



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE PSICOLOGÍA

**DIFERENCIACIÓN ENTRE MEMORIAS
DECLARATIVAS Y NO DECLARATIVAS
EN RATAS MEDIANTE EL USO DE
ANESTESIA**

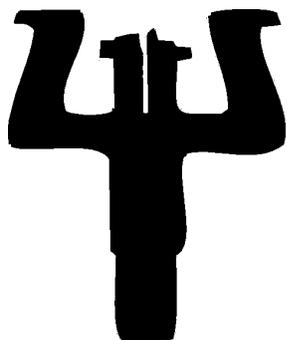
T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADO EN PSICOLOGÍA**

PRESENTA:

EDUARDO ROJAS HORTELANO

**DIRECTORA DE TESIS:
DRA. ARIANA ISRAELA BALDERAS MORENO**



MÉXICO, D. F.

2011



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.

A mi madre por enseñarme la dignidad y el esfuerzo.
A mi padre por ser ejemplo de entrega al trabajo y a las personas.
A mi hermano por las peleas y juegos.
A mis otros hermanos: Cranky, Tobías, Simón y Tomás por su compañía y cariño.
A mis abuelos Elvira y Efrén, por ser parte de mis memorias más cálidas de mi infancia.
A mis otros abuelos, Chelo y Clemente, por estar siempre presentes.
A mis primos y tíos, que prefiero no alistarlos por temor a que me falte alguno, pero los quiero a todos.
A Armando y Paulina por su fraternidad más que amistad.
A Rubén por ser todo.

Y que no se me olvide la banda:

Alma (la reaggetonera con dignidad)
Auris (siempre con una cubana en la mano)
Azul (K-Buzz lightyear)
Chelo (la *femme fatale*)
Crispina (“PUERRRRCA”)
Daniel (El 7 qué raro es)
Esnerto (Nadie más *forever*)
Gerardo (el pequeño Juan)
Julio César Chávez (Como el boxeador)
Kioko (Keiko, Kiolo, Oyuki, la hija del profesor de karate, etc.)
Lucía (la chiquita violenta)
Miguel (el maestro del estupro)
Mónica (dama por fuera, “la chupitos” por dentro)
Natalia (“Qué tranza la banda”. “*Alright*”. “Súper queda”.)
Onaki (Avatar Onaki)
Paola (La chica problema)
Paris (el sabio del país duende de las computadoras)
Royero (su nombre lo dice todo)
Sandra (la única que compite en *forever* con Esnerto)
Sara (¡SARITA!)
Tatiana (utilizó su sadismo innato para volverse dentista)
Yvonne (si hicieran una muñeca de ella, al jalar la cuerda diría “Hay un bicho en mi ojo”)

A todos, GRACIAS.

AGRADECIMIENTOS

Esta tesis fue dirigida por la Dra. Ariana Israela Balderas Moreno. El trabajo se realizó en el laboratorio de Neurobiología del Aprendizaje y la Memoria a cargo del Dr. Federico Bermúdez Rattoni, en Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México, con el apoyo económico del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) 60478 y de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA-UNAM) IN216709.

Agradezco el apoyo técnico en el laboratorio de la Q.F.B Perla Moreno Castilla y de Oreste Carbajal

INDICE

RESUMEN.....	6
INTRODUCCIÓN.....	7
CASO H.M.....	8
MEMORIA DECLARATIVA	9
SISTEMA DE MEMORIA DECLARATIVA.....	9
CONTRIBUCIÓN DEL SISTEMA HIPOCAMPAL A LA MEMORIA.....	10
Corteza parahipocampal o postrinal.....	13
Hipocampo.....	14
MEMORIA NO DECLARATIVA.....	17
MEMORIA DE PROCEDIMIENTO.....	18
Ganglios basales.....	18
El estriado dorsal y la memoria de procedimientos.....	20
AMÍGDALA Y CONDICIONAMIENTO AVERSIVO AL SABOR.....	21
DISOCIACIÓN ENTRE TIPOS DE MEMORIA.....	22
EL CASO DEL CONDICIONAMIENTO AVERSIVO.....	22
EL CASO DEL APRENDIZAJE ESPACIAL.....	24
ANESTESIA	26
ANESTESIA Y MEMORIA.....	27
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	28
OBJETIVO.....	28
HIPÓTESIS.....	29
METODOLOGÍA.....	29
ANIMALES	29
ANESTESIA.....	29
CURVA DOSIS RESPUESTA.....	29
EXPERIMENTO 1: MEMORIA DE RECONOCIMIENTO DE OBJETOS.....	31
APARATOS.....	31
OBJETOS.....	31
PROCEDIMIENTO CONDUCTUAL.....	31
Manipulación y fase de habituación.....	31
Fase de muestra.....	32
Fase de prueba.....	32
MEDICIÓN.....	32
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	32
RESULTADOS.....	33
EXPERIMENTO 2: MEMORIA GUSTATIVA.....	34
PROCEDIMIENTO CONDUCTUAL.....	35
MEDICIÓN.....	36
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	36
RESULTADOS.....	36
EXPERIMENTO 3: LABERINTO ACUÁTICO DE MORRIS.....	39

APARATOS.....	39
PROCEDIMIENTO CONDUCTUAL.....	40
MEDICIÓN.....	40
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	40
RESULTADOS.....	40
DISCUSIÓN.....	42
CONCLUSIONES.....	49
REFERENCIAS.....	50

RESUMEN

La memoria se ha dividido en memoria declarativa y no declarativa para dar cuenta de las diferencias de recolección y expresión de la conducta en los animales. Desde los reportes de pacientes amnésicos que han sufrido daños en regiones del lóbulo temporal medial se han realizados modelos experimentales encargados de delimitar las áreas cerebrales pertenecientes a uno u otro tipo de memoria, ya que el daño en estructuras como el hipocampo y las cortezas rinales no parecen afectar tareas no declarativas.

En este trabajo aprovechamos las características amnésicas del pentobarbital sódico para determinar si es posible observar un efecto amnésico similar al que se presenta con daño en el lóbulo temporal medial debido a que existe evidencia de que los anestésicos afectan la memoria declarativa pero no la no declarativa.

Se Inyectó una dosis hipnótica de pentobarbital sódico (50 mg/ml) después de entrenar a los sujetos en tareas de memoria declarativa cuya consolidación se ha observado es dependiente de estructuras del lóbulo temporal medial (reconocimiento de objetos, aprendizaje espacial del laberinto acuático y memoria gustativa). La memoria no declarativa se ha dividido en dos grandes grupos: la memoria de procedimientos y la memoria emocional. En esta tesis se utilizó el condicionamiento aversivo al sabor para estudiar la memoria emocional y el aprendizaje por clave del laberinto acuático para la memoria de procedimientos.

Los resultados muestran que, en las tareas de memoria declarativa, los sujetos anestesiados tienen un desempeño reducido en la fase de prueba comparándolo con los sujetos controles (inyección de solución salina 0.9%). Por otro lado, las ratas experimentales entrenadas en tareas no declarativas tienen una ejecución similar al grupo control. Esto indica que una dosis de 50 mg/ml de pentobarbital sódico es capaz de suprimir las memorias declarativas pero no las no declarativas, concluyendo que es posible disociar entre estas memorias con el uso de una dosis hipnótica de un anestésicos..

Palabras clave: memoria declarativa, memoria no declarativa, anestesia, amnesia, pentobarbital sódico.

INTRODUCCIÓN

A principios del siglo XX el filósofo francés Maine de Biran (1929) asume que existe un mecanismo sencillo y automático por el cual se logran asociaciones de eventos que subyacen a tres diferentes formas de memoria. La memoria representativa es la forma más compleja y se refiere a la capacidad de “revivir” y pensar de manera consciente en las experiencias previas. Las otras dos formas de memoria, la mecánica y la sensorial, difieren de la memoria representativa en dos principales elementos. Primero, ninguna de estas dos formas de memoria tiene un acceso consciente. Segundo, estas dos formas de memoria inconscientes están restringidas en su expresión. Esto quiere decir que sólo se expresan cuando se presenta un situación muy similar a la experiencia original. Específicamente, la memoria mecánica se refiere al aprendizaje de movimientos a través de la repetición que lleva a incrementar la velocidad de ejecución o coordinación. La memoria sensorial se origina a partir de una experiencia emocional e involucra la evocación del sentimiento sin la necesidad de recordar las circunstancias de la experiencia emocional (Maine de Biran, 1929).

El psicólogo experimental William James propuso una diferencia similar entre la memoria primaria, la capacidad de mantener y manipular información en la mente por periodos cortos de tiempo, y la memoria secundaria que se refiere a un almacenamiento duradero y en algunas ocasiones permanente. James, también distinguió entre memoria secundaria y un mecanismo automático que definió como hábito. Influenciado por la descripción de los arcos reflejos en los que un estímulo puede provocar una respuesta motora específica, James sugirió que los impulsos nerviosos utilizan con mayor probabilidad las vías de reflejos previamente utilizadas, por lo tanto, un hábito se forma cuando una vía se ha utilizado con mucha frecuencia. La caracterización que James hizo sobre la memoria tiene grandes similitudes con la visión de memoria declarativa y no declarativa que se han disociado a partir de pacientes amnésicos (Squire y Zola, 1996).

