se llevara a cabo el entrenamiento, dado que hay evidencia que sugiere que la consolidación de nueva información induce al desarrollo de espinas dendríticas en varias tareas de aprendizaje, incluyendo la tarea de EI (O'Malley, O'Connell y Regan, 1998). En sintonía con lo anterior, se encontró que el entrenamiento en la tarea de EI induce un aumento de espinas dendríticas

en el EDM y que tal incremento es aún mayor cuando los animales tienen un entrenamiento intenso (Bello-Medina et al., 2016).

Para explicar este aumento en la espinogénesis, fue necesario explorar otras vías de señalización que estuvieran involucradas en la consolidación de la memoria, tales como las hormonas, en particular, la vía de los glucocorticoides, pues se sabe que su bloque impide el almacenamiento de la información (Medina et al., 2007). Es más, se ha demostrado que la administración de corticosterona (CORT), un tipo de glucocorticoide, induce la espinogénesis. Komatsuzaki y colaboradores (2012) demostraron que en rebanadas de hipocampo el número de espinas dendríticas de tipo hongo (también llamadas espinas de la memoria), se incrementa ante la administración de CORT según la dosis.

Esta relación entre la CORT y el aumento de la espinogénesis podría relacionarse con el aumento de espinas dendríticas tipo hongo encontrado por Bello-Medina y colaboradores (2016), dado que recientemente se reportó que ante un aumento en la intensidad de choque eléctrico utilizado para el entrenamiento de EI se produce una mayor liberación de CORT sistémica (González-Franco et al., 2017). Estos hallazgos permiten pensar que el aumento en la espinogénesis que produce el entrenamiento intenso podría estar mediado por el aumento en la liberación de CORT.

Siguiendo esta línea de pensamiento, es necesario considerar más a detalle la manera en cómo la CORT ejerce sus efectos. En principio, la CORT se puede unir a dos receptores con diferente afinidad: el receptor a mineralocorticoides (MR) y el receptor a glucocorticoides (GR) (Sandi, 2003). La función más estudiada de los GR es a través de la actividad del receptor nuclear (GRn) denominada actividad lenta o genómica; sin embargo, también puede ejercer sus efectos a través de los receptores acoplados a membrana, los cuales, se denominan GRm y la actividad que emana de ellos se denomina no genómica o rápida (Groeneweg, Karst, de Kloet y Joels, 2012).

Una de las maneras para determinar cuál de estas dos vías está ejerciendo sus efectos es mediante el bloqueo de la síntesis de proteínas con fármacos como los ISP. En otro trabajo, Komatsuzaki y colaboradores (2005) encontraron que un agonista específico al GR, la dexametasona, aumentó la densidad de espinas tipo hongo; y la cicloheximida, un ISP, no impidió el efecto de la dexametasona cuando se administraban en conjunto. Estos resultados sugieren que la espinogénesis podría llevarse a cabo a través de un mecanismo no genómico.

Actualmente se sugiere que la consolidación de la memoria de un entrenamiento intenso ocurre gracias a la acción de mecanismos no genómicos (Prado-Alcalá et al., 2020), puesto que la consolidación de este tipo de memoria perdura incluso ante el bloqueo del ARNm en el hipocampo y ante el bloqueo de la síntesis de proteínas en el hipocampo (Medina et al., 2019) y en estriado dorsal (González-Franco et al., 2019), aunado a que el aumento de la espinogénesis observado (Bello-Medina et al., 2016) podría relacionarse con el aumento en la CORT sistémica (González-Franco et al., 2017).

De esta manera, es necesario analizar la posible participación de la vía no genómica en la consolidación de un entrenamiento intenso. Para ello, hay que considerar que los receptores a GR α están acoplados a proteínas Gq/s que estimulan la actividad de diversas cinasas como la PKA y la PKC, la vía de las ERK cinasas, entre otras, las cuales, convergen en la expresión de genes y, por consiguiente, de proteínas que influyen en los procesos de plasticidad asociados a procesos cognitivos (Groeneweg et al., 2011).

Hay muchas evidencias que nos permiten sugerir que el bloqueo de la vía no genómica podría dar como resultado un deterioro en la consolidación de un entrenamiento intenso. Por ejemplo, Komatsuzaki y colaboradores (2012) demostraron que en rebanadas de hipocampo el número de espinas dendríticas tipo hongo se incrementa ante la presencia de CORT y que tal efecto es revertido cuando se inhibe PKC, Erk, PKA, MAPK y P13K.

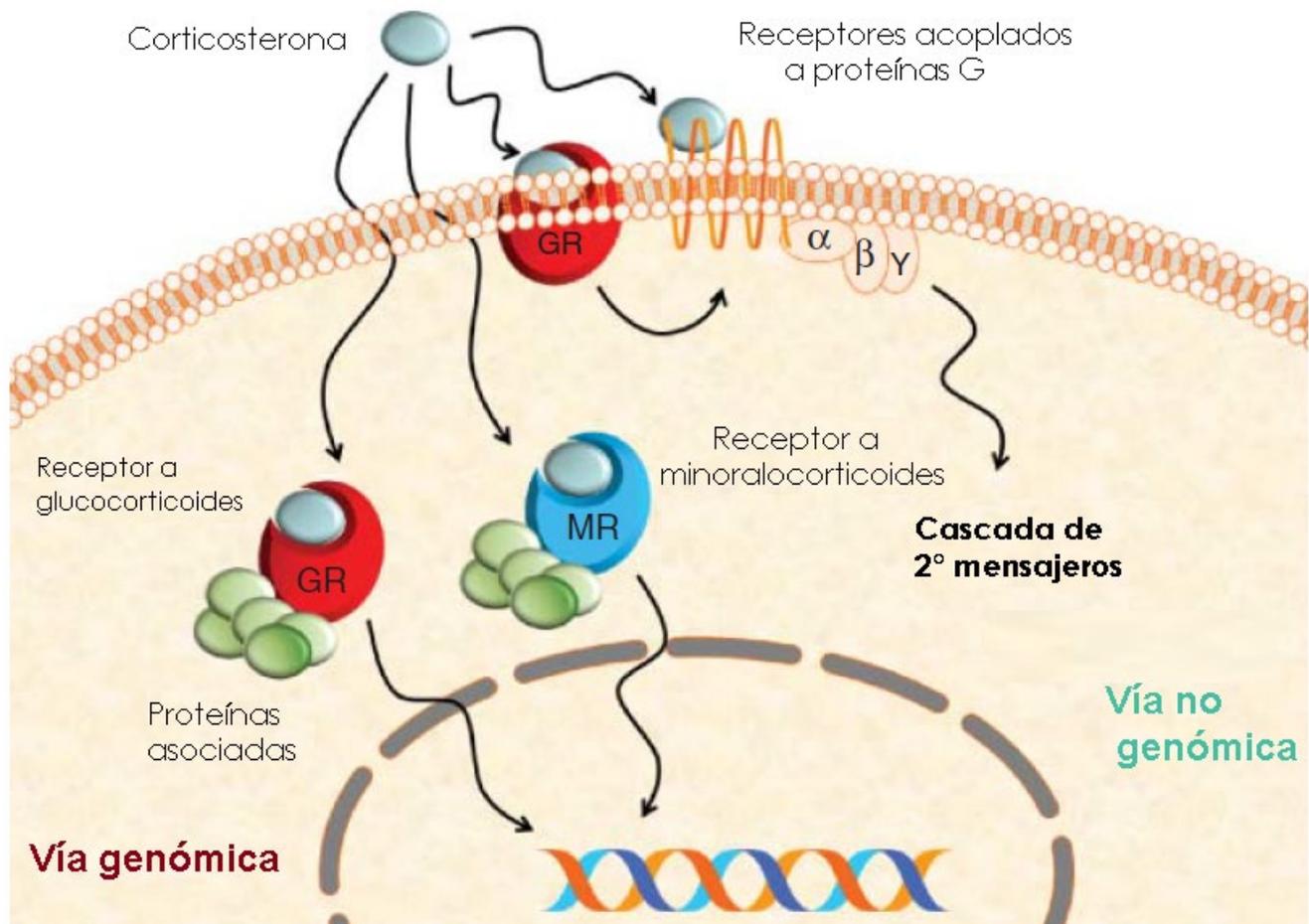


Figura 5. Representación esquemática de las vías de señalización del receptor a glucocorticoides. Modificado de Tasker y Joels (2015).

De este modo, para encontrar algún posible mecanismo neurobiológico que explique los efectos encontrados debido a un entrenamiento intenso, el presente trabajo decidió explorar el papel de la PKC sobre la consolidación de este tipo de memoria, considerando su importante rol para el mantenimiento de la espinogénesis (Larsson, 2006; Komatsuzaki et al., 2012) y a que se ha reportado que cuando se bloquea su actividad con QUEL se observan deterioros en la memoria (Núñez-Jaramillo, Delint-Ramírez y Bermúdez-Rattoni, 2007; Rodríguez-Durán y Escobar, 2014).

III. JUSTIFICACIÓN

Para lograr comprender a la neurobiología de la memoria es necesario determinar los mecanismos que emplea el sistema nervioso para almacenar la información de manera más o menos permanente.

La capacidad para aprender y recordar asociaciones entre los estímulos ambientales y los estímulos aversivos es esencial para la sobrevivencia porque permite al organismo evitar ese tipo de eventos y reducir sus probabilidades de daño. En un contexto amenazante, los individuos pueden emplear estrategias de defensa, como respuestas de lucha o huida, o un afrontamiento pasivo que se caracteriza por una inmovilidad (Wood y Bhatnagar, 2015). Sin embargo, las respuestas inhibitorias pueden volverse problemáticas y generar problemas de índole psiquiátrico como la ansiedad generalizada o el síndrome de estrés postraumático (Sripada et al., 2013; Stanley et al., 2021).

Potencialmente, este tipo de investigación permitiría comprender la manera en la que el sistema nervioso procesa la información de determinadas experiencias intensas para guardarlas por largo plazo. De esta forma, los datos obtenidos en esta tesis podrían ser evidencia que permitiera generar una posible explicación para los informes clínicos en donde se menciona que las experiencias más intensas son las que menos susceptibles resultan a los tratamientos que comúnmente producen amnesia.. Lo anterior, tiene repercusiones claras para el desarrollo de estrategias terapéuticas en padecimientos tales como el trastorno de estrés postraumático (Prado-Alcalá et al., 2012).

IV. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Existe deterioro en la consolidación de la memoria de un entrenamiento moderado cuando se bloquea la actividad de la PKC en el estriado dorsomedial?

¿Existe deterioro en la consolidación de la memoria de un entrenamiento intenso cuando se bloquea la actividad de la PKC en el estriado dorsomedial?

V. OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto del bloqueo de la actividad de la PKC en el estriado dorsomedial de ratas sobre la consolidación de la memoria de un entrenamiento moderado o intenso de la tarea de evitación inhibitoria.

VI. HIPÓTESIS

H₁: El bloqueo de la actividad de la PKC en el estriado dorsomedial deteriorará la consolidación de la memoria de un entrenamiento moderado.

H₂: El bloqueo de la actividad de la PKC en el estriado dorsomedial deteriorará la consolidación de la memoria de un entrenamiento intenso.

VII. MÉTODO GENERAL Y DISEÑO EXPERIMENTAL

Todos los experimentos fueron realizados siguiendo las indicaciones del Comité de Bioética del Instituto de Neurobiología (INB) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) atendiendo a la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 (2001) referentes al uso y manejo de animales de experimentación. De igual modo, se siguieron puntualmente las recomendaciones de la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (National Research Council, 2011).

1. Animales

Se emplearon 117 ratas macho de la cepa Wistar (250 – 350 g) provenientes del bioterio del INB de la UNAM y se asignaron de manera aleatoria a cada uno de los grupos experimentales. Las ratas permanecieron individualmente en cajas habitación de acrílico ubicadas en el bioterio del laboratorio con una temperatura entre los 22 y 24 °C, con un ciclo de luz-obscuridad de 12 h (encendiendo las luces a las 07:00 h) permitiéndoles el libre acceso a agua y comida. Todos los experimentos se efectuaron entre las 07:00 a 14:00.

2. Cirugía estereotáxica

Antes de la cirugía los animales fueron anestesiados con pentobarbital sódico (50 mg/kg i.p.) y se les administró atropina (0.4 mg/kg i.p.) para evitar complicaciones respiratorias. Una vez anestesiadas y con la ayuda de un aparato estereotáxico, se procedió a implantar (de manera bilateral) cánulas fabricadas con tubo de aguja hipodérmica de acero inoxidable del número 23, de 11 mm de largo. Tales cánulas se dirigieron a la región dorsomedial del estriado siguiendo las coordenadas reportadas en el Atlas de Paxinos y Watson (2005) para cerebro de rata (AP = + 0.4 mm, ML = \pm 2.2 mm y DV = - 4.0 mm). Después de fijarlas en el cráneo con acrílico dental, se les colocó un estilete de la misma longitud para evitar que se taparan, mismo que fue retirado cuando se administró QUEL, ANI o sus respectivas soluciones vehículo. Las pruebas conductuales comenzaron ocho días después para garantizar la recuperación.