Las estructuras del lóbulo temporal medial y algunas regiones diencefálicas fueron de gran interés en las investigaciones anatómicas de la memoria a finales del siglo XIX y a principios del XX. El psiquiatra ruso Sergei Korsakoff describió una serie de pacientes amnésicos, en su mayoría alcohólicos, con un síndrome psiquiátrico que involucraba la pérdida de memoria. Unas décadas después, Alois Alzheimer, reportó un paciente que murió a la edad de 51 años después de presentar una pérdida progresiva de la memoria y cambios de personalidad y cognoscitivos. Estudios posteriores demostraron que el síndrome descrito por Korsakoff se ve estrechamente ligado a daños en los cuerpos mamilares y el tálamo, mientras que pacientes con una sintomatología similar al que reportó

Alzheimer tenían daños en el hipocampo. La sintomatología de ambos tipos de padecimientos tienen en común que se afecta la memoria representativa o secundaria de acuerdo a Maine de Biran y William James respectivamente, pero no se habló de una disociación anatómica con la otra memoria hasta años después.

CASO H.M.

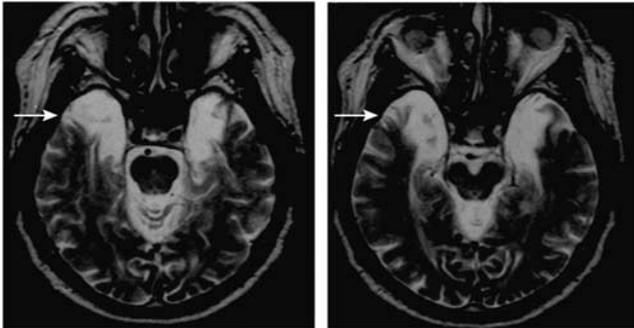


Figura 1. Estas dos imágenes de resonancia magnética muestran la ablación de la porción rostral del lóbulo temporal medial del paciente H. M. (flechas: áreas con señal más brillante que indica líquido cefalorraquídeo). Tomado de Corkin *et al.*, (1998).

A pesar de las disertaciones filosóficas de la experiencia y de las primeras aproximaciones al estudio experimental de la memoria, no fue sino hasta mediados del siglo XX cuando se tuvo por primera vez un registro que evidencia la existencia de diferentes formas de memoria sustentado en la anatomía cerebral. A un paciente al que se le denominó H.M., se le practicó una lobotomía para tratar crisis epilépticas asociadas a un accidente durante su infancia. En esta cirugía le extrajeron

estructuras del lóbulo temporal medial (*fig. 1*) como el hipocampo, la región parahipocampal (cortezas entorrinal, perirrinal y parahipocamapal) y la amígdala (Milner y Penfield, 1955; Squire y Zola, 1996; Moscovitch *et al.*, 2005; Squire 2009). A partir de esta cirugía las crisis epilépticas de H.M. se redujeron considerablemente, sin embargo, le produjo una amnesia global que le impidió formar nuevas memorias. La amnesia se extendió a diferentes modalidades que abarcaban las memorias expresadas de manera verbal y espaciales (Milner y Penfield, 1955; Shapiro *et al.*, 1997; Burgess *et al.*, 2002; Squire, 2009). No obstante, se encontraron excepciones, es decir, este paciente pudo aprender algunas tareas, especialmente las que se basaban en habilidades motoras y formación de hábitos (Squire, 2009).

Esta disociación visible en pacientes amnésicos en los que ciertas memorias están presentes pero otras ausentes llevó a formular la dicotomía entre memoria declarativa y memoria no declarativa (Squire y Zola, 1996). Esto supone una disociación funcional entre dos sistemas; la memoria no declarativa se encarga de modificar redes neuronales encargadas de la ejecución perceptual, cognoscitiva o motora (Squire y Zola, 1996; Moscovitch *et al.*, 2005, Packard, 2009;), mientras que la

memoria declarativa contiene elementos de codificación, almacenamiento y recuperación que llevan a la expresión verbal de la memoria (Tulving, 2001; Eichenbaum, 2004; Ferbinteanu *et al.*, 2006).

Los sistemas cerebrales encargados del procesamiento de estas dos memorias se fueron describiendo con la ayuda de experimentos con animales, adjudicando la participación de las estructuras del lóbulo temporal medial, como el hipocampo y cortezas rinales, a la memoria declarativa. Para la memoria no declarativa no se describió un único sistema sino que se encontraron sistemas especializados en tareas particulares, siendo el núcleo estriado un gran candidato para la formación de habilidades y hábitos y la amígdala para condicionamientos con componentes aversivos o de preferencia (Squire y Zola, 1996).

MEMORIA DECLARATIVA

Se ha propuesto que la memoria declarativa está compuesta por: 1) la memoria semántica que se refiere al almacenamiento de datos independientes de contexto (e.g. nombre de los estados de la república y sus capitales); y 2) la memoria episódica, que comprende los eventos incrustados en un tiempo y espacio determinados (e.g. memorias autobiográficas). En conjunto, la memoria declarativa es esencial para responder tres preguntas: ¿qué? ¿dónde? y ¿cuándo? ocurrió una experiencia (Tulving, 2001; Eacott *et al.*, 2005; Babb y Crystal, 2006; Eacott y Easton, 2009; Ergorul y Eichenbaum, 2004), siendo un puente entre el mundo exterior y el individuo (Rolls, 2000).

Sistema de memoria declarativa

El paciente H.M. es un ejemplo muy ilustrativo de la anatomía de esta memoria. A excepción de la amígdala, que se sugiere tiene una mayor participación en la consolidación de memorias emocionales, las estructuras extraídas a este paciente forman el sistema hipocampal que se encarga de formar la memoria declarativa (Squire y Zola, 1996; Rosenbaum, *et al.*, 2001; Squire *et al.*, 2004; Moscovitch, 2005).

Ubicadas en el lóbulo temporal medial, la región parahipocampal (compuesta por las cortezas entorrinal, perirrinal y parahipocampal denominada postrinal en ratas), el subículum y el hipocampo (regiones CA1-3 y giro dentado) forman en conjunto el sistema hipocampal de memoria (Rosenbaum *et al.*, 2001; Moscovitch *et al.*, 2005). La organización general del sistema (*fig. 2*; Squire y Zola, 1996; Lavenex y Amaral, 2000; Eichenbaum *et al.*, 2007), es que prácticamente todas las áreas de asociación mandan sus proyecciones hacia la región parahipocampal que rodea el hipocampo, y a su vez manda eferencias hacia cada subdivisión de esta última estructura. Las subdivisiones del hipocampo están

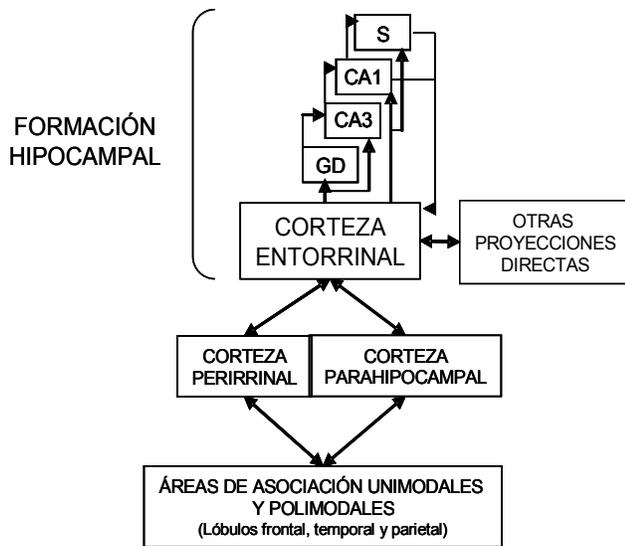


Figura 2. Esquema del sistema hipocampal de memoria. La corteza entorrinal es la principal fuente de proyecciones hacia la región hipocampal (que incluye el giro dentado, las regiones CA y el subículo). Cerca de dos tercios de las aferencias de la corteza entorrinal se originan en las cortezas perirrinal y parahipocampal, que a su vez reciben proyecciones de las áreas unimodales y polimodales de los lóbulos frontal, temporal y parietal. La corteza entorrinal también recibe eferencias directas de la corteza orbito - frontal, insular y el giro temporal superior. Todas estas proyecciones son recíprocas. Tomado de Squire y Zola, 1996.

internamente conectadas por una vía unidireccional que comienza en el giro dentado, continua hacia la región CA3, luego hacia la región CA1 y finaliza en el subículo. Las eferencias que se generan en CA1 y el subículo hacia la corteza utilizan vías de retro-alimentación que recibe la región parahipocampal que manda proyecciones de regreso hacia las áreas de asociación donde se originaron las aferencias del lóbulo temporal medial.