3. Microinyección

Se administró una inyección bilateral de QUEL, ANI o sus respectivos vehículos (0.5 μ L/1 min) a través de las cánulas utilizando inyectores contruidos con agujas de acero inoxidable de calibre 30 que estaban conectados a una jeringa Hamilton de 10 μ L acopladas a un bomba de infusión continua WPI modelo sp200i. Los inyectores sobresalían 1 mm de la punta de la cánula. Una vez terminada la infusión, se dejaron dentro de las cánulas durante un minuto adicional. Las inyecciones se realizaron en un cuarto diferente de donde se realizó el entrenamiento y la prueba de retención.

4. Tarea de Evitación Inhibitoria (EI)

4.1 Aparatos

El entrenamiento se llevó a cabo en una cámara de evitación inhibitoria (Figura 6). Este aparato tiene dos compartimentos: el de seguridad y el de castigo que son del mismo tamaño (30 cm X 30 cm X 30 cm) y están separados por una puerta deslizante tipo guillotina. Las paredes del compartimento de seguridad están hechas de acrílico rojo y el piso es una rejilla

de tubos de acero inoxidable. Cuenta con un foco de 10 W en el centro de su tapa para mantenerlo iluminado. El compartimento de castigo no está iluminado y a la mitad de su piso hay una ranura de 1.5 cm que separa dos placas de acero inoxidable que forman las paredes laterales. Tales placas tienen forma de V y tienen 20 cm de separación en la parte superior y 8 cm en la parte inferior. Las placas del compartimento de castigo están conectadas a una unidad de corriente constante (*Grass Instruments Co.*, modelo CCU-1 EEUU), la cual, está conectada a un estimulador de pulsos cuadrados (*Grass Instruments Co.*, modelo S486G, EEUU). La duración de los estímulos así como las latencias de entrada, escape y retención fueron medidas con ayuda de un equipo automatizado.

Es importante mencionar que los compartimentos de la cámara de EI fueron limpiados con alcohol al 10% antes y después de cada ensayo. La cámara de EI se ubica dentro de un cuarto sonoamortiguado y oscuro, provisto de un enmascarador de ruido (BRS/LVE, modelo AU-902).

4.2 Manipulación

Antes del entrenamiento, las ratas fueron manipuladas en tres sesiones para habituarlas al manejo del experimentador y disminuir el estrés provocado por éste. Cada sesión consistió en colocar sobre las piernas del experimentador una toalla blanca y, luego, tomar a la rata y sujetarla cuidadosamente para manipularla con ambas manos (usando guantes) durante aproximadamente 5 minutos. Durante este tiempo se verificó el estado de las cánulas así como el peso del animal. Al término, la rata se regresó a su caja habitación.

4.3 Entrenamiento

La rata fue colocada en el compartimento de seguridad y 10 s después se abrió la puerta deslizante. Una vez que el animal hubo pasado al compartimento de castigo, se cerró la puerta y se le administró un choque eléctrico de 1.0 o 3.0 mA durante 10 s. Transcurridos 5 s después del inicio de la administración del choque, se abrió la puerta y se le permitió el escape hacia el compartimento de seguridad donde permaneció durante 30 s antes de ser regresada a su caja habitación. Se registró el tiempo transcurrido entre la colocación de la

rata dentro del compartimento de seguridad y el momento en el que ingresó al compartimento de castigo (latencia de entrada), así como el tiempo que le tomó salir de éste (latencia de escape).

4.4 Prueba de retención

La prueba de retención se realizó 48 h después del entrenamiento. En esta sesión se siguió el mismo procedimiento descrito en la sesión de entrenamiento, pero sin administrar el choque eléctrico. Se midió el tiempo que le tomó a la rata pasar hacia el compartimento de castigo (latencia de retención). Si el animal no pasó en el transcurso de 600 s, se daba por terminada la sesión y se anotaba ese tiempo como latencia de retención.



Figura 6. Cámara de evitación inhibitoria. A. Compartimento de seguridad. **B.** Compartimento de castigo. **C.** Estimulador de pulsos cuadrados.

5. Análisis histológico

5.1 Tinción de Nissl y verificación de cánulas

Después del experimento, todos los animales se les aplicó eutanasia con una sobredosis de pentobarbital sódico y se perfundieron por vía intracardiaca con solución salina isotónica seguida de formaldehído al 4%. Posteriormente se extrajo el cerebro y se colocó en un frasco

con formaldehído al 4% durante una semana para finalmente ser puesto en un frasco con solución de sacarosa al 3% como medio de crioprotección durante tres días. Pasado este tiempo, se procedió a la verificación de las cánulas haciendo cortes coronales que se montaron en laminillas, los cuales, fueron teñidos con la tinción de Nissl y ser observados al microscopio (Leica S6E L12, Alemania). Aquellos animales que mostraron que los inyectores no se ubicaban en el EDM fueron excluidos del análisis estadístico.

6. Análisis estadístico

Debido al corte arbitrario de 600 s en las latencias de retención, los resultados fueron analizados con estadística no paramétrica. Se utilizó la prueba Kruskal-Wallis para comparar de forma independiente las latencias de entrada, escape y retención. En caso de encontrar diferencias significativas, se aplicó la prueba de comparaciones múltiples de Dunn para comparar entre pares de grupos. En el caso de los experimentos en los que se midió la memoria de corto plazo se empleó la prueba Wilcoxon para determinar entre las latencias de retención de un mismo grupo medidas en dos tiempos distintos. Las comparaciones entre pares de grupos independientes se realizaron con la prueba U de Mann-Whitney. En todos los casos se empleó un nivel de significancia de $p < 0.05$.

VIII. RESULTADOS DE LA TINCIÓN DE NISSL Y LA VERIFICACIÓN DE CÁNULAS

La figura 7 muestra la ubicación de las puntas de los microinyectores en el EDM de todas las ratas (grupos control y grupos tratados). Hubieron 5 ratas que tuvieron las puntas fuera del área objetivo, por lo cual, tuvieron que ser excluidas de los análisis estadísticos. Tales ratas fueron reemplazadas haciendo que los grupos tuvieran un tamaño de muestra entre seis a ocho sujetos.

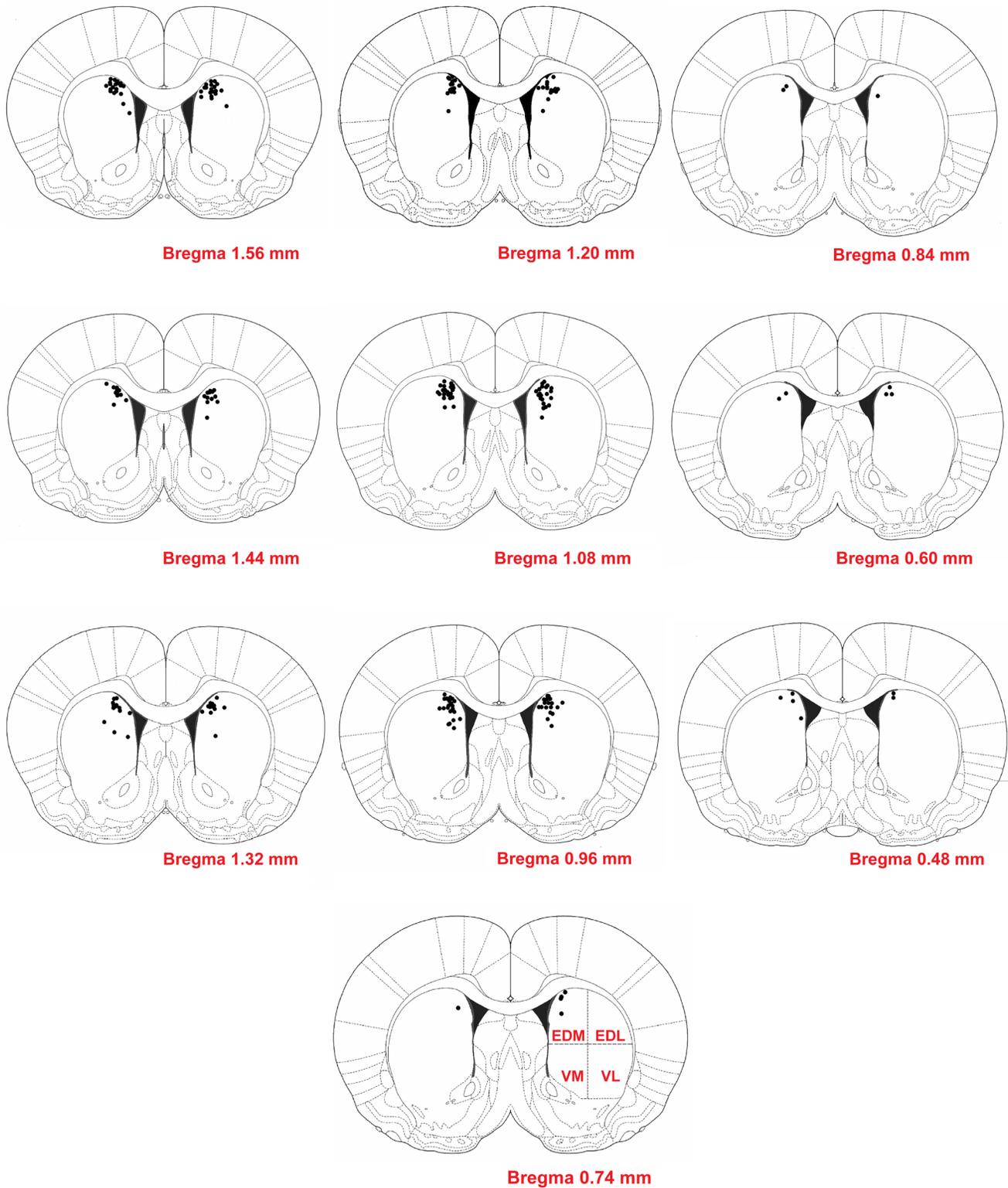


Figura 7. Ubicación de las puntas de los microinyectores dentro del EDM a lo largo de diferentes planos. Cada par de puntos representa a una rata. En el último plano (Bregma 0.74 mm) se muestra una división de las áreas estriatales (González-Franco et al., 2017). Los planos fueron modificados del Atlas de Watson y Paxinos (2007). EDM: Estríado Dorsomedial, EDL: Estríado Dorsolateral, VM: Ventromedial, VL: Ventrolateral.

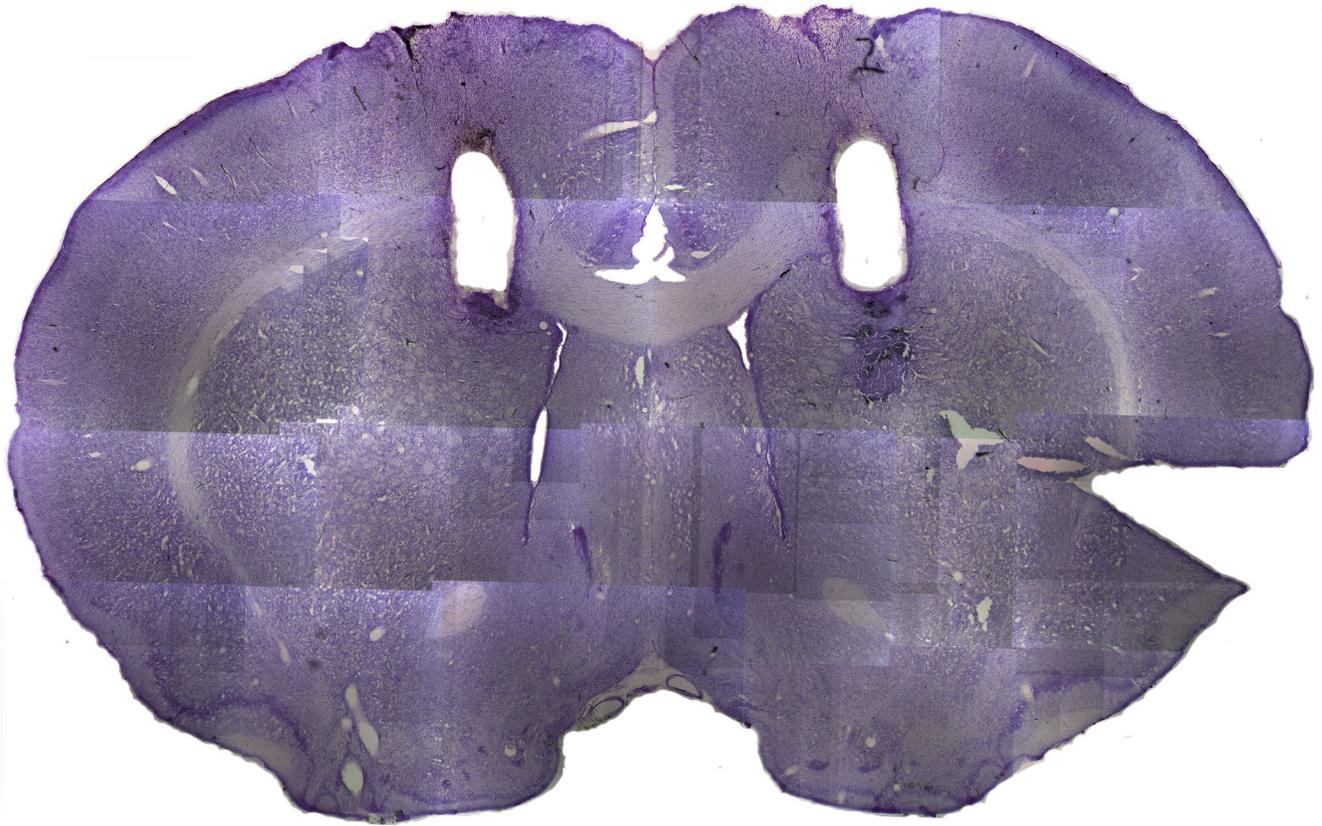


Figura 8. Corte coronal y representativo del estriado. Se puede observar la trayectoria de una cánula con las puntas de los microinyectores en el EDM.

IX. Experimento I: curva dosis-repuesta de queleritina

1. Método y diseño experimental

El objetivo de este experimento fue determinar el efecto de tres dosis de QUEL: 3.84 μg (reportada por Núñez-Jaramillo et al., 2007; Rodríguez-Durán y Escobar, 2014), 7.68 μg , y 15.36 μg . Estas dosis fueron administradas 20 minutos antes del entrenamiento en EI para observar su efecto sobre la consolidación y establecer un efecto óptimo en la generación de amnesia retrógrada. En todos los grupos se empleó un choque de 1.0 mA para el entrenamiento de la tarea. Se realizó una prueba de retención a las 48 h posteriores al entrenamiento (Prueba de MLP). El desarrollo temporal de este experimento se indica en la figura 9:

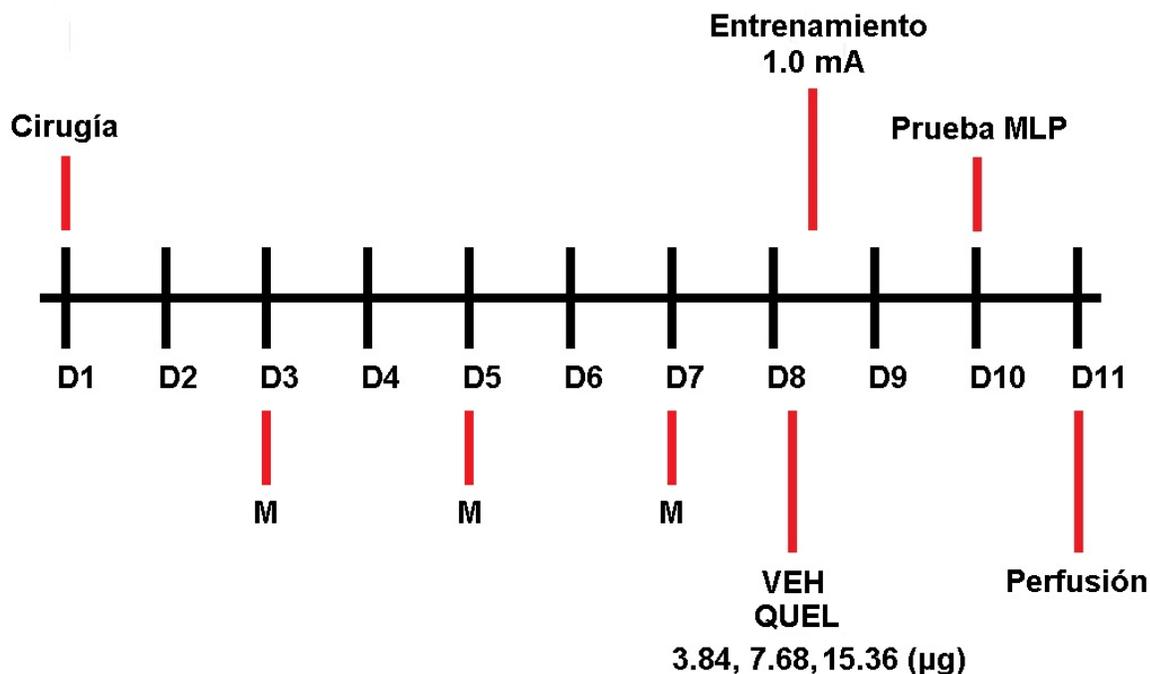


Figura 9. Línea temporal del experimento I: curva dosis-respuesta de la queleritrina. A grupos independientes de ratas se les administró tres dosis de QUEL o VEH (3.84, 7.68 y 15.36 µg), 20 minutos antes del entrenamiento en EI. La prueba de retención se realizó 48 h posteriores al entrenamiento y ser perfundidas y extraer su cerebro. D: Día; M: Manipulación.

2. Resultados

La prueba Kruskal-Wallis no mostró diferencias significativas en la latencia de entrada ($H_{(3)} = 2.327$, $p = 0.5074$) (Figura 10A) y de escape ($H_{(3)} = 1.914$, $p = 0.5904$) (Figura 10B) entre los grupos. Sin embargo, los grupos difieren estadísticamente en cuanto a su latencia de retención ($H_{(3)} = 24.21$, $p < 0.001$) (Figura 10C) encontrándose que el grupo al que se le administró el VEH tuvo una latencia mayor que la de los grupos a los que se les administraron 7.68 µg ($p < 0.05$) y 15.36 µg de QUEL ($p < 0.05$). No se encontraron diferencias al comparar entre otros pares de grupos.

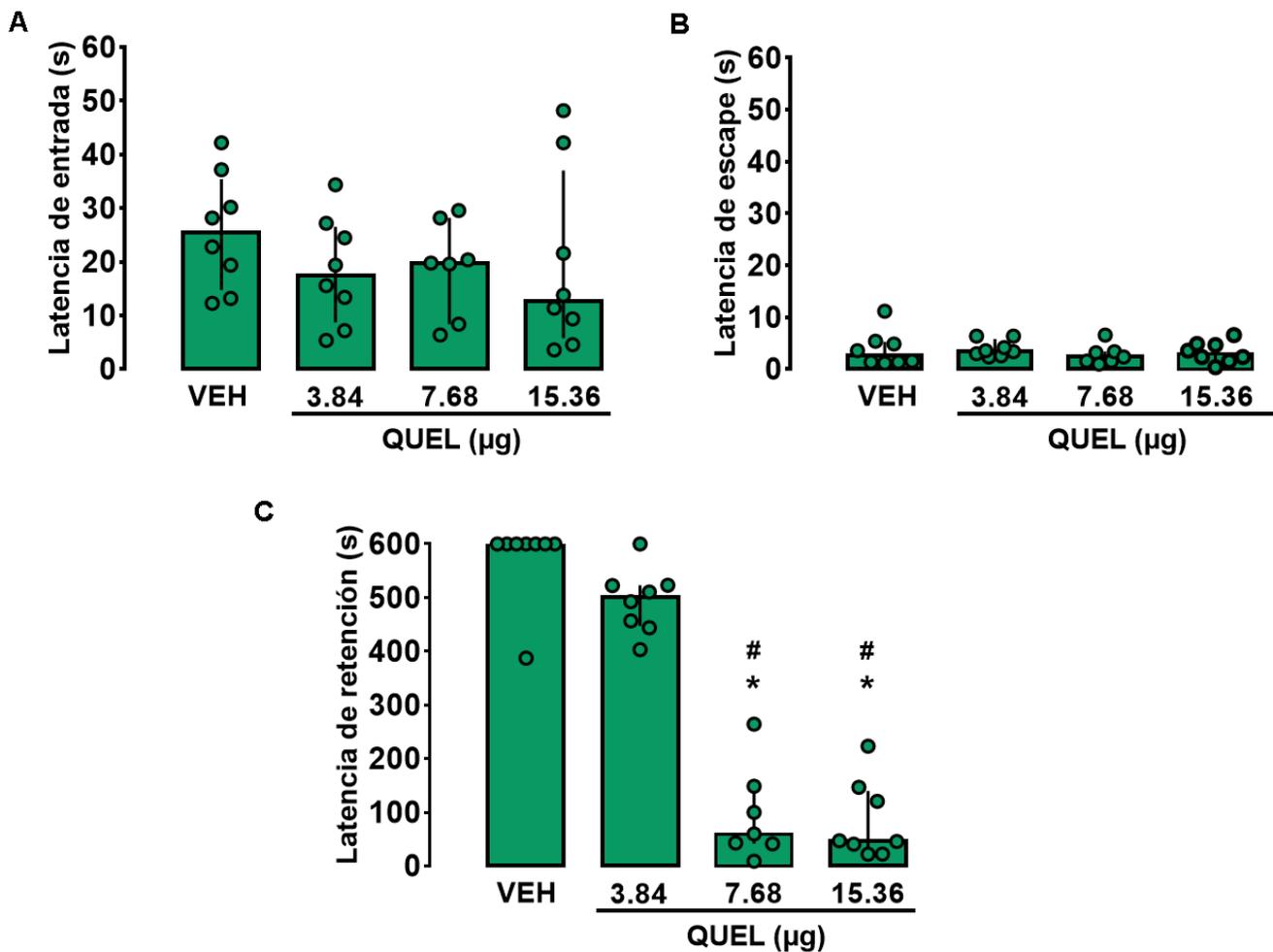


Figura 10. Resultados conductuales del experimento I: curva dosis-respuesta de la queleritina. Están graficadas las medianas con sus respectivos rangos intercuartilares de las latencias de entrada, escape y retención de los grupos independientes de ratas a las que les administró VEH y tres dosis de QUEL (3.84, 7.68 y 15.36 µg) 20 minutos antes del entrenamiento en EI con un choque de 1.0 mA. **A.** Latencia de entrada al compartimento de castigo. No se observan diferencias entre los grupos. **B.** Latencia de escape del compartimento de castigo. No se encontraron diferencias entre los grupos. **C.** Latencia de retención. Se observan diferencias entre los grupos. * $p < 0.001$ vs VEH. # $p < 0.05$ vs QUEL 3.84 µg. Todos los grupos estuvieron integrados por ocho ratas, excepto el grupo de 7.68 µg que tuvo compuesto por siete ratas. Nótese que las gráficas tienen ejes con diferentes escalas.

X. EXPERIMENTO II: DEPENDENCIA DE ESTADO CON 1.0 mA

1. Método y diseño experimental

Como la administración de QUEL se realizó antes del entrenamiento, es importante comprobar que los deterioros en la memoria no se deben a una memoria dependiente del

estado, es decir, a aquella memoria adquirida bajo la influencia de una droga y que sólo puede ser recordada en el mismo estado, pero no en un estado fisiológico diferente (Overton, 1964). Para evaluar esta posibilidad, se emplearon dos grupos de ratas a las que se les administró VEH o 7.68 µg de QUEL dos veces: tanto 20 minutos antes del entrenamiento como 20 minutos antes de la prueba de retención (Figura 11). Cabe aclarar que a pesar de que se encontraron dos dosis de QUEL que generaron un deterioro en la memoria, según los resultados del experimento anterior, se eligió la dosis de 7.68 µg por ser de menor concentración y, con ello, tener una menor probabilidad de provocar efectos secundarios o inespecíficos. Los grupos de ratas fueron entrenados con una intensidad de 1.0 mA de choque.

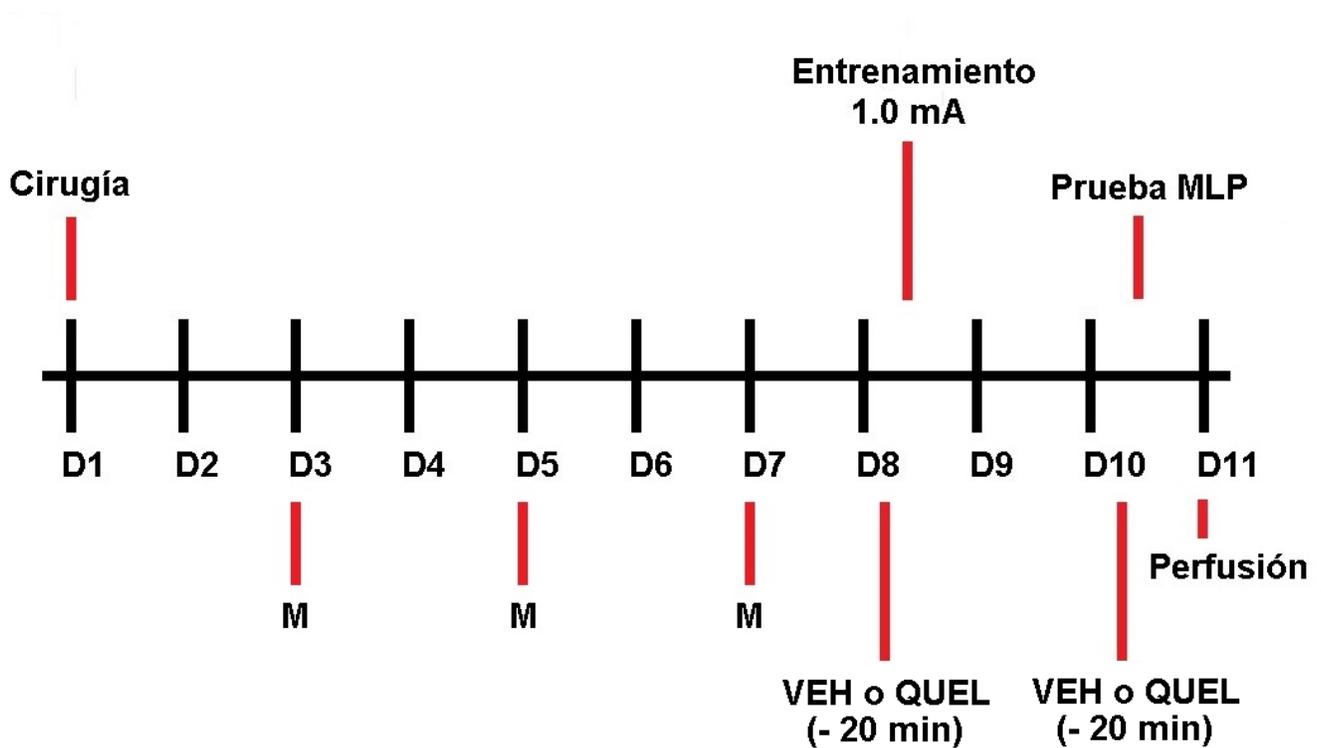


Figura 11. Línea temporal del experimento II: dependencia de estado con 1.0 mA. A cada grupo de ratas se le administró VEH o QUEL 20 minutos antes del entrenamiento y de la prueba de retención que se realizó 48 h después del entrenamiento. D: Día, M: Manipulación.