Contribución del sistema hipocampal a la memoria

Corteza perirrinal

Una gran cantidad de experimentos apoyan la hipótesis de que la corteza perirrinal participa en la memoria de reconocimiento de objetos. Esta tarea se basa en la tendencia natural de los roedores por explorar objetos novedosos en un ambiente (Ennaceur y Delacour, 1988). La tarea de reconocimiento de objetos consta de tres fases principales, una de muestra y otra de elección, separadas por una fase de retención. En la fase de muestra, se le presentan a la rata uno o más objetos en una arena abierta para que los explore y se habitúe a ellos. Al finalizar, se retira al sujeto de la arena y comienza la fase de retención, la cual puede ir de unos minutos hasta días dependiendo de qué tanto se le quiere exigir a la memoria. Al terminar la fase de retención, se vuelve a introducir a los sujetos a la arena y se le presentan una o más copias de los mismos objetos de la fase de muestra junto con uno o más objetos novedosos. De acuerdo al paradigma del reconocimiento de objetos, las ratas tienen que pasar más tiempo explorando los objetos novedosos que los presentados en la fase de muestra.

Esta tarea es considerada uno de los mejores modelos de memoria declarativa en roedores, ya que la conducta de exploración que realizan se da de manera espontánea, no necesita de reforzadores, no necesita entrenamiento y además se puede separar de otra característica atribuida al sistema de memoria declarativa: el aprendizaje o navegación espacial.

Comparando el desempeño de ratas normales y ratas con lesión en la corteza perirrinal, se ha observado una relación inversamente proporcional entre el reconocimiento del objeto presentado en la fase de muestra y la extensión del daño en esta corteza (Mumby y Pinel, 1994; Mumby *et al.*, 2007; Albasser, *et al.*, 2009). La interrupción temporal del funcionamiento normal de esta estructura por medio de anisomicina¹ (Balderas *et al.*, 2008), lidocaína² (Winters y Bussey, 2005), muscimol, AP5 o escopolamina³ (Winters, *et al.*, 2010) también afecta el desempeño de las ratas en esta tarea.

Aunque se ha resaltado el papel de la corteza perirrinal en la memoria de reconocimiento de objetos o imágenes debido a que mantiene conexiones de gran relevancia con áreas visuales (Eacott y Gaffan, 2005; Hampton, 2005; Murray *et al.*, 2005), la corteza perirrinal recibe información de casi todas las áreas de asociación unimodales y polimodales olfativas, auditivas, visuales, visuoespaciales y sensoriomotoras (Burwell y Amaral, 1998; Burwell, 2000; Furtak *et al.*, 2007). Esta característica polisensorial de la corteza perirrinal ayuda a comprender la pérdida de discriminación olfativa con lesiones en esta estructura en ratas (Otto y Eichenbaum, 1992), ya que se puede estar interrumpiendo la comunicación con la corteza olfativa (Burwell y Amaral, 1998).

También se ha mostrado que el bloqueo de los receptores muscarínicos de la corteza perirrinal afecta la memoria gustativa (Gutiérrez *et al.*, 2004). Las tareas que exploran esta memoria se han utilizado para estudiar el procesamiento de un estímulo con dos posibles resultados (aversivo o seguro). La memoria gustativa presupone una importancia adaptativa, ya que el ingerir alimentos dañinos suprime las funciones normales del organismo dejándolo expuesto a sus depredadores o puede provocar muerte por envenenamiento. Como estrategia conductual, los animales ingieren un alimento nuevo en menor cantidad (respuesta neofóbica) que un alimento que ya se ha consumido previamente y se ha

1 La anisomicina es un inhibidor de la síntesis de nuevas proteínas (ISP). Este y otros ISP, como la cicloheximida, se han utilizado ampliamente en el estudio de la memoria ya que la síntesis de proteínas es un pilar fundamental en la teoría de la consolidación de la memoria a nivel celular (McGaugh, 2000).

2 La lidocaína es un anestésico local que bloquea los canales de sodio (Na⁺) dependientes de voltaje. El bloqueo de estos canales de Na⁺ en la postsinápsis impide la despolarización de la membrana y por consecuencia la propagación de la señal.

3 El muscimol es un agonista gabaérgico, el AP5 un antagonista de los receptores NMDA y la escopolamina un antagonista colinérgico. El estudio de las consecuencias conductuales y moleculares por el bloqueo o activación de estos receptores es relevante para la memoria ya que se han asociado a procesos celulares de consolidación de la memoria como la potenciación a largo plazo (PLP) o la depresión a largo plazo (DLP).

reconocido como seguro. De esta manera, los animales evitan consumir los sabores novedosos porque no conocen sus consecuencias gástricas. Si un sabor novedoso no produjo ningún malestar gástrico se consumirá en mayor cantidad progresivamente (atenuación de la neofobia). Por otro lado, si después de la ingestión de un alimento desconocido se presenta malestar gástrico, el animal asocia los efectos nocivos con el sabor novedoso y evita consumirlo cuando se lo encuentre posteriormente (Bermúdez-Rattoni, 2004; Welzl *et al.*, 2001).

La importancia adaptativa de la memoria gustativa se ha utilizado como paradigma conductual para estudiar la memoria. John García y cols. (1955) describieron un protocolo con el cual se aprovechó la asociación entre el malestar gástrico y el sabor novedoso. Este protocolo consiste en presentar un sabor novedoso (estímulo condicionado) y parearlo con un malestar producido por una inyección intra-peritoneal de cloruro de litio (LiCl, estímulo incondicionado), provocando lo que se conoce como condicionamiento aversivo al sabor (CAS).

Se pueden observar diferencias en las curvas de aprendizaje de la memoria gustativa dependiendo de las consecuencias del sabor novedoso en el estado físico del animal (*fig. 3*). La respuesta neofóbica provoca que el sujeto consuma menos volumen del sabor novedoso en comparación con un sabor familiar (agua) presentado durante una línea base. En posteriores presentaciones, el animal

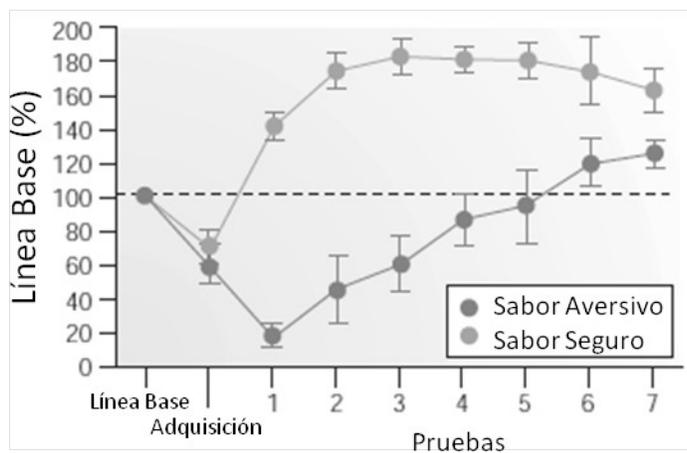


Figura 3. En esta gráfica se muestra la curva de aprendizaje de la memoria gustativa aversiva y segura. En la primer presentación del sabor novedoso (neofobia) se observa una disminución de la ingesta comparándolo con una línea base. Los círculos oscuros representan a un grupo de sujetos a los que se les indujo un malestar gástrico mediante un agente nocivo (por ejemplo, una inyección intraperitoneal de LiCl). Los círculos claros representan a otro grupo de sujetos a los que no se les indujo malestar por lo que presentan atenuación de la neofobia. Modificado de Bermúdez-Rattoni, 2004.

aumentará la ingesta del sabor novedoso de manera paulatina, a lo que se le conoce como atenuación de la neofobia. En el caso del CAS se ve una disminución del consumo del estímulo condicionado comparándolo con la fase de neofobia, sin embargo, si el sabor se vuelve a presentar sin consecuencias nocivas, el sabor novedoso asociado al malestar gástrico se consumirá progresivamente en mayor cantidad hasta llegar a una asíntota conductual (extinción del CAS), que se puede equiparar con la curva de atenuación de la neofobia.

La corteza perirrinal surgió como posible integradora del reconocimiento de los alimentos seguros y aversivos, ya que un

alimento (comida o bebida) lo componen diferentes estímulos sensoriales (olor, sabor, textura y apariencia), por lo que esta información necesita integrarse para lograr saber qué tan apetitoso o desagradable es un alimento (Murray y Richmond, 2001). La corteza perirrinal al tener vías de comunicación no sólo con áreas unimodales sino que además con la corteza insular y la amígdala (Burwell *et al.*, 1995), dos regiones cerebrales vinculadas con la memoria gustativa (Bermudez-Rattoni, 2004; De la Cruz *et al.*, 2008), hacen de la corteza perirrinal un blanco importante en el estudio de la memoria gustativa.