2. Resultados

La prueba U de Mann-Whitney no reportó diferencias estadísticamente significativas en la latencia de entrada ($p = 0.2527$) (Figura 12A), ni en la latencia de escape ($p = 0.2591$) de los grupos (Figura 12B). Sin embargo, el grupo tratado con QUEL manifestó una menor latencia de retención ($p < 0.0001$) (Figura 12C).

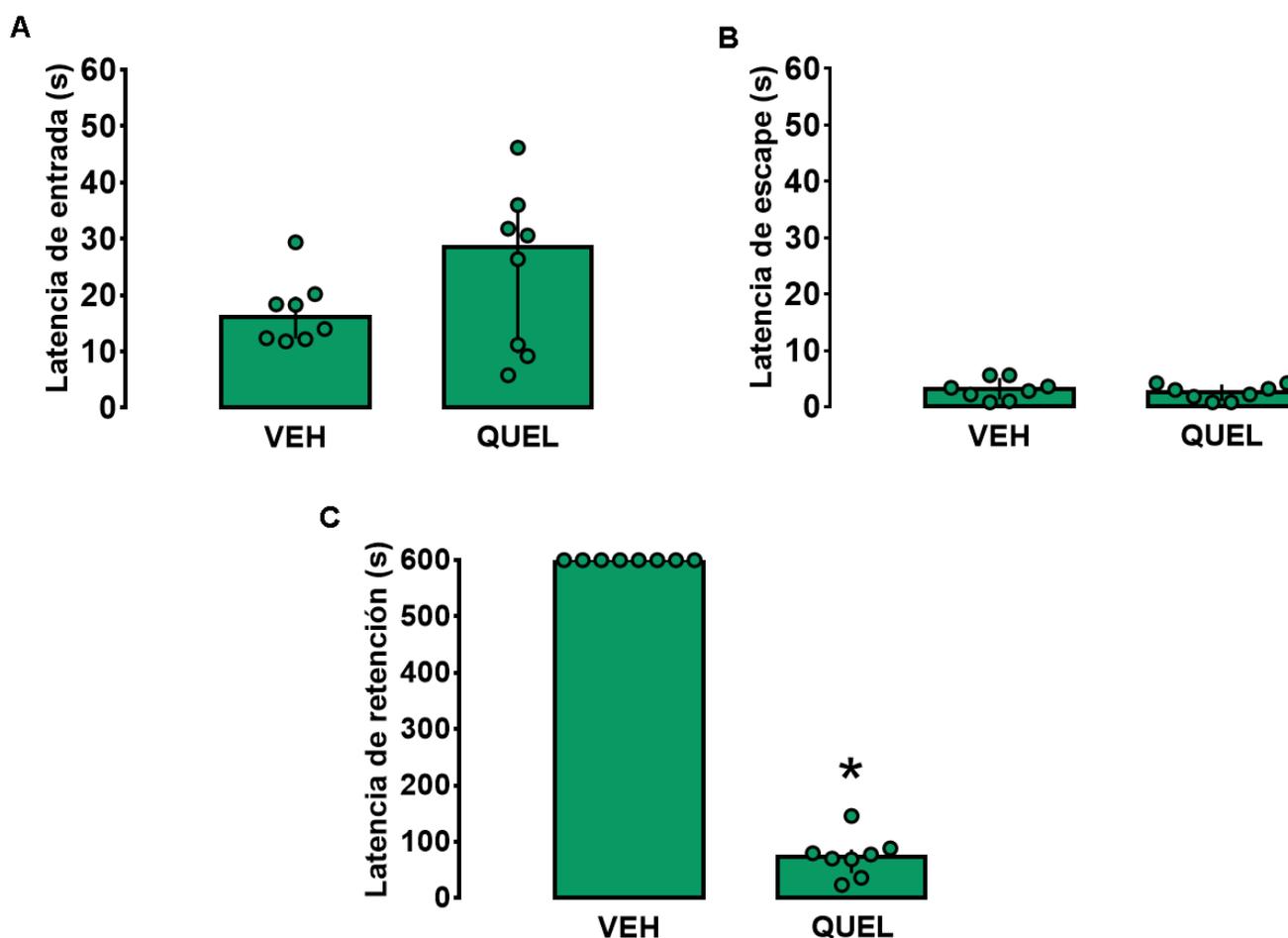


Figura 12. Resultados conductuales del experimento II: dependencia de estado 1.0 mA. Se administró VEH o 7.68 μ g de QUEL dos veces: tanto 20 minutos antes del entrenamiento como 20 minutos antes de la prueba de retención. Se muestran las medianas y los rangos intercuartilares. **A.** Latencia de entrada al compartimento de castigo. No se observan diferencias entre los grupos. **B.** Latencia de escape del compartimento de castigo. Los grupos no fueron estadísticamente diferentes entre sí. **C.** Latencia de retención entre los distintos grupos experimentales. Se observa una disminución significativa en la latencia de retención del grupo QUEL. * $p < 0.0001$. Todos los grupos tuvieron ocho ratas cada uno. Nótese que los ejes de las gráficas son diferentes.

XI. EXPERIMENTO III: MEMORIA DE CORTO PLAZO

1. Método y diseño experimental

Para demostrar que la QUEL no interfiere con el aprendizaje de la tarea de EI, se emplearon grupos independientes de ratas a las que se les administró una sola dosis de 7.68 μg de QUEL o VEH 20 minutos antes del entrenamiento con un choque de 1.0 mA. Después de 30 minutos, estos grupos de ratas se sometieron a una primera prueba de retención (MCP). Finalmente, pasadas 48 h, se volvieron a probar en una segunda prueba de retención (Figura 13).

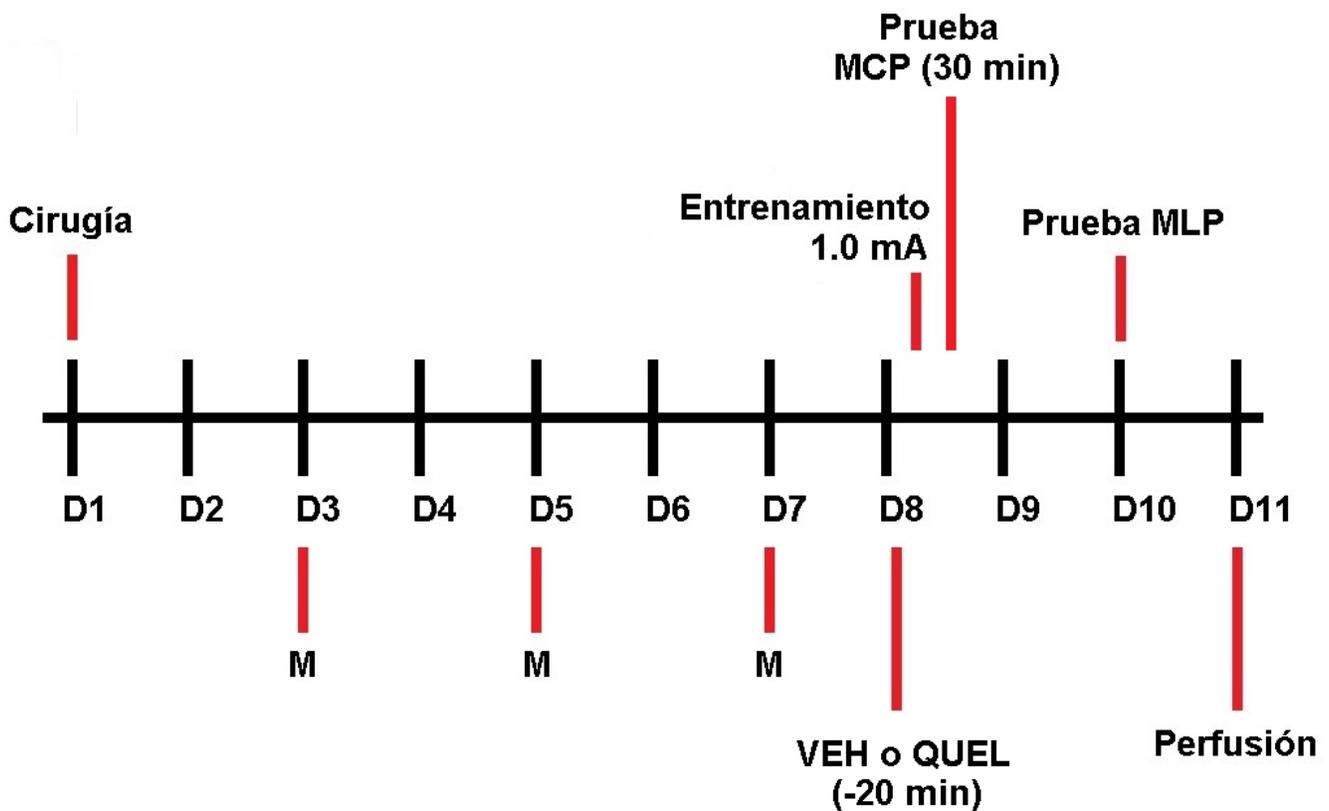


Figura 13. Línea temporal del experimento III: memoria de corto plazo. Se administró una sola vez 7.68 μg de VEH o QUEL 20 minutos antes del entrenamiento. Todos los grupos de ratas se sometieron a dos pruebas de retención: la primera a los 30 minutos después del entrenamiento (MCP) y la segunda a las 48 h pasadas el entrenamiento. D: día, M: Manipulación.

2. Resultados

No se encontraron diferencias en la latencia de entrada ($p = 0.1172$) ni en la latencia de escape ($p = 0.4082$). Los grupos no difirieron en la latencia de retención medida a los 30 minutos ($p = 0.5$), pero se encontró que la latencia de retención a las 48 h disminuyó en el grupo tratado con QUEL en comparación con el VEH ($p < 0.0001$). También se muestra que la latencia del grupo QUEL a las 48 h es menor que a las 30 min ($p = 0.0039$) (Figura 14).

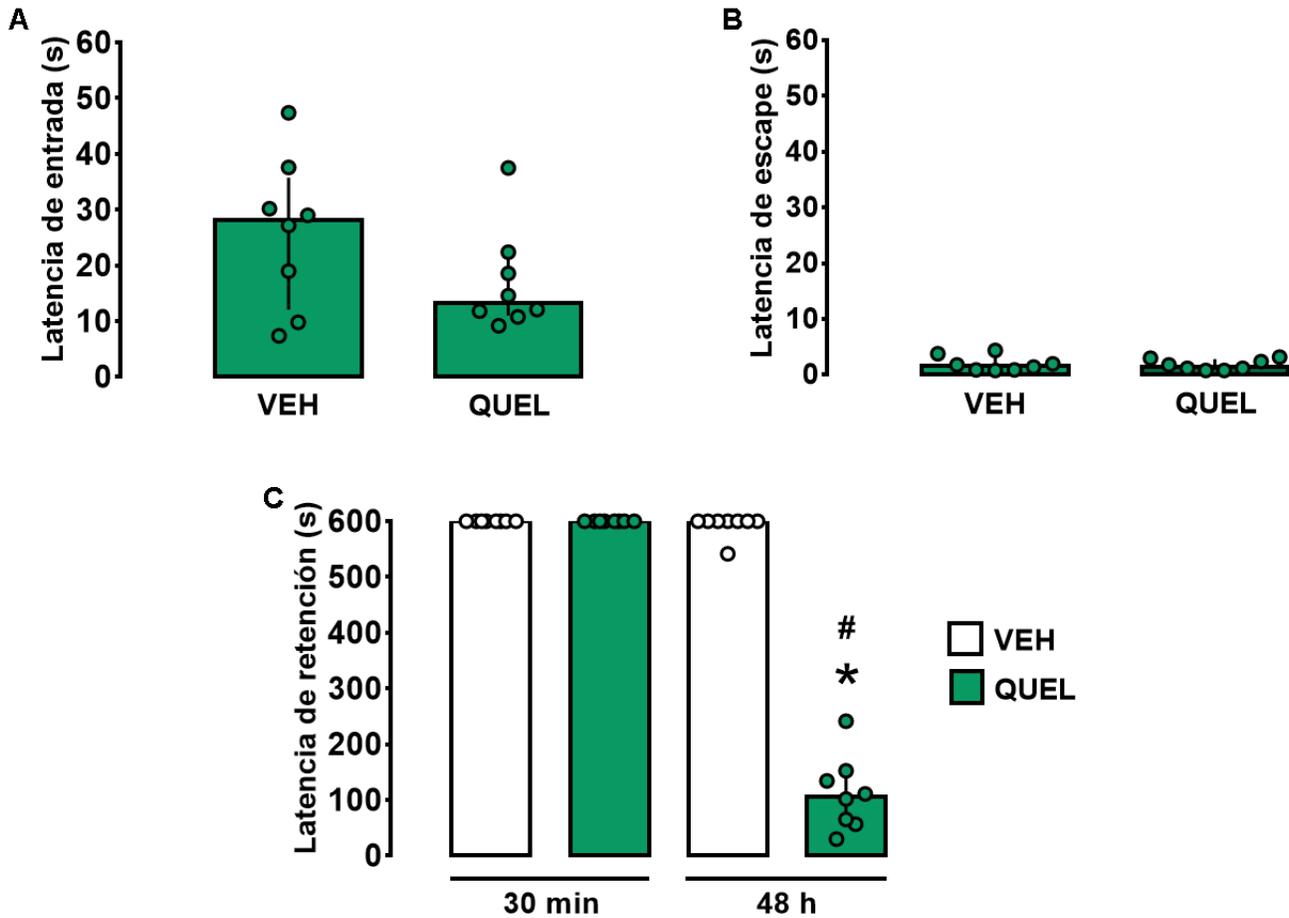


Figura 14. Resultados conductuales del experimento III: memoria de corto plazo. Se muestran graficadas las medianas con sus diferentes rangos intercuantiles de las latencias de entrada, escape y retención de los grupos independientes de ratas a las que se les administró 7.68 μ g de VEH o QUEL 20 minutos antes del entrenamiento en El con un choque de 1.0 mA. **A.** Latencia de entrada al compartimento de castigo. No se observaron diferencias entre los grupos. **B.** Latencia de escape del compartimento de castigo. Los grupos no fueron diferentes entre sí. **C.** Latencia de retención. Los grupos independientes de ratas fueron probados tanto a los 30 minutos como a las 48 h, encontrándose que el grupo al que se le administró QUEL tuvo una disminución estadísticamente significativa en su retención medida a los 30 minutos con respecto a la segunda latencia de retención medida a las 48 h. Por otro lado, la latencia de retención del grupo QUEL es menor a las 48 h con respecto al grupo VEH. * $p < 0.0001$ contra VEH 48 h, # $p < 0.01$ contra QUEL 30 min. Todos los grupos tuvieron ocho ratas cada uno. Nótese que los ejes de las gráficas son diferentes.

XII. EXPERIMENTO IV: ENTRENAMIENTO INTENSO

1. Método y diseño experimental

Para determinar si existía un efecto protector en la memoria como resultado de un entrenamiento intenso, se emplearon grupos independientes de ratas a las que se les administró una sola dosis de 7.68 μg de VEH o QUEL 20 minutos antes del entrenamiento con un choque de 3.0 mA (Figura 15).

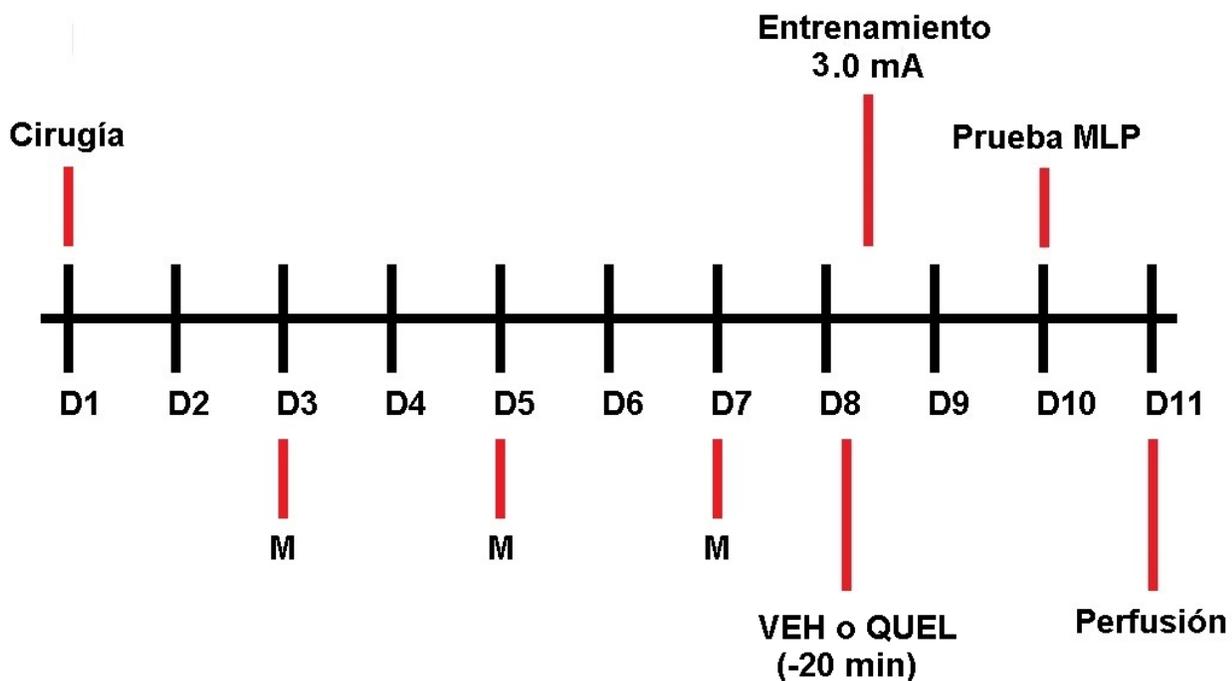


Figura 15. Línea temporal del experimento IV: entrenamiento intenso. A cada grupo de ratas se les administró 7.68 μg de VEH o QUEL 20 minutos antes del entrenamiento en la tarea de EI con un choque de 3.0 mA. La prueba de retención se realizó 48 h después del entrenamiento. D: Día, M: Manipulación.

2. Resultados

Los grupos de ratas no son diferentes en cuanto a su latencia de entrada ($p = 0.4504$) (Figura 16A) o en sus latencias de escape ($p = 0.2946$) (Figura 16B), pero sí hubo diferencias estadísticamente significativas en su latencia de retención dado que el grupo tratado con QUEL mostró una latencia de retención significativamente menor ($p < 0.0001$) (Figura 16C).

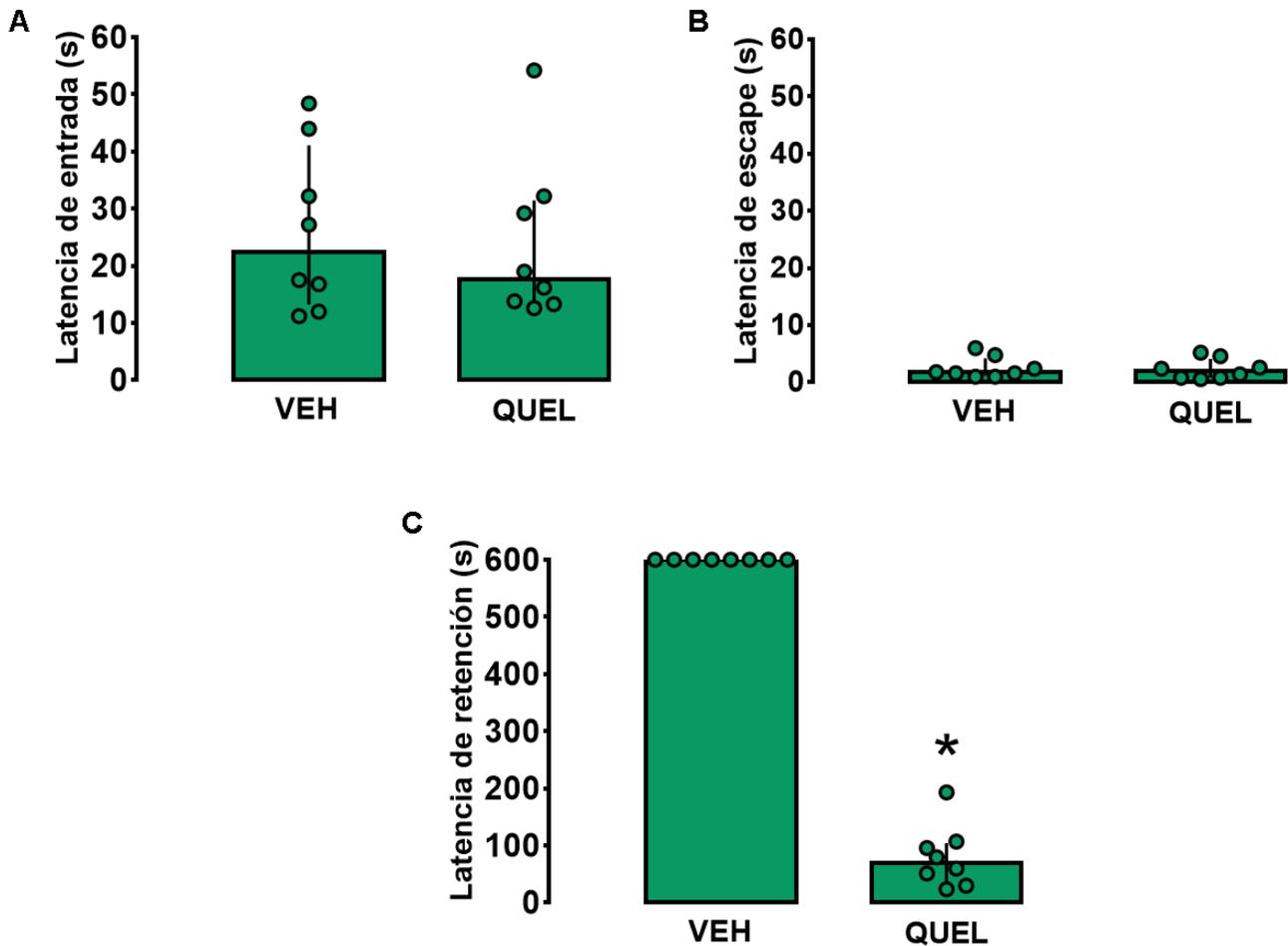


Figura 16. La administración de QUEL en el EDM bloquea al efecto protector de la memoria del entrenamiento intenso. Están graficadas las medianas con sus rangos intercuartiles de las latencias de entrada, escape y retención de los grupos a los que se les administró 7.68 μ g de VEH o QUEL 20 minutos antes del entrenamiento en la tarea de EI con un choque de 3.0 mA. **A.** Latencia de entrada al compartimento de castigo. No se observaron diferencias entre los grupos. **B.** Latencia de escape del compartimento de castigo. No se observaron diferencias entre los grupos. **C.** Latencia de retención. Se observó que la QUEL induce un deterioro en la retención. Todos los grupos tuvieron una n de ocho sujetos. Nótese que los ejes de las gráficas son diferentes. * $p < 0.0001$ vs VEH.

XII. EXPERIMENTO V: DEPENDENCIA DE ESTADO CON 3.0 mA

1. Método y diseño experimental

Recientemente se reportó que los animales que habían sido entrenados con un entrenamiento intenso podían desarrollar una memoria dependiente de estado (Torres-García et al., 2017). Para evaluar si esta posibilidad ocurría con la QUEL en el EDM, se utilizaron

grupos independientes de ratas a las que se les administró dos veces 7.68 μ g de VEH o QUEL: la primera dosis 20 minutos antes del entrenamiento con un choque de 3.0 mA y la segunda 20 minutos antes de la prueba de retención (Figura 17).

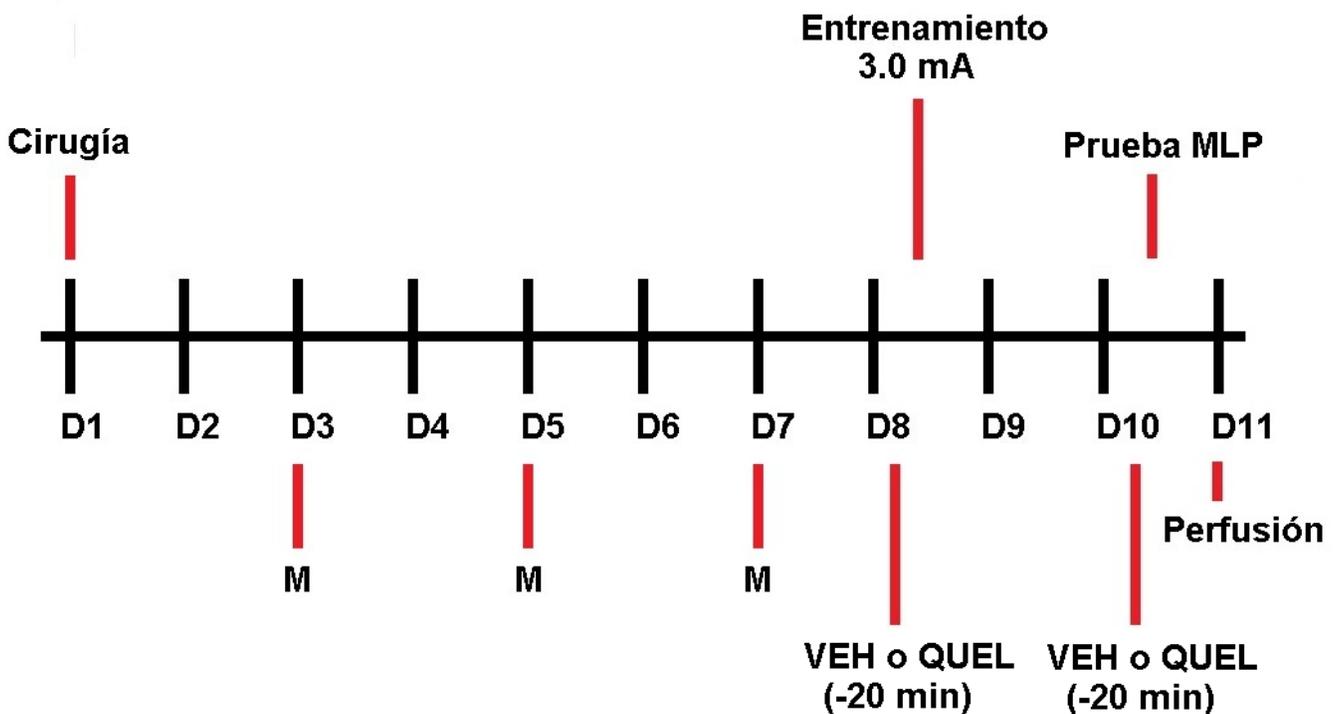


Figura 17. Línea temporal del experimento V: dependencia de estado con 3.0 mA. A cada grupo de ratas se le administró una primera dosis de 7.68 μ g de VEH o QUEL 20 minutos antes del entrenamiento y una segunda dosis 20 minutos antes de la prueba de retención que se realizó 48 h después del entrenamiento. D: día, M: manipulación.