Los experimentos de Gutiérrez y cols. (2004) demostraron la participación de la corteza perirrinal en la memoria gustativa en ratas inyectando escopolamina, AP5 o NBQX⁴ en esta estructura. Con la tarea de neofobia, sólo se afectó la memoria inyectando escopolamina, mientras que en la tarea del CAS, ningún fármaco produjo deficiencias en la ejecución de los sujetos. Este experimento muestra no sólo la participación de la corteza perirrinal en la consolidación de la neofobia sino que además sugiere que el glutamato no contribuye en la consolidación de la memoria gustativa ni aversiva ni segura. El resultado negativo obtenido en la tarea del CAS sugiere que la asociación de los estímulos condicionado e incondicionado se forma en otras estructuras, probablemente en la amígdala debido al contenido aversivo del malestar gástrico.

La gran variedad de aferencias de áreas unimodales que recibe la corteza perirrinal la hacen una estructura muy versátil dentro del estudio de la memoria, sin embargo, todas las tareas estudiadas convergen en que es necesaria para la identificación de estímulos o el reconocimiento, concepto que se ha definido como el conocimiento de que un estímulo o clase de estímulos es uno y es el mismo a través de diferentes instancias en las que se experimenta (Murray *et al.*, 2005).

Corteza parahipocampal o postrinal

A diferencia de la corteza perirrinal, las eferencias de las áreas polimodales que la corteza parahipocampal recibe, sugieren que se involucra en tareas espaciales más que visuales. No obstante, se ha descrito que ambas estructuras se involucran en el aprendizaje contextual. El aprendizaje del condicionamiento al miedo dependiente de contexto se ve afectado cuando se lesiona la corteza perirrinal (Corodimas y LeDoux, 1995, Bucci, *et al.*, 2000, 2002) o la corteza postrinal (Bucci, *et al.*, 2000, 2002). Sin embargo, la lesión de estas estructuras no afecta la ejecución de los sujetos en el laberinto acuático de Morris (Burwell *et al.*, 2001; Winters *et al.*, 2004). Por lo tanto, la corteza perirrinal y parahipocampal aparentemente contribuyen al aprendizaje contextual pero no a la

4 Antagonista de los receptores AMPA.

navegación espacial. Otros experimentos han propuesto una disociación entre las funciones de estas cortezas. Con la tarea de reconocimiento de objetos, Norman y Eacott (2005), diseñaron una versión contextual en la que las ratas se habituaron a un grupo de objetos en un contexto y a un conjunto distinto de objetos en otro contexto. Durante la fase de elección se le presentaron a los sujetos dos objetos en un solo contexto, uno que pertenece al contexto en el que se entrenó (A) y otro que se presentó en el otro contexto (B), de manera que B es incongruente con la habituación de A y su contexto. Las ratas a las que no se les practicó lesión pasaron más tiempo explorando el objeto B, al igual que las ratas con lesión en la corteza perirrinal. Sin embargo, las ratas con lesión en la corteza postrinal exploraron ambos objetos por igual.

Aunque las funciones específicas de cada región para el aprendizaje contextual no estén muy claras, una hipótesis dice que la corteza perirrinal y postrinal tienen roles separados pero complementarios para el procesamiento de información contextual. Por ejemplo, la corteza postrinal puede estar participando en el monitoreo y cambios del entorno, y la corteza perirrinal puede ser necesaria para la codificación de las características del ambiente relevantes para la conducta (Furtak *et al.*, 2007).

Hipocampo

La gran variedad de investigaciones referentes al hipocampo, lo han hecho responsable de diversas funciones. Por un lado, se tiene la teoría de su participación en la memoria declarativa sustentada en la sintomatología amnésica que presentan pacientes que han sufrido daño en el lóbulo temporal medial (Squire y Zola, 1996). Sin embargo, en estos pacientes es común que la extensión del daño abarque otras regiones del sistema hipocampal por lo que no se sabe con certeza qué información aporta el hipocampo para la memoria declarativa. Los modelos animales con lesiones en hipocampo diseñados para recrear la sintomatología de H.M. apoyaron su participación en el proceso mnemónico ya que daños en esta estructura provocaron una disminución en el desempeño de las tareas conductuales. Una de las primeras investigaciones en primates no humanos que demostraron que el hipocampo participa en la memoria declarativa fue el trabajo de Mishkin (1978), quien utilizó una tarea de no igualación a la muestra demorada (DNMS por sus siglas en inglés). Esta tarea es similar al reconocimiento de objetos con la diferencia de que las tareas DNMS pasan por una fase de entrenamiento en el que a los sujetos se les enseña mediante reforzadores a elegir un estímulo novedoso. El daño conjunto del hipocampo y la amígdala dañaron significativamente la ejecución de los

sujetos en esta tarea. Sin embargo, unos años después, los mismos trabajos de Mishkin refutaron estos resultados al demostrar que en su experimento original dañaron colateralmente las cortezas rinales (Murray y Mishkin, 1998). En trabajos posteriores, así como de otros autores, se concluye que la lesión de la corteza perirrinal era suficiente y necesaria para impedir la memoria de reconocimiento (*fig. 4*; Baxter y Murray, 2001; Hampton 2001; Murray y Richmond, 2001).

Casi de manera paralela a los experimentos de Mishkin, O'Keefe comienza a publicar sus trabajos que dieron origen al concepto de células de lugar (O'Keefe y Dostrovsky, 1971; O'Keefe *et al.*, 1975; O'Keefe, 1976). En estos experimentos en ratas, se observó la existencia de poblaciones delimitadas de neuronas en el hipocampo que responden a lugares específicos en un ambiente, lo que llevó a pensar que la función del hipocampo, o por lo menos de estas células de lugar en el hipocampo, es

crear relaciones espaciales de acuerdo a la geometría del entorno. Esta hipótesis fue apoyada por los experimentos en donde se observó una incapacidad de resolver tareas espaciales después de lesiones en el hipocampo (Morris, 1984). No obstante, algunos trabajos ponen en duda la función tan específica de las células de lugar, al observar que estas mismas neuronas responden ante cambios de estímulos visuales u olfativos (Anderson y Jeffery, 2003), además de que se ha descrito actividad similar a las células de lugar en la corteza perirrinal (Burwell *et al.*, 1998) y postrinal (Burwell y Hafeman, 2003).

Una tercer hipótesis de la función del hipocampo menciona que en esta estructura se procesa información contextual, definiendo el contexto como el conjunto de elementos que permanecen constantes en un ambiente como colores, olores, texturas y formas que constituyen el fondo ambiental a una situación de aprendizaje (Burgess *et al.*, 2001). Los experimentos con condicionamiento al miedo dependiente de contexto apoyan esta hipótesis al demostrar que con lesiones en el hipocampo los animales no presentaban cambios en la conducta después del entrenamiento (McNish y Gewritz, 2000; Anagnostaras *et al.*, 2001; Matus-Amat, 2004; Lang *et al.*, 2009). Se han obtenido resultados similares

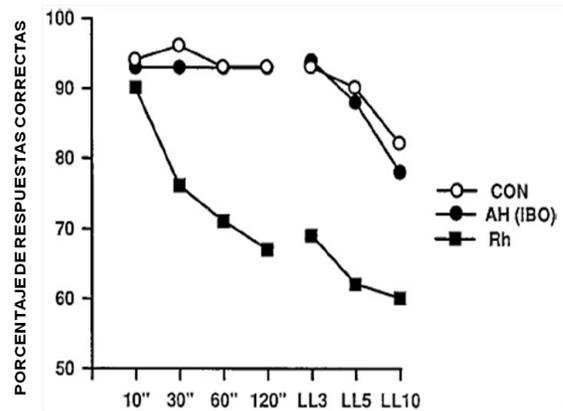


Figura 4. En esta figura se muestra la comparación entre el porcentaje de respuestas correcta de primates no humanos en una tarea DNMS con lesiones excitotóxicas de amígdala e hipocampo (AH), corteza rinal (Rh) y controles a los que no se les practicó ninguna lesión (CON). Las gráficas de la izquierda corresponden a un protocolo en el que la fase de elección se realizó después de 10, 30, 60 y 120 segundos después de la fase de muestra. Las gráficas de la derecha corresponden a un protocolo en el que los sujetos tenían que elegir el objeto novedoso entre una lista de 3, 5 y 10 objetos. El daño a la corteza rinal afecta esta tarea, no así el daño a la lesión conjunta del hipocampo y la amígdala, refutando así los primeros resultados de Mishkin (1978). Modificado de Murray y Mishkin, 1998.

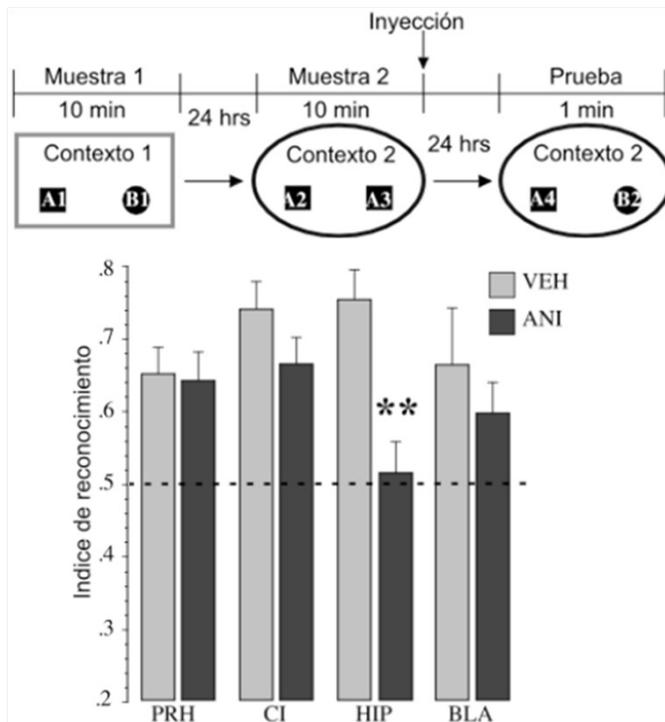


Figura 5. En esta figura se muestra el experimento de reconocimiento de objetos en contexto. Arriba, se describe el protocolo que se utilizó. En una primera fase de muestra se expuso a los sujetos a un contexto con dos objetos diferentes (A-B). Después de 24 hrs. se realizó una segunda fase de muestra con dos copias de un objeto expuesto en la fase anterior (A-A) pero en un segundo contexto. La prueba se realizó 24 hrs. después presentando un objeto visto en el segundo contexto (A) y un segundo objeto familiar en el primer contexto pero novedoso en el segundo (B). Abajo, se muestra la representación gráfica del índice de reconocimiento del objeto B en la fase de prueba. Los sujetos controles exploran preferentemente el objeto B porque es novedoso en el segundo contexto. En este trabajo se inyectó anisomicina después de la muestra 2 en cuatro estructuras diferentes del lóbulo temporal medial: corteza perirrinal (PRH), corteza insular (CI), hipocampo (HIP) y la región basolateral de la amígdala (BLA). Sólo la inyección de anisomicina en el hipocampo tuvo efecto sobre la ejecución de esta tarea, concluyendo que es una estructura indispensable para el reconocimiento contextual de estímulos. Modificado de Balderas, *et al.*, 2008.

con otras tareas como con el reconocimiento de objetos dependiente del contexto al inyectar anisomicina en el hipocampo (*fig. 5*; Balderas *et al.*, 2008).

Para tratar de integrar la variedad de efectos que provoca la lesión en el hipocampo, Smith y Mizumori (2006), proponen una definición más general de contexto, la cual dice que el contexto se refiere a cualquier circunstancia en particular o conjunto de circunstancias que tienen que ser diferenciadas de otras situaciones para que los sujetos puedan evocar la conducta correcta o la memoria.

La idea del procesamiento de información contextual, de acuerdo a la definición clásica de contexto, se acopla muy bien a la memoria declarativa porque se necesita envolver a las vivencias en las circunstancias en las que ocurrieron. No obstante, esta visión de contextos no permitiría distinguir entre eventos que sucedieron en el mismo lugar pero con diferentes elementos de aprendizaje. La propuesta de Smith y Mizumori (2006) de la participación del hipocampo, no como

compilador de información topográfica, sino como un integrador de elementos que componen una situación (*fig. 6*) tiene los convenientes de que:

1. Es posible consolidar eventos individuales en ambientes similares.

2. Es congruente con la descripción anatómica del sistema hipocampal que menciona que en el hipocampo convergen la información de los objetos en un ambiente y la información espacial de la corteza parahipocampal o postrinal.
3. Se observa al hipocampo como miembro de un sistema que cuando sus partes funcionan en conjunto se tiene como resultado la memoria declarativa.

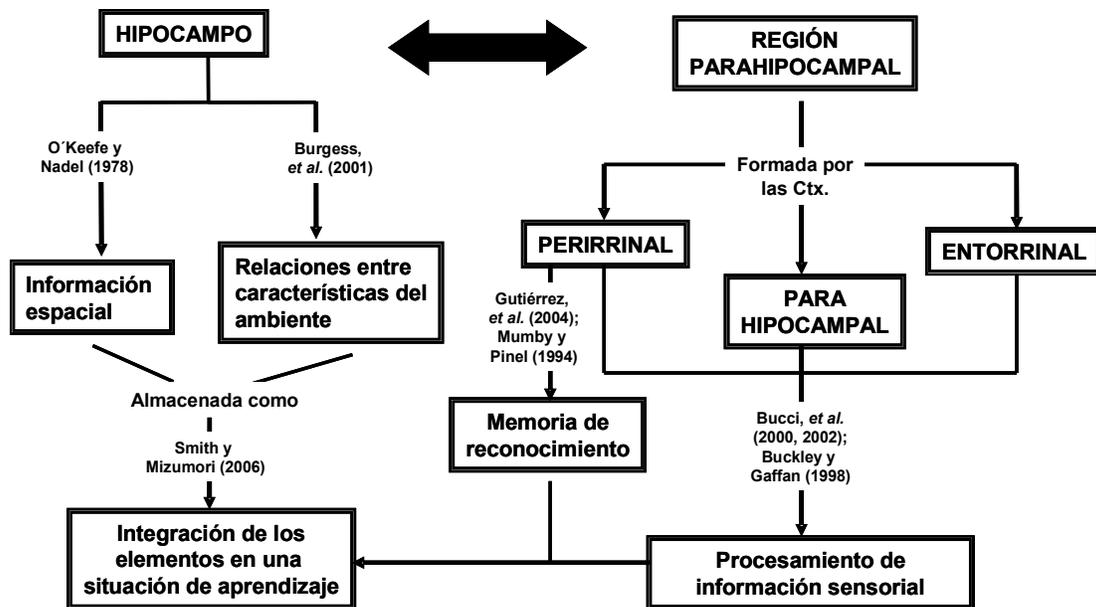


Figura 6. Esquema de la contribución de las estructuras del sistema hipocampal a la memoria declarativa. De acuerdo a la teoría de neuronas de lugar y procesamiento contextual, el hipocampo contribuye con la información topográfica de un ambiente, sin embargo, se ha observado que el papel del hipocampo puede ser más generalizado y que su participación a la memoria declarativa puede ser la integración de los elementos que componen una situación. La región parahipocampal, debido a sus conexiones con áreas polimodales y unimodales, tienen funciones de reconocimiento de estímulos y de procesamiento perceptual, aportando al hipocampo la información necesaria para llevar a cabo sus funciones de integración de la información.

MEMORIA NO DECLARATIVA

Las memorias no declarativas se concentran en aprendizajes que no necesitan un acceso consciente para su evocación. Hábitos, condicionamiento clásico, facilitación perceptual o priming, y en general las habilidades adquiridas a través de entrenamiento que dependen de ejecución motora más que de conocimiento fáctico, están clasificadas como memorias no declarativas (Squire y Zola, 1996). A diferencia de la memoria declarativa, en donde se ha descrito un sistema compuesto por diversas estructuras cerebrales (cada una con funciones diferentes pero con un proceso cognitivo en común), en la memoria no declarativa no se puede identificar un único sistema. La memoria no declarativa es un

término que engloba un conjunto de habilidades que tienen varias características comunes, como la capacidad de ser ejecutadas sin necesidad de la experiencia subjetiva de estar realizándolas (inconsciencia). Las habilidades que componen esta memoria se agrupan como tal por categorización, no porque compartan una anatomía o sistemas funcionales.

Memoria de procedimiento

Si la memoria declarativa responde al qué, dónde y cuándo de una experiencia, la memoria de procedimientos responde al cómo (Cohen y Squire, 1980). Esta definición incluye tanto la ejecución motora (habilidades adquiridas a través de entrenamiento cómo manejar) como los procedimientos que se pueden realizar de manera cognoscitiva (aprendizaje de reglas o algoritmos de una situación cómo jugar ajedrez). Los hábitos también forman parte de la memoria de procedimientos y se definen como la adquisición gradual de asociaciones estímulo-respuesta (Knowlton *et al.*, 1996; Packard y Knowlton, 2002).

Estos tres elementos sugieren la existencia de memorias de procedimientos motoras y no motoras con similitudes fundamentales, entre ellos la inconsciencia y el entrenamiento constante que lleva a un aumento en la rapidez y eficiencia de la ejecución (Rosenbaum *et al.*, 2001). Sin embargo, también se han descrito diferencias, por ejemplo, los movimientos motores se planean de acuerdo a la geometría del ambiente y tienen que reclutar órganos efectores, pero en los procedimientos no motores la planeación y ejecución no son tan fáciles de discernir y el modo de expresión es más general, por ejemplo el saber las reglas de un juego (Willingham, 1998).

Estudios con humanos y neuroimagen funcional han descrito una actividad de los ganglios basales relacionada con el aprendizaje y ejecución de las memorias de procedimientos (Doyon *et al.*, 2009). Esta idea es congruente con la descripción de los mecanismos de plasticidad posteriores al entrenamiento de tareas de procedimientos en neuronas del núcleo estriado (Di Filippo *et al.*, 2009; Wickens, 2009).