2. Resultados

Los grupos no difieren en su latencia de entrada ($p = 0.0844$) ni en su latencia de escape ($p = 0.1494$). Sin embargo, se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la latencia de retención de los grupos ($p = 0.0011$) (Figura 18).

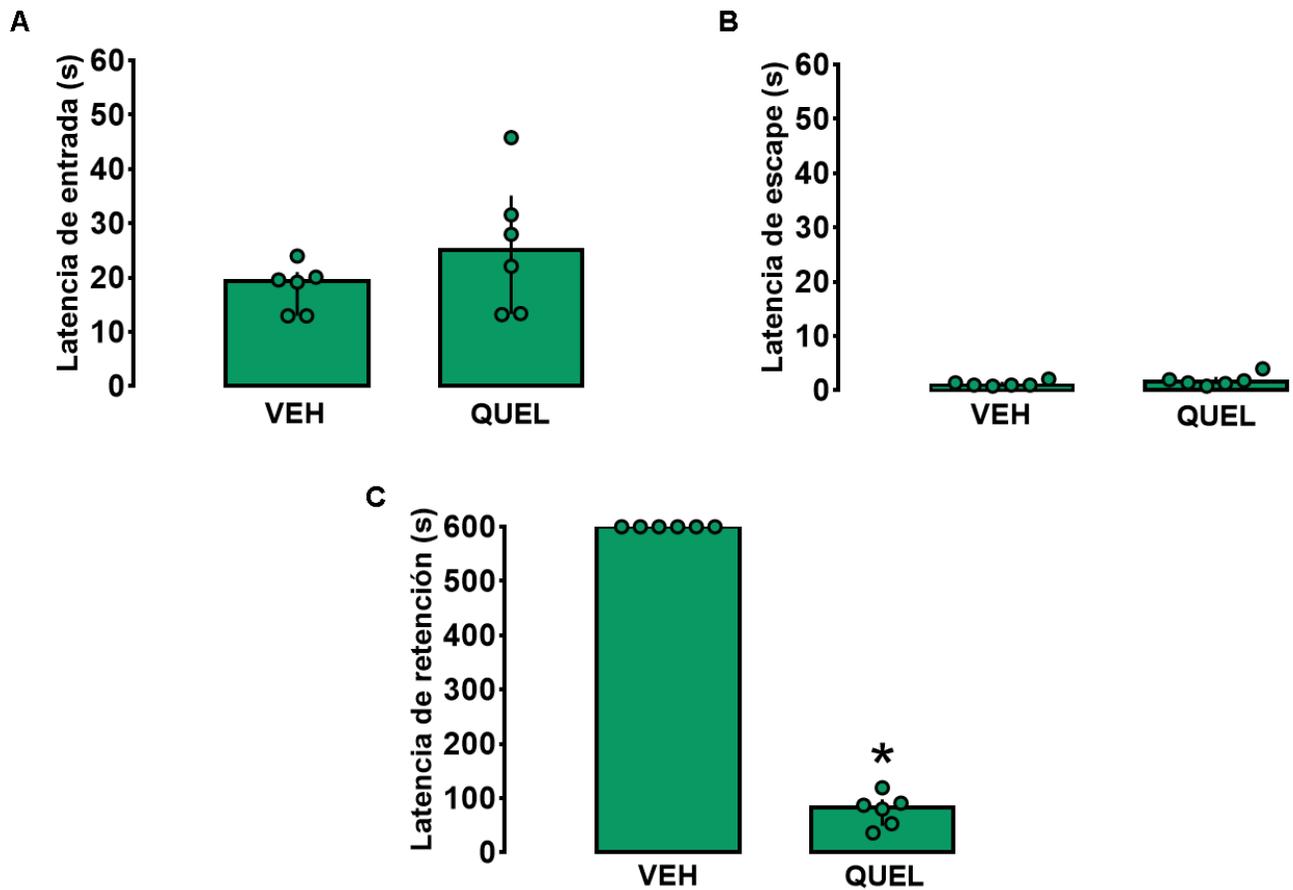


Figura 18. La administración de QUEL en el EDM no genera una memoria de dependiente de estado en ratas entrenadas con un choque de 3.0 mA. Se muestran grupos independientes de ratas a las que se les administró dos dosis de 7.68 μ g de VEH o QUEL. La primera dosis fue 20 minutos antes del entrenamiento y la segunda dosis 20 minutos antes de la prueba de retención. Se graficaron las medianas con sus rangos intercuartiles. **A.** Latencia de entrada al compartimento de castigo. No se observaron diferencias entre los grupos. **B.** Latencia de escape del compartimento de castigo. Los grupos no difieren entre sí. **C.** Latencia de retención. Se observó que la QUEL induce un deterioro en la retención. * $p < 0.01$ vs VEH. Todos los grupos estuvieron compuestos por una n de seis ratas por grupo. Nótese que los ejes de las gráficas son diferentes.

XIV. EXPERIMENTO VI: EFECTO PROTECTOR DE LA MEMORIA

1. Método y diseño experimental

Con la finalidad de descartar la participación de la vía genómica en la consolidación de este tipo de memoria, se decidió administrar 125 µg de anisomicina (ANI) (González-Franco et al., 2019), un ISP o VEH en el EDM a grupos independientes de ratas 20 minutos antes del entrenamiento en EI con un choque de 1.0 o 3.0 mA (Figura 19).

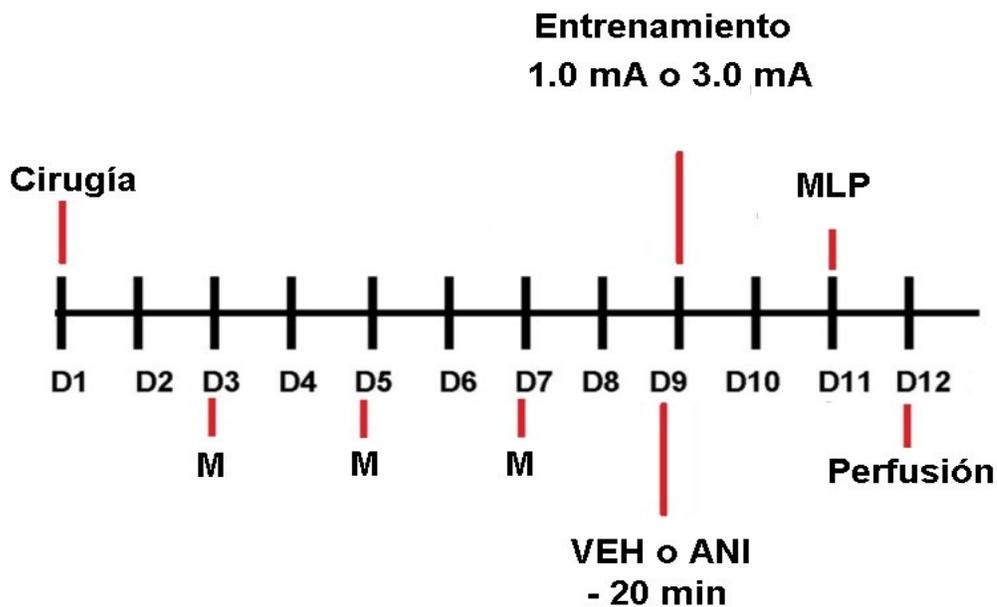


Figura 19. Línea temporal del experimento VI: efecto protector de la memoria. Se contó con grupos independientes de ratas a las cuales se les administró 125 µg de VEH o ANI 20 minutos antes del entrenamiento en EI con un choque de 1.0 mA o de 3.0 mA. Pasadas 48 h al entrenamiento se realizó una prueba de retención. D: día, M: manipulación.

2. Resultados

Los grupos de ratas que estuvieron bajo un entrenamiento de un choque de 1.0 mA no fueron diferentes en cuanto a su latencia de entrada ($p = 0.3654$) y de escape ($p = 0.4033$), pero se encontró que el grupo al que se le administró ANI tuvo una latencia de retención menor en comparación al grupo VEH ($p = 0.0006$). En el caso de los grupos que fueron entrenados con un entrenamiento intenso, no se encontraron diferencias en su latencia de entrada ($p = 0.1387$), de escape ($p = 0.3788$) y de retención ($p = 0.5385$) (Figura 20).

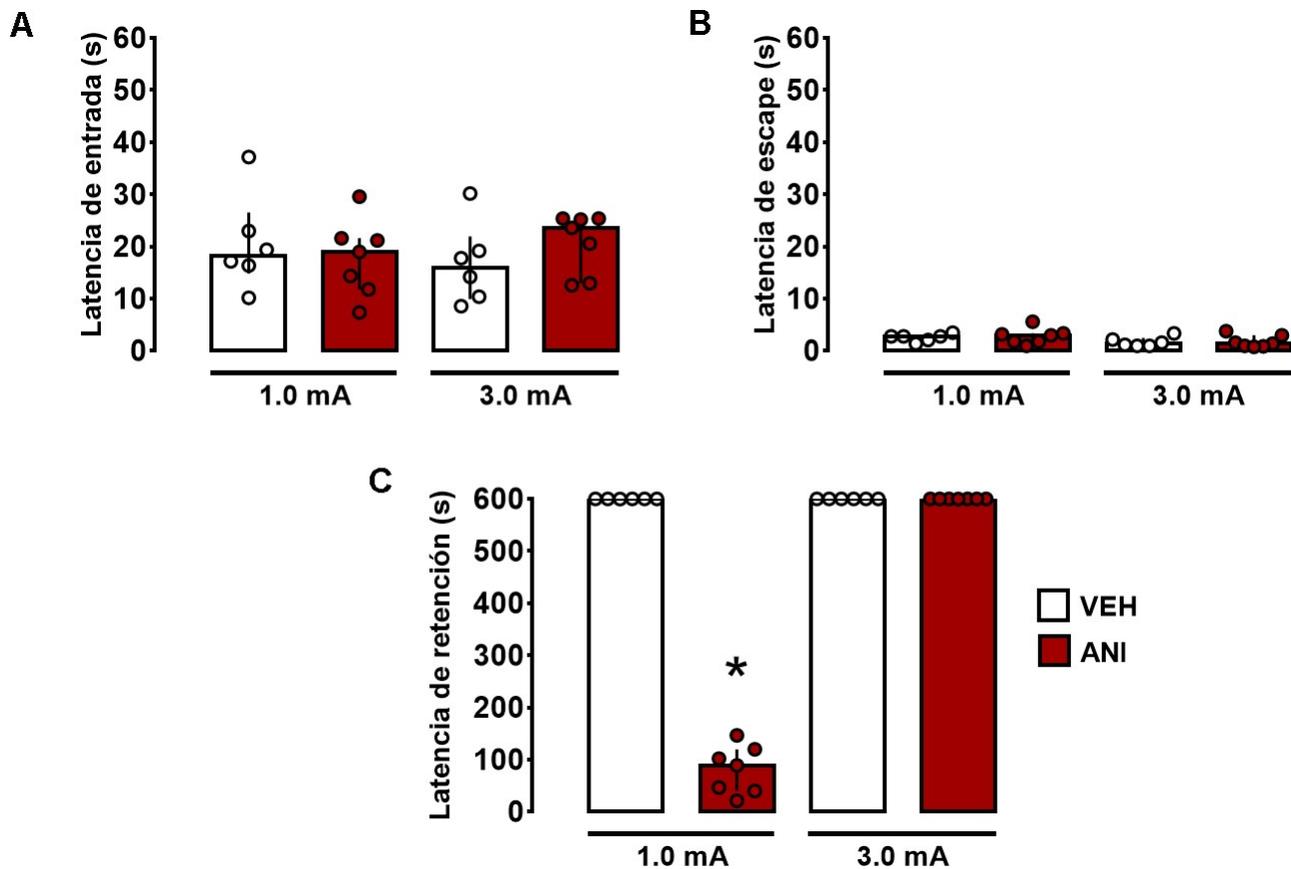


Figura 20. El efecto protector del entrenamiento intenso ante la administración de ANI. Se muestran las medianas y los rangos intercuartiles de grupos independientes de ratas a las que se les administró 125 μ g de VEH o ANI antes del entrenamiento en EI con un choque de 1.0 o 3.0 mA. **A.** Latencia de entrada. No se encontraron diferencias entre los grupos. **B.** Latencia de escape. No hubo diferencias entre los grupos. **C.** Latencia de retención. Se encontró que el grupo entrenado con un 1.0 mA mostró una latencia de retención menor que el resto y que los grupos entrenados con 3.0 mA no fueron diferentes entre sí, lo cual, permite concluir la presencia de un efecto protector de la memoria ante un aumento de la intensidad del entrenamiento. * $p < 0.001$ vs VEH 1.0 mA. Cada grupo experimental estuvo integrado por seis (VEH 1.0 mA y VEH 3.0 mA) o siete sujetos (ANI 1.0 mA y ANI 3.0 mA). Nótese que los ejes son diferentes.