Ganglios basales

De acuerdo a la descripción de White (2009), en primates el núcleo caudado se puede dividir en dos partes: el dorsal anterior y el dorsal posterior y se considera estrechamente relacionado con el putamen. La frontera entre el caudado dorsal anterior y el putamen se encuentra en la cápsula interna. Al referirse al conjunto de ambas estructuras se les denomina *corpus striatum* (cuerpo estriado) o *neostriatum* (neostriado) para distinguirlos de otras estructuras estriales. El término *ganglios basales*

comprende el neostriado junto con otras estructuras como el núcleo subtalámico, el *globus pallidus*, sustancia negra y el núcleo accumbens (o estriado ventral). En ratas, la ausencia de la cápsula interna hace que el caudado y el putamen se consideren como una sola estructura nombrada caudoputamen o estriado dorsal para diferenciarlo del estriado ventral (núcleo accumbens).

Los ganglios basales son una división muy grande dentro del cerebro por lo que sus funciones son muy heterogeneas. Generalmente, son reconocidos por su relevancia en la motricidad⁵, pero hay evidencia de que no se limitan a la locomoción sino que contribuyen al aprendizaje de memorias de procedimiento (Kimura, 1995; Balleine *et al.*, 2009; Da Cunha *et al.*, 2009). Debido a sus múltiples funciones, los ganglios basales se han dividido en circuitos dependiendo de sus conexiones.

La estructura con más aferencias es el neostriado que tiene comunicación con la neocorteza así como con el estriado ventral que recibe información del sistema límbico. Las eferencias de los ganglios basales son menos profundas y se limitan a estructuras como el tálamo y la corteza prefrontal. Se ha descrito que los circuitos que se forman en los ganglios basales están segregados, con proyecciones de la corteza a regiones estriatales específicas y con eferencias hacia el *pallidum* o sustancia negra. Las eferencias de los circuitos continúan segregadas de estas últimas estructuras hacia núcleos específicos del tálamo que proyectan a diferentes regiones corticales, principalmente al lóbulo frontal. Estos circuitos se han clasificado dependiendo de su objetivo en la corteza frontal, por lo que se han descrito circuitos motores, de asociación y límbicos (*fig. 7*; Alexander y Crutcher, 1990; Joel y Weiner, 2000).

Se ha propuesto que los circuitos cerrados que forman el sistema corticoestriatal son un medio para seleccionar y coordinar diferentes acciones o respuestas (McHaffie *et al.*, 2005). Para que los ganglios basales se involucren en la selección de respuestas tiene que haber una integración de los circuitos que coordina la salida de información. Además de los circuitos cerrados hay proyecciones que forman circuitos abiertos que modulan la actividad de otros circuitos, por ejemplo, el circuito límbico es capaz de influenciar los otros circuitos estriatales a través de sus proyecciones hacia las neuronas dopaminérgicas en la sustancia negra⁶ (Haber *et al.*, 2000; Joel y Weiner, 2000). Esta característica del circuito estriatal límbico sugiere que la motivación y la recompensa son importantes para la selección de respuestas⁷.

5 Los ganglios basales participan en el control y selección de movimientos voluntarios (Mizumori *et al.*, 2009).

6 Además de las eferencias corticales hacia el estriado, los ganglios basales reciben proyecciones dopaminérgicas de la región *pars compacta* de la *substantia nigra* hacia el estriado dorsal, y del área tegmental ventral hacia el estriado ventral.

7 La dopamina se ha asociado estrechamente con el papel del reforzamiento en la memoria (Winterbauer y Balleine, 2007). Los pacientes con enfermedad de Parkinson quienes presentan una disminución en los niveles de dopamina en el estriado, no pueden aprender correctamente tareas de ensayo y error en las que la conducta se modifica por

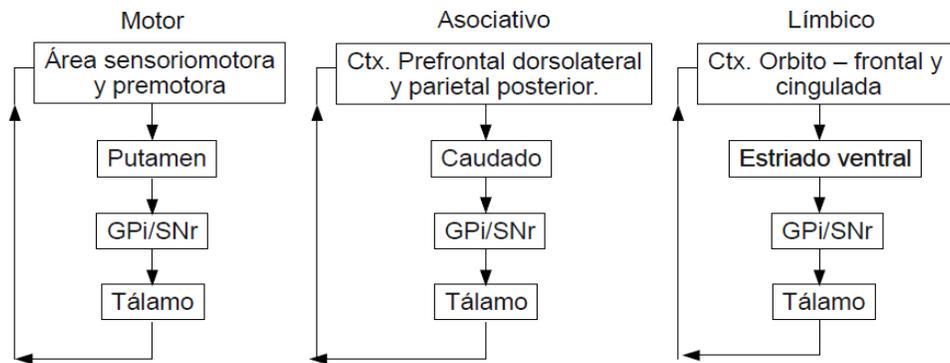


Figura 7. En este esquema se muestran los tres circuitos cortico-estriales principales basados en sus objetivos en el lóbulo frontal. Los circuitos se dividen en: motor, asociativo y límbico. El circuito motor incluye regiones del lóbulo frontal involucradas en funciones motoras, el circuito de asociación incluye regiones prefrontales que reciben eferencias corticales polimodales y en el circuito límbico se involucran regiones frontales que se han asociado con la regulación de la motivación y la conducta. Principalmente, estos circuitos se encuentran cerrados, lo que quiere decir que las estas regiones corticales mandan sus proyecciones a áreas estriales que eventualmente proveen de aferencias a la misma región cortical. Se ha hipotetizado que la arquitectura cerrada de los circuitos cortico-estriales es un medio eficiente para la selección y coordinación de diferentes acciones o respuestas (Hikosaka, 1998).

El estriado dorsal y la memoria de procedimientos

La descripción general de los ganglios basales menciona que la selección de respuestas depende de sus circuitos, pero no menciona su relación en el aprendizaje de procedimiento, por eso es importante distinguir aquellos circuitos vinculados con este proceso. En el estriado dorsal se pueden identificar dos núcleos, el caudado y el putamen que son las estructuras de los circuitos asociativo y motor que más proyecciones reciben (Graybiel, 2000; Kimura, 1995).

El núcleo putamen es parte del circuito motor y su función en la memoria se centra en el aprendizaje de habilidades motoras. Dentro de las regiones corticales que proyectan hacia el putamen se encuentra la corteza premotora asociada a la planeación del movimiento. Por lo tanto, el putamen puede estar involucrado en el aprendizaje y ejecución de hábitos en donde una respuesta en particular se vincula con un elemento específico del entorno (Yin y Knowlton, 2006). Con estudios electrofisiológicos en primates no humanos se ha observado que las neuronas del putamen responden mientras se ejecutan movimientos habituales o sobreentrenados (Kimura *et al.*, 1993). En contraste, el caudado puede estar involucrado en funciones ejecutivas por sus conexiones con la corteza frontal. Las neuronas del núcleo caudado responden ante acciones orientadas a metas y memoria de trabajo (Levy *et al.*, 1997). En pacientes con corea de Huntington, en la que existe una degeneración neuronal del núcleo

retroalimentación (Shohamy *et al.*, 2004).

caudado, se observa un déficit en habilidades cognoscitivas como sustraer las reglas de una tarea (Watkins *et al.*, 2000).

En roedores la distinción entre caudado y putamen no es tan clara por lo que muchos de los estudios que se hacen con lesiones no consideran una división entre estas estructuras y se lesionan ambas por igual. No obstante, estos experimentos han demostrado que la lesión del estriado dorsal afecta tareas de condicionamiento tanto clásico como operante (Grahn *et al.*, 2009; White, 2009).

Amígdala y condicionamiento aversivo al sabor

Las tareas con reforzadores son útiles porque permiten explorar los estados afectivos del sujeto mediante una medida indirecta: orientación, aproximación o alejamiento a un estímulo. Estas conductas suponen respuestas internas no observables de las que han derivado los modelos de miedo y ansiedad y el estudio de las estructuras participantes en la asociación de los estímulos condicionado e incondicionado en un modelo de condicionamiento. Se ha descrito que los eventos con alto contenido emocional son más fáciles de recordar y también se ha observado que la amígdala es una de las estructuras más importantes para el procesamiento de este tipo de información (Rogan *et al.*, 1997; Rosen y Donley, 2006; Marschner *et al.*, 2008).

La participación de la amígdala en el CAS se ha observado a lo largo de la literatura. Esta tarea ya se describió con anterioridad, pero en resumen consta de una asociación de un sabor novedoso con un malestar gástrico inducido por una inyección intraperitoneal de un irritante gástrico como LiCl. El sabor novedoso hace la función de estímulo condicionado (EC), el irritante gástrico de estímulo incondicionado (EI) y como resultado se obtiene la respuesta condicionada que se observa a través de una disminución del consumo del sabor novedoso en la siguiente presentación (García, 1955). Esto quiere decir que las señales del estímulo gustativo tienen que converger en algún punto con señales viscerales para que se de la asociación.

En la descripción de la transmisión de señales de los estímulos del CAS, las vías del sabor novedoso y las señales viscerales provocadas por el EI pasan por diferentes estructuras de las cuales se ha observado que el subnúcleo dorsolateral del núcleo parabraquial es de gran relevancia para la detección del sabor (Bermúdez-Rattoni, 2004; Yamamoto, 2007). A partir de esta estructura, la vía del sabor novedoso continua hacia 3 diferentes regiones: hacia el núcleo *basalis magnocelularis* que puede estar contribuyendo con señalización colinérgica involucrada en la consolidación de la memoria (Naor y Dudai, 1996; Harder *et al.*, 1998; Winters *et al.*, 2006), hacia la corteza insular (corteza gustativa) a

través de conexiones del subnúcleo dorsolateral con el tálamo ventroposteromedial; y hacia la región basolateral de la amígdala (BLA) donde también convergen las otras dos vías (Bermúdez-Rattoni, 2004). La información procesada en la BLA puede estar contribuyendo al valor hedónico del estímulo (Yamamoto, 2007).

En la vía del EI, el subnúcleo lateral exterior del núcleo parabraquial recibe información visceral del nervio vago y del área postrema. El subnúcleo lateral manda sus proyecciones hacia el tálamo ventroposterolateral que manda eferencias hacia la corteza insular. El subnúcleo lateral exterior también manda proyecciones hacia la región central de la amígdala donde también llegan eferencias de la vía que pasa por el tálamo ventroposterolateral (Bermúdez-Rattoni, 2004). La amígdala central se ha visto estrechamente involucrada con la consolidación del CAS, ya que la inhibición de la síntesis de nuevas proteínas en esta estructura produce un efecto amnésico de esta tarea (De la Cruz *et al.*, 2008; Yamamoto, 2007).

DISOCIACIÓN ENTRE TIPOS DE MEMORIA

A pesar de que nos hemos enfocado en las diferencias anatómicas y conductuales entre la memoria declarativa y no declarativa, existen evidencias de la participación de estructuras de un sistema que afectan la memoria de una tarea que se asume específica de otro sistema o estructura. Sin embargo, no queremos asumir una postura de exclusividad del sistema hipocampal para la memoria declarativa, ni que las estructuras participantes para la memoria no declarativa estén aisladas para sus funciones mnemónicas. Lo que compete a este trabajo no es la incompatibilidad⁸ ni la cooperatividad⁹ entre los sistemas, nuestro interés es saber los límites entre la memoria declarativa y no declarativa sin sugerir la independencia entre los sistemas, pero sí una especialización que los hace suficientes y necesarios para resolver ciertas tareas.

El caso del condicionamiento aversivo

El condicionamiento clásico se refiere a los protocolos estímulo-respuesta en los que se fortalecen las entradas sensoriales del estímulo junto con las vías de salida de las respuestas motoras

8 Sherry y Schacter (1987) sugirieron que los sistemas neuronales independientes evolucionaron para procesar información incompatible. Esta teoría dice que las memorias para hechos y situaciones son incompatibles con la memoria de habilidades estereotipadas y hábitos.

9 La postura de cooperatividad entre memorias menciona que en cualquier situación de aprendizaje, cada sistema adquiere una representación de la situación con cierta coherencia que determina la amplitud de su actividad. En algunas situaciones la actividad de los sistemas puede promover el mismo comportamiento o partes diferentes de una conducta compleja requerida para realizar una tarea.

presentes al momento de la señalización del reforzador (Horvitz, 2009). Generalmente, en los condicionamientos que utilizan estímulos que provocan aversión o dolor se considera a la amígdala como la estructura principal para la consolidación de estas memorias, como en el caso del condicionamiento al miedo. Sin embargo, hay experimentos en ratas que demuestran que la lesión del estriado dorsal afecta las tareas de condicionamiento aversivo. En los experimentos de Viaud y White (1989), se entrenó a las ratas para que parearan un estímulo con un choque en las patas. Después del entrenamiento, se privó a los sujetos de agua y se les permitió beber de un bebedero. Mientras las ratas bebían se presentó el estímulo con el que habían sido entrenadas. Las ratas control a las que no se les realizó ninguna lesión presentaron conducta de congelamiento, que se observó con el número de lenguetazos que las ratas daban al bebedero, pero las ratas a las que se les practicó una lesión en el estriado no presentaron la conducta de congelamiento que es natural de las ratas ante el miedo.

En un experimento similar se entrenó a dos grupos independientes de ratas en dos protocolos de condicionamiento al miedo diferentes (Ferreira *et al.*, 2003). Uno en el que se pareó un tono con un choque en las patas y otro en el que se pareó el contexto (características ambientales) con los choques. Las ratas control presentaron conducta de congelamiento en ambos protocolos pero las ratas con lesión en el estriado dorsal presentaron esta conducta sólo en el entrenamiento contexto-choque, sugiriendo que dependiendo de la demanda de la tarea es el sistema cerebral reclutado para la consolidación de la memoria. Por otro lado, la memoria del protocolo contexto-choque se ve afectada por el bloqueo de los receptores NMDA¹⁰ del hipocampo pero no la tarea tono-choque (Matus-Amat *et al.*, 2007).

La variedad de protocolos que se utilizan para estudiar la memoria de condicionamiento al miedo provee un primer análisis al por qué de los resultados tan heterogéneos con lesiones en estructuras cerebrales. Las condiciones de los protocolos indican los sistemas que van a ser más relevantes para la consolidación de la información. En el caso de la tarea contexto-choque, las condiciones ambientales son de gran relevancia para que se logre la asociación entre los estímulos, si se nulifica la actividad de la estructura encargada de procesar el indicador del estímulo nocivo, es de esperarse que al momento de la prueba conductual haya un efecto amnésico del entrenamiento. En el caso de los experimentos de Viaud y White (1989), puede ser que las lesiones en el estriado dorsal no afecten la memoria sino la sensibilidad a los estímulos nocivos debido al procesamiento sensorio motor que se lleva a cabo en esta estructura.

¹⁰ La neurotransmisión glutamatérgica, en la cual los receptores NMDA tienen un papel muy importante, ha resultado ser de gran relevancia para la formación de la memoria. Se ha observado la participación de los receptores NMDA en la plasticidad sináptica y en la síntesis de proteínas necesarias para la memoria como BDNF (Li y Tsien, 2009).

El caso del aprendizaje espacial

Las evidencias de los estudios clínicos en humanos y los modelos animales sugieren un contraste entre las memorias declarativas (episódicas, espaciales y contextuales), mediadas por el sistema hipocampal y las memorias de procedimientos o hábitos consolidadas en el núcleo estriado. Estas descripciones anatómicas entre las memorias declarativas y las de procedimientos pueden ser simplificaciones de procesos de incompatibilidad del procesamiento de la información llevada a cabo en cada sistema o estructura. No obstante se han descrito problemas de aprendizaje espacial después de provocar lesiones en el estriado en ratas (Devan y White, 1999) y estudios neurofisiológicos muestran activación de las neuronas del estriado ante tareas dependientes de contexto (Gardiner y Kitair, 1992; Mizumori *et al.*, 1999; Eschenko y Mizumori, 2007). El laberinto acuático de Morris (WM por sus siglas en inglés) se ha utilizado para hacer la disociación anatómica entre el sistema hipocampal y el caudado dorsal. Esta tarea utiliza un laberinto acuático de campo abierto de forma circular. Las ratas son colocadas dentro del laberinto del cual pueden escapar encontrando una plataforma no visible para la rata porque esta por debajo del nivel del agua. Por lo tanto, la plataforma no tiene claves con las que las ratas se puedan guiar hacia ella. En cambio, el laberinto está rodeado por claves espaciales que las ratas tienen que utilizar para localizar la plataforma. El protocolo conductual describe una fase de entrenamiento que se puede extender por varios días dependiendo del experimento. Cada día de entrenamiento consta de varios ensayos (máximo 1 min por ensayo) en los cuales se puede observar una mejora conductual graficando una curva de aprendizaje de los sujetos. La segunda fase es el día de la prueba donde se evalúa el aprendizaje de la fase de entrenamiento. El desempeño de los sujetos se mide cronometrando la latencia (el tiempo que tardan los sujetos en llegar a la plataforma desde el punto de inicio) o midiendo el tiempo que pasan nadando en el cuadrante donde se encontraba la plataforma (Morris, 1984). Una variación de esta tarea utiliza una plataforma visible (señalizada o que esté por arriba del nivel del agua) que se cambia de localización en cada ensayo pero mantiene las demás condiciones de la versión espacial. A este tipo de tarea se le conoce como aprendizaje por clave o CM por sus siglas en inglés.