XV. RESUMEN DE LOS RESULTADOS EXPERIMENTALES

| Condición experimental | Memoria |
|---|---------------|
| Entrenamiento moderado (administración de QUEL) | Deterioro |
| Entrenamiento intenso (administración de QUEL) | Deterioro |
| Memoria de corto plazo (administración de QUEL) | Mantenimiento |
| Dependencia de estado 1.0 mA (administración de QUEL) | Mantenimiento |
| Dependencia de estado 3.0 mA (administración de QUEL) | Mantenimiento |
| Entrenamiento intenso (administración de ANI) | Mantenimiento |
| Entrenamiento moderado (administración de ANI) | Deterioro |

Tabla 1. Resumen de los resultados obtenidos en los distintos experimentos. Se indica el efecto que tuvo la administración del fármaco (ANI o QUEL) sobre la memoria.

XV. DISCUSIÓN

El presente trabajo tuvo como objetivo determinar el efecto del bloqueo de la actividad de la PKC en el EDM sobre la consolidación de la memoria ante dos intensidades de entrenamiento.

Se encontró que la administración de QUEL en esta estructura generó un deterioro en la memoria según la dosis administrada. Lo anterior es consistente con lo previamente reportado, dado que se sabe que la QUEL inhibe la actividad de la PKC de una manera dependiente de la concentración (Herbert et al., 1990) y, asimismo, que los aumentos de la

dosis de QUEL producen un efecto amnésico, según lo reportado por Serrano y colaboradores (1995).

El análisis de las curvas dosis-respuesta es necesario para determinar de manera confiable si un tratamiento en particular causa un aumento o una disminución en la capacidad de respuesta al fármaco (Nestler, Hyman y Malenka, 2009) y, en este caso, los efectos que tienen distintas dosis sobre la memoria. Hasta el momento, sólo el trabajo de Serrano y colaboradores (1995) reporta una curva dosis-respuesta en pollos, y aunque emplearon tres dosis, sólo reportaron el efecto de dos. En el presente trabajo, el tener una dosis mayor de QUEL permitió brindar evidencia que a mayor dosis de QUEL no se genera, necesariamente, un mayor deterioro sobre la memoria, ya que las dosis que produjeron amnesia no difieren entre sí, lo cual, sugiere que sólo se requiere un cierto nivel particular de bloqueo de la actividad de la PKC para repercutir sobre la memoria.

La dosis de 3.84 μg utilizada por Núñez-Jaramillo y colaboradores (2007) no generó un deterioro en la memoria en los experimentos de esta tesis debido, probablemente, a que el tipo de tarea en la que se entrenaron los sujetos fue diferente (condicionamiento de aversión al sabor frente a EI). Quizá la diferencia entre las tareas conductuales pueda explicar este resultado, pudiéndose suponer que la dinámica de esta cinasa está en función tanto del tipo de memoria involucrado, como lo sugiere Shobe (2002), así como del tipo de plasticidad (Sossin, 2007) aunado a que cada área cerebral pareciera emplear esta cinasa a distintos tiempos (Chen et al., 1997; Bonini et al., 2005).

Debido a que el tratamiento se administró antes del entrenamiento, fue importante descartar que el efecto amnésico fuera debido a la interferencia con el proceso de aprendizaje. En este sentido, los resultados permiten concluir que la administración de QUEL no genera deterioros en la adquisición del aprendizaje de la tarea de EI, puesto que los animales a los que se les administró QUEL no difieren en sus latencias de retención medidas a los 30 minutos de aquellos animales que recibieron VEH. Estos resultados contrastan con lo reportado por Sacchetti y Bielavska (1998) quienes encontraron que la QUEL impidió la adquisición, pero no la consolidación o la evocación de un condicionamiento de aversión al sabor. Probablemente, las diferencias con respecto a los resultados de esta tesis se deban,

nuevamente, a la diferencia de tareas empleadas así como las diferentes estructuras evaluadas (EDM frente corteza de la ínsula), lo cual, indica que los mecanismos moleculares involucrados en estos tipos de memoria, y en estas estructuras cerebrales, podrían ser diferentes.

Hasta el momento, no se han encontrado trabajos que evalúen si la administración de QUEL genera una memoria dependiente del estado. Los resultados de esta tesis permiten concluir que, al menos para una memoria como la de EI, no es el caso. Por otro lado, se ha reportado que el bloqueo de las isoformas clásicas con NPC no genera una memoria dependiente de estado en la tarea de laberinto en Y (ver Mathis, Lehmann y Ungerer, 1992).

El principal hallazgo de esta tesis es que, por primera vez, se demostró un impedimento en el establecimiento del efecto protector de la memoria debido a un entrenamiento intenso cuando se bloquea el sitio catalítico de la PKC con QUEL. Para explicar lo anterior, es necesario considerar, en principio, los mecanismos neurobiológicos que hasta el momento se sabe que ocurren durante la consolidación de este tipo de memoria.

Sabemos que un entrenamiento intenso en la tarea de EI induce una mayor liberación de corticosterona (González-Franco et al., 2017) y que cuando hay una mayor activación del receptor a glucocorticoides en el estriado dorsal se facilita la consolidación de esa misma tarea (Medina et al., 2007; Roozendaal y McGaugh, 1996). Del mismo modo, se ha reportado que cuando se bloquea la actividad de la PKC se inhibe el aumento en la espinogénesis que se induce cuando la dosis de corticosterona se aumenta, al menos *in vitro* (Komatsuzaki et al., 2012) y que tal espinogénesis depende de los mecanismos no genómicos (Komatsuzaki et al., 2005).

En el presente trabajo se decidió descartar la participación de la vía genómica en la consolidación de esta tarea empleando ANI, encontrándose que, cuando los animales eran entrenados con el choque más alto su memoria permanecía, es decir, se presentaba el efecto protector de la memoria. Este hallazgo experimental está en sintonía con lo reportado por González-Franco y colaboradores (2019) quienes, a diferencia de esta investigación, administraron ANI dentro de todo el estriado dorsal.

Todo lo anterior permite sugerir que la ausencia del efecto protector podría deberse a que el bloque de la actividad de la PKC esté afectando a la espinogénesis que se sabe ocurre durante la consolidación de un entrenamiento intenso (Bello-Medina et al., 2016).

Cabe resaltar que la PKC implicada en la regulación de la neurotransmisión y la plasticidad sináptica, dado que se sabe que fosforila transportadores, canales iónicos y receptores acoplados a proteínas G. Por ejemplo, la PKC fosforila y regula al transportador a dopamina, receptores AMPA, NMDA y mGlu5 (Callender y Newton, 2017) además de participar en la activación de la F-actina, una molécula asociada al remodelamiento celular y a la espinogénesis (Larsson, 2006).

De hecho, actualmente no se conocen del todo los mecanismos por los que la PKC está contribuyendo a la consolidación de la memoria. Dada la pluripotencia de la regulación intracelular de la misma (Callender y Newton, 2018; Newton, 2018), la lista de mecanismos efectores candidatos es extensa y muchos de ellos están asociados a la espinogénesis (Hongpaisan et al., 2013; Sun y Alkon, 2014, Alkon, Sun y Nelson, 2007; Segal, Korkotian y Murphy, 2000). Además, algunos estudios han encontrado evidencia que señala la relación que tiene esta cinasa con distintos sistemas de neurotransmisión como el colinérgico y con otras cinasas como las MAP cinasas para el establecimiento de distintos tipos de memoria como la espacial (Van der Zee et al., 1994; Bermúdez-Rattoni et al., 2007). De este modo, las posibilidades más atractivas son la regulación de la expresión génica, la regulación de síntesis local de proteínas, el control de la función de los receptores y canales iónicos así como la modulación de neurotransmisores.

La escasez de estudios moleculares sobre la transducción de la señal de esta proteína cinasa dificulta la formación de hipótesis específicas sobre los mecanismos por los que el bloqueo de la PKC conduce a deterioros en la memoria, especialmente en aquellos donde hay de por medio una intensidad alta en experiencias aversivas. Por ello, esta área de la neurobiología de la memoria representa una línea de investigación importante, interesante y probablemente muy fructífera (Weeber et al., 2000).

XVI. CONCLUSIONES

- A mayor administración de QUEL no se genera, necesariamente, un mayor deterioro en la memoria.
- La administración de QUEL en el EDM no produce un deterioro en la MCP de un aprendizaje de EI.
- La administración de QUEL en el EDM no induce una memoria dependiente de estado en un aprendizaje de EI.
- La administración de QUEL genera un deterioro en la MLP independientemente de la intensidad con la que se lleve a cabo el entrenamiento de la tarea de EI.

XVII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abel, T., y Lattal, K. M. (2001). Molecular mechanisms of memory acquisition, consolidation, and retrieval. *Current Opinion in Neurobiology*, 11(2), 180 – 187. [https://doi.org/10.1016/S0959-4388\(00\)00194-X](https://doi.org/10.1016/S0959-4388(00)00194-X)
- Alberini, C. M. (2009). Transcription factors in long-term memory and synaptic plasticity. *Physiological Reviews*, 89(1), 121 – 145. <https://doi.org/10.1152/physrev.00017.2008>
- Alkon, D. L., Epstein, H., Kuzirian, A., Bennett, M. C., y Nelson, T. J. (2005). Protein synthesis required for long-term memory is induced by PKC activation on days before associative learning. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(45), 16432-16437. <https://doi.org/10.1073/pnas.0508001102>
- Atkinson, R.C. , y Shiffrin, R.M. (1968). Human memory: a proposed system and its control process. *Psychology of Learning and Motivation*, 2, 85 – 195.
- Bello-Medina, P.C., Flores, G., Quirarte, G.L., McGaugh, J.L., y Prado-Alcalá, R.A. (2016). Mushroom spine dynamics in medium spiny neurons of dorsal striatum associated with memory of moderate and intense training. *Proceedings of the National Academy of the Sciences of the United States of America*, 113 (42), E6516-E6525. <https://doi.org/10.1073/pnas.1613680113>.
- Buzsáki, G. (2010). Neural syntax: cell assemblies, synapsembles, and readers. *Neuron*, 68(3), 362 – 385. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.09.023>
- Callender, J.A., y Newton, A.C. (2017). Conventional protein kinase C in the brain: 40 years later. *Neuronal signaling*, 1(2). <https://doi.org/10.1042/ns20160005>
- Cobos-Zapiaín, G.G., Salado-Castillo, R., Sánchez-Alavez, M., Quirarte, G.L., Roldán-Roldán, G., Díaz del Guante, M.A., y Prado-Alcalá, R.A. (1996). High level of footshock during avoidance training prevents amnesia induced by intranigral GABA antagonists. *Neurobiology of learning and memory*, 65(3), 202 – 206. <https://doi.org/10.1006/nlme.1996.0024>
- Devan, B.D., Hong, N.S., y McDonald, R.J. (2011). Parallel associative processing in the dorsal striatum: segregation of stimulus – response and cognitive control subregions.

Neurobiology of learning and memory, 96(2), 95 – 120.
<https://doi.org/10.1016/j.nlm.2011.06.002>

Díaz del Guante, M. A., Cruz-Morales, S.E., y Prado-Alcalá, R.A. (1991). Time-dependent effects of cholinergic blockade of the striatum on memory. *Neuroscience letters*, 122, 79 – 82. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(91\)90198-3](https://doi.org/10.1016/0304-3940(91)90198-3)

Díaz-Trujillo, A., Contreras, J., Medina, A. C., Silveyra-Leon, G.A., Antaramian, A., Quirarte, G.L., y Prado-Alcalá, R.A. (2009). Enhanced inhibitory avoidance learning prevents the long-term memory impairing effects of cycloheximide, a protein synthesis inhibitor. *Neurobiology of learning and memory*, 91(3), 310-314. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2008.10.006>

Divac, I., y Oberg, R. G. E. (1979). *The Neostriatum*. Oxford: Pergamon Press.