Para dar cuenta de las diferencias entre WM y CM Teather *et al.*, (2005), midieron los niveles de las proteínas de tipo c-Jun y c-Fos (proteínas que sirven como marcadores de actividad neuronal y cambios sinápticos involucrados en la memoria, después del entrenamiento del WM y CM en ratas, obteniendo una mayor expresión de las proteínas de tipo c-Jun y c-Fos en regiones CA1 y CA3 del hipocampo dorsal después del entrenamiento de WM pero no en CM y a su vez se obtuvo un aumento

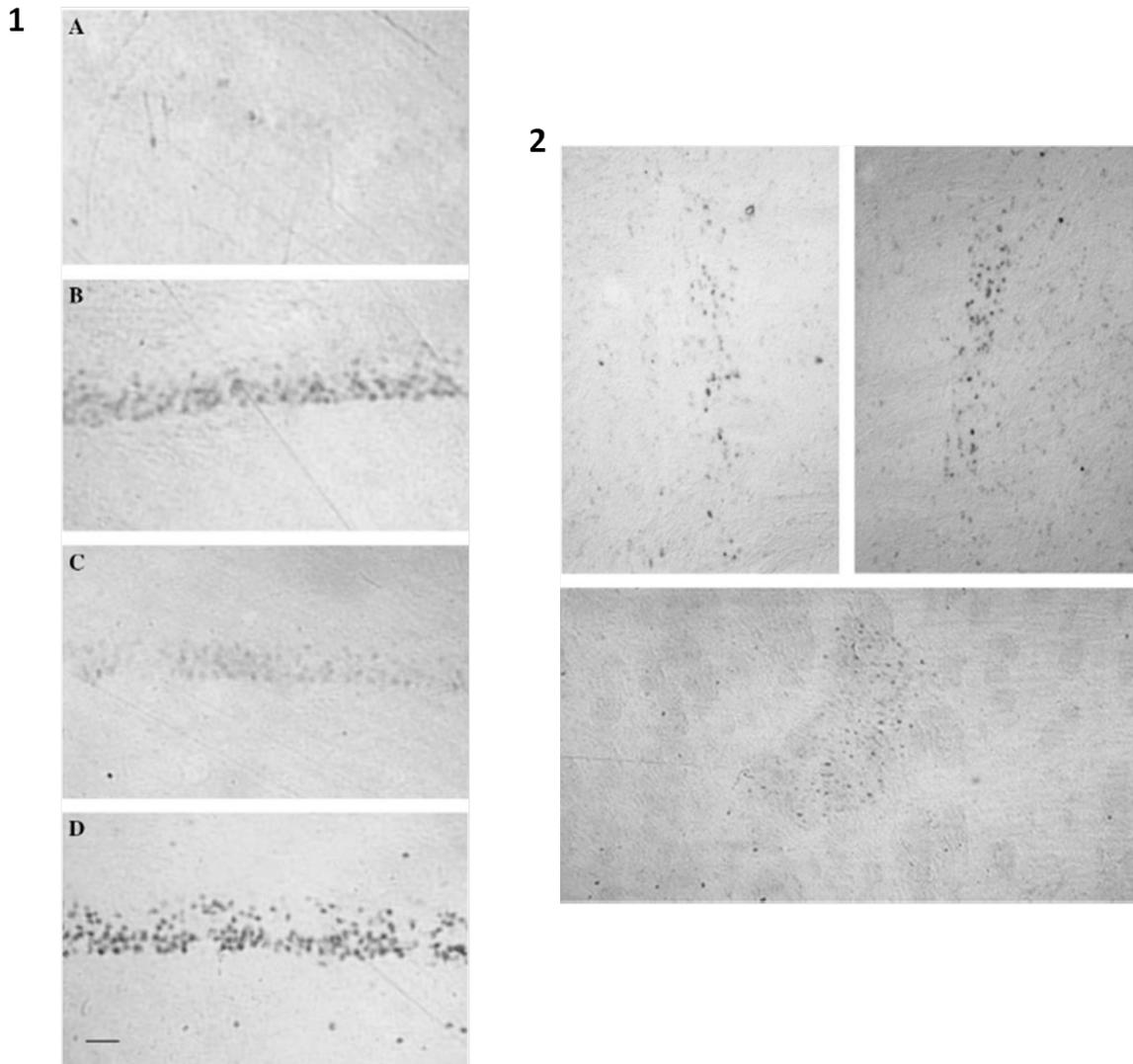


Figura 8. En el panel de la izquierda (1), se muestra la inmunoreactividad de c-Jun en células piramidales de la región CA1 del hipocampo de ratas no entrenadas (A), ratas expuestas a nado libre (B), aprendizaje por clave (C) y aprendizaje espacial (D). En las imágenes de la derecha (2), se muestran ejemplos representativos de células inmunoreactivas a c-Jun en el estriado dorsal posteroventral de ratas entrenadas en aprendizaje por clave. Modificado de Teather, *et al.*, 2005.

de estas proteínas en el caudado dorsal después del entrenamiento en CM pero no en WM (*fig. 8*). Una disociación similar se ha observado utilizando citocromo oxidasa como marcador metabólico del hipocampo y núcleo caudado mientras las ratas aprenden el laberinto acuático a través de claves espaciales o plataforma visible (Miranda *et al.*, 2006). Estas observaciones vuelven a sugerir una actividad sináptica relacionada con el almacenamiento de información en estructuras cerebrales determinadas cuando el tipo de información procesada sea espacial o estímulo-respuesta.

Los trabajos que indican una cooperatividad entre las estructuras de la memoria declarativa y la no declarativa muestran que no es tan sencillo decir que una tarea pertenece a una u otra clasificación. En condiciones naturales los sistemas deben de interactuar para aportar un mejor desempeño de los animales en las diferentes conductas que tienen que realizar para su sobrevivencia. No obstante, estos trabajos de laboratorio proponen que es posible diseñar tareas en las que se les puede dar mayor peso a cierta estructura o sistema dependiendo del tipo de información que se requiera procesar. El daño a regiones específicas del cerebro en animales que afecte ciertas tareas pero dejando intactas otras sugieren una especialización en el procesamiento de información. La lesión o inactivación de la estructura trae consigo la posibilidad de estar modelando los síntomas de los pacientes amnésicos, pero con la ventaja de que es posible manipular la extensión del daño o el fármaco administrado para saber la función de la estructura. En el ámbito de la anestesiología se considera a la amnesia como propiedad de las drogas anestésicas y existen algunas investigaciones que sugieren que con estas drogas es posible llegar a una disociación similar a las antes descritas.

ANESTESIA

Los anestésicos generales son fármacos que son utilizados para promover un estado inconsciente reversible (Zecharia y Franks, 2009). Su uso dentro del ámbito médico es necesario para inducir sedación (falta de respuesta ante estímulos nocivos o dolorosos), inmovilidad (falta de respuesta motora) e incluso amnesia. De acuerdo a la teoría unitaria (múltiples efectos – múltiples blancos) los anestésicos actúan en diferentes regiones del sistema nervioso para provocar cada uno de estos efectos. Por ejemplo, en el caso de la inmovilidad se ha propuesto a la médula espinal como el principal objetivo de los anestésicos (John y Prichep, 2005), para la inconsciencia no hay una estructura delimitada y hay muchos trabajos que proponen a varias estructuras como posibles blancos como el tálamo (Jia *et al.*, 2005), el núcleo tubero-mamilar (Nelson *et al.*, 2002), las vías de activación ascendentes (Zecharia y Franks, 2009) e incluso una visión más generalizada que menciona que la inconsciencia se debe a una desintegración de la información en la corteza (Alkire *et al.*, 2008). En el caso de la pérdida memoria se han asociado varias estructuras, como el amígdala y el hipocampo, como posibles regiones susceptibles a los efectos amnésicos de los anestésicos.

Anestesia y memoria

Buresová y Bures, (1979) utilizaron el CAS para demostrar que la memoria asociativa entre el sabor novedoso y el LiCl es posible cuando se presenta el estímulo incondicionado bajo los efectos hipnóticos del pentobarbital sódico (50mg/ml), a diferencia de la atenuación de la neofobia dónde se observó un efecto amnésico provocado por la droga. En ratas no anestesiadas la inyección del LiCl provoca una actividad cerebral generalizada (principalmente proveniente del sistema reticular activador ascendente), por lo que es difícil obtener resultados que apoyen que la amígdala tenga un papel indispensable para la asociación entre el sabor novedoso y el malestar gástrico. Sin embargo, con ratas anestesiadas se eliminó la actividad encefálica generalizada (Reddy y Bures, 1981). Los registros electroencefalográficos de ratas a las que se les inyectó pentobarbital antes del LiCl muestran que la amígdala basolateral presenta actividad similar a ratas control, por lo que no sólo es posible relacionar con más certeza a la amígdala con el CAS, si no que sugiere que existen memorias las cuales el pentobarbital no es capaz de suprimir (Reddy y Bures, 1981).

La amígdala es un núcleo subcortical estrechamente ligado al procesamiento de información emocional relevante. Investigaciones con prevención pasiva, una tarea estrechamente relacionada con el hipocampo por su componente contextual y con la amígdala por su componente emocional, sugieren que los efectos amnésicos ocasionados