Dudai, Y. (2002). Molecular bases of long-term memories: a question of persistence. *Current opinion in neurobiology*, 12(2), 211-216. [https://doi.org/10.1016/S09594388\(02\)00305-7](https://doi.org/10.1016/S09594388(02)00305-7)

Dudai, Y. (2004). The neurobiology of consolidation or how stable is the engram? *Annual review of psychology*, 55, 51-86. <https://doi.org/10.1146/annurev.psych.55.090902.142050>

Euston, D.R., Gruber, A. J., y McNaughton, B. L. (2012). The role of medial prefrontal cortex in memory and decision making. *Neuron*, 76(6), 1057-1070. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.12.002>

Ferino, F., Thierry, A. M., y Glowinski, J. (1987). Anatomical and electrophysiological evidence for a direct projection from Ammon's horn to the medial prefrontal cortex in the rat. *Experimental brain research*, 65(2), 421 – 426. <https://doi.org/10.1007/BF00236315>

Fouquet, C., Babayan, B. M., Watilliaux, A., Bontempi, B., Tobin, C., y Rondi-Reig, L. (2013). Complementary roles of the hippocampus and the dorsomedial striatum during spatial and sequence-based navigation behavior. *Plos one*, 8(6), e67232. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0067232>

- Gabbott, P. L., Warner, T. A., Jays, P. R., Salway, P., y Busby, S. J. (2005). Prefrontal cortex in the rat: projections to subcortical autonomic, motor, and limbic centers. *The Journal of comparative neurology*, 492(2), 145-177. <https://doi.org/10.1002/cne.20738>
- Garín-Aguilar, M. E., Díaz-Cintra, S., Quirarte, G. L., Aguilar Vázquez, A., Medina, A. C., y Prado-Alcalá, R. A. (2012). Extinction procedure induces pruning of dendritic spines in CA1 hippocampal field depending on strength of training in rats. *Frontiers in behavioral neuroscience*, 6, 12. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2012.00012>
- Gerfen, C. R., y Wilson, C. J. (1996). The basal ganglia. En L. W. Swanson, A., Bjorklund, y T. Hökfelt (Eds.), *Handbook of chemical neuroanatomy* (371 – 468). Amsterdam: Science BV.
- Gerfen, C. R., Paletzki, R., y Heintz, N. (2013). GENSAT BAC cre-recombinase driver lines to study the functional organization of cerebral cortical and basal ganglia circuits. *Neuron*, 80(6), 1368-1383. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.10.016>
- Gerfen, C. R. , y Bolam, J. P. (2010). The neuroanatomical organization of the basal ganglia. En H. Steiner y K. Y. Tseng (Eds). *Handbook of basal ganglia structure and function* (328). San Diego, C. A.: Academic Press.
- Giordano, M., y Prado-Alcalá, R.A. (1986). Retrograde amnesia induced by post-trial injection of atropine into the caudate-putamen. Protective effect of the negative reinforcer. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 24(4), 905-909. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(86\)90435-1](https://doi.org/10.1016/0091-3057(86)90435-1)
- González-Franco, D. A., Ramírez-Amaya, V., Joseph-Bravo, P., Prado-Alcalá, R.A. y 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*, 40, 17-26. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2017.02.001>
- Herbert, J. M., Augereau, J. M., Gleye, J., y Maffrand, J. P. (1990). Chelerythrine is a potent and specific inhibitor of protein kinase C. *Biochemical and biophysical research communications*, 172(3), 993-999. [https://doi.org/10.1016/0006-291x\(90\)91544-3](https://doi.org/10.1016/0006-291x(90)91544-3)
- Joëls, M., Sarabdjitsingh, R. A., y Karst, H. (2012). Unraveling the time domains of corticosteroid hormone influences on brain activity: rapid, slow, and chronic modes. *Pharmacological reviews*, 64(4), 901-938. <https://doi.org/10.1124/pr.112.005892>

- Kandel, E. R. (2001). The molecular biology of memory storage: a dialogue between genes and synapses. *Science (New York, N.Y.)*, 294(5544), 1030-1038. <https://doi.org/10.1126/science.1067020>
- Kandel, E. R., Kupfermann, I., e Iversen, S. (2013). Learning and memory. En E. R. Kandel, J. H. Schwartz, T. M. Jessell, S. A., Siegelbaum, y A. J., Hudspeth. *Principles of Neural Science* (1492-1511). New York: McGraw Hill.
- Komatsuzaki, Y., Hatanaka, Y., Murakami, G., Mukai, H., Hojo, Y., Saito, M., Kimoto, T., y Kawato, S. (2012). Corticosterone induces rapid spinogenesis via synaptic glucocorticoid receptors and kinase networks in hippocampus. *Plos One*, 7(4), e34124. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034124>
- Komatsuzaki, Y., Murakami, G., Tsurugizawa, T., Mukai, H., Tanabe, N., Mitsunashi, K., Kawata, M., Kimoto, T., Ooishi, Y., y Kawato, S. (2005). Rapid spinogenesis of pyramidal neurons induced by activation of glucocorticoid receptors in adult male rat hippocampus. *Biochemical and biophysical research communications*, 335(4), 1002-1007. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.07.173>
- Kreitzer, A. C. (2009). Physiology and pharmacology of striatal neurons. *Annual review of neuroscience*, 32, 127 – 147. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.051508.135422>
- Larsson, C. (2006). Protein kinase C and the regulation of the actin cytoskeleton. *Cell signal*, 18(3), 276-284. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2005.07.010>
- Mathis, C., Lehmann, J., y Ungerer, A. (1992). The selective protein kinase C inhibitor, NPC 15437, induces specific deficits in memory retention in mice. *European Journal Pharmacology*, 220(1), 107-110. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(92\)90020-5](https://doi.org/10.1016/0014-2999(92)90020-5)
- McDonald, R. J., Devan, B. D., y Hong, N. S. (2004). Multiple memory systems: the power of interactions. *Neurobiology of learning and memory*, 82(3), 333-346. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2004.05.009>
- McGaugh, J. L. (1973). *Learning and memory: an introduction*. San Francisco, CA: Albion, Pub. Co.

- McGaugh, J.L. (2003). *Memory and emotion. The making of lasting memories*. New York: Columbia University Press.
- Medina, A. C., Charles, J. R., Espinoza-González, V., Sánchez-Resendis, O., Prado-Alcalá, R. A., Roozendaal, B., y 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 and memory (Cold Spring Harbor, N. Y.)*, *14*(10), 673-677. <https://doi.org/10.1101/lm.654407>
- Medina, A. C., Torres-García, M. E., Rodríguez-Serrano, L. M., Bello-Medina, P.C., Quirarte, G. L., McGaugh, J. L., y Prado-Alcalá, R. A. (2019). Inhibition of transcription and translation in dorsal hippocampus does not interfere with consolidation of memory of intense training. *Neurobiology of learning and memory*, *166*, 107092. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2019.107092>
- Milner, B., Squire, L. R., y Kandel, E. R. (1998). Cognitive neuroscience and the study of memory. *Neuron*, *20*(3), 445-468. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(00\)80987-3](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(00)80987-3)
- Nestler, E. J., Hyman, S. E., y Malenka, R. C. (2009). *Molecular neuropharmacology. A foundation for clinical neuroscience* (Second edition). New York: McGraw-Hill Medical.
- Nishizuka, Y. (1995). Protein kinase C and lipid signaling for sustained cellular responses. *The FASEB Journal*, *9*(7), 484 – 496. <https://doi.org/10.1096/fasebj.9.7.7737456>
- Núñez-Jaramillo, L., Delint-Ramírez, I., y Bermúdez-Rattoni, F. (2007). PKC blockade differentially affects aversive but not appetitive gustatory memories. *Brain Research*, *7*(1148), 177 – 182 <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2007.02.032>
- O'Malley, A., O'Connell, C., y Regan, C. M. (1998). Ultrastructural analysis reveals avoidance conditioning to induce a transient increase in hippocampal dentate spine density in the 6 hour post-training period of consolidation. *Neuroscience*, *87*(3), 607 – 613. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(98\)00178-X](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(98)00178-X)
- Overton, D. A. (1964). State-dependent or “dissociated” learning produced with pentobarbital. *Journal of comparative and physiological psychology*, *57*, 3-12.

- Packard, M. G., y Knowlton, B. J. (2002). Learning and memory functions of the basal ganglia. *Annual review of Neuroscience*, 25(1), 563 – 593. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.25.12701.142937>
- Paxinos, G., y Watson, C. (2005). *The rat brain in stereotaxic coordinates* (Fourth edition). San Diego, CA: Academic Press.
- Pérez-Ruiz, C., y Prado-Alcalá, R. A. (1989). Retrograde amnesia induced by lidocaine injection into the striatum: protect effect of the negative reinforcer. *Brain research Bulletin*, 22, 599-603. [https://doi.org/10.1016/0361-9230\(89\)90076-2](https://doi.org/10.1016/0361-9230(89)90076-2)
- Prado-Alcalá, R. A. (1995). Serial and parallel processing during memory consolidation. En J. L. McGaugh, F. Bermúdez-Rattoni y R. A. Prado-Alcalá. *Plasticity in the central nervous system: Learning and Memory* (57 – 65). New Jersey: Lawrence Erlbaum.
- Prado-Alcalá, R. A., Cobos-Zapíaín, G., Salado-Castillo, R., Quiroz, C., Garín-Aguilar, M. E., Díaz, A., Díaz del Guante, M. A., Medina, A. C., Martínez, I., y Quirarte, G. L. (2006). El aprendizaje incrementado protege a la memoria contra tratamientos amnésicos. *Revista Mexicana de Análisis de la Conducta*, 32(2), 203 – 218.
- Prado-Alcalá, R.A., Medina, A. C., López, N. S., y Quirarte, G. L. (2012). Intense emotional experiences and enhanced training prevent memory loss induced by post-training amnesic treatments administered to the striatum, amygdala, hippocampus or substantia nigra. *Reviews in the neurosciences*, 23(5 – 6), 501 – 508. <https://doi.org/10.1515/revneuro-2012-0061>
- Prado-Alcalá, R. A., Salado-Castillo, R., Quiroz, C., Garín-Aguilar, M. E., Díaz, A., Rivas-Arancibia, S., y Quirarte, G. L. (2007). Enhanced learning protects the brain against the effects of amnesic treatments . En F. Bermúdez-Rattoni (editor). *Neural plasticity and memory: from genes to brain imaging* (175 - 191). Boca Raton, FL: CRC Press/Taylor & Francis.
- Prado-Alcalá, R. A., Solana-Figueroa, R., Galindo, L. E., Medina, A. C., y Quirarte, G. L. (2003). Blockade of striatal 5-HT₂ receptors produces retrograde amnesia in rats. *Life sciences*, 74(4), 481-488. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2003.06.012>

- Rodríguez-Durán, L.F., y Escobar, M. L. (2014). NMDA receptor activation and PKC but not PKA lead to the modification of long-term potentiation in the insular cortex induced by conditioned taste aversion: differential role of kinases in metaplasticity. *Behavioural brain research*, 266(2014), 58 – 62. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.02.049>
- Rooszendaal, B., y McGaugh, J. L. (1996). Amygdaloid nuclei lesions differentially affect glucocorticoid-induced memory enhancement in an inhibitory avoidance task. *Neurobiology of learning and memory*, 65(1), 1 – 8. <https://doi.org/10.1006/nlme.1996.0001>
- Salado-Castillo, R., Díaz del Guante, M. A., Alvarado, R., Quirarte, G. L., y Prado-Alcalá, R. A. (1996). Effects of regional GABAergic blockade of the striatum on memory consolidation. *Neurobiology of learning and memory*, 66(2), 102-108. <https://doi.org/10.1006/nlme.1996.0051>
- Sacchetti, B., y Bielavska, E. (1998). Chelerythrine, a specific PKC inhibitor, blocks acquisition but not consolidation and retrieval of conditioned taste aversion in rat. *Brain research*, 799(1), 84 – 90. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(98\)00460-0](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(98)00460-0)
- Segal, M., Korkotian, E., y Murphy, D. D. (2000). Dendritic spine formation and pruning: common cellular mechanisms? *Trends in neuroscience*, 23(2), 53 – 57. [https://doi.org/10.1016/S0166-2236\(99\)01499-X](https://doi.org/10.1016/S0166-2236(99)01499-X)
- Segal, M. (2017). Dendritic spines: morphological building blocks of memory. *Neurobiology of learning and memory*, 138(2017), 3-9. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2016.06.007>
- Serrano, P. A., Rodriguez, W. A., Pope, B., Bennett, E. L., y Rosenzweig, M. R. (1995). Protein kinase C inhibitor chelerythrine disrupts memory formative in chicks. *Behavioral neuroscience*, 109(2), 278 – 284. <https://doi.org/10.1037//0735-7044.109.2.278>
- Shobe, J. (2002). The role of PKA, CaMKII, and PKC in avoidance conditioning: permissive or instructive? *Neurobiology of learning and memory*, 77(3), 291-312. <https://doi.org/10.1006/nlme.2001.4022>
- Sossin, W. S. (2007). Isoform specificity of protein kinase Cs in synaptic plasticity. *Learning & memory (Cold Spring Harbor, N. Y.)*, 14(4), 236 – 246. <https://doi.org/10.1101/lm.469707>

- Tepper, J. M., y Plenz, D. (2008). Microcircuits in the striatum striatal cell types and their interaction. En S. Grilner y M. A. Graybiel (Eds.). *Microcircuits the interface between neurons and global brain function* (105 – 126). Cambridge, MA: MIT Press.
- Voorn, P., Vanderschuren, L., Groenewegen, H. J., Robbins, T. W., y Pennartz, C. M. A. (2004). Putting a spin on the dorsal-ventral divide of the striatum. *Trends in neurosciences*, 27(8), 468 – 474. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2004.06.006>
- White, N. M. (2009). Some highlights of research on the effects of caudate nucleus lesions over the past 200 years. *Behavioral brain research*, 199(1), 3-23. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2008.12.003>
- White, N. M. y McDonald, R. J. (2002). Multiple parallel memory systems in the brain of the rat. *Neurobiology of learning and memory*, 77(2), 125 – 184, <https://doi.org/10.1006/nlme.2001.4008>
- Yin, H.H., y Knowlton, B. J. (2004). Contributions of striatal subregions to place and response learning. *Learning & memory (Cold Spring Harbor, N. Y.)*, 11(4), 459-463. <https://doi.org/10.1101/lm.81004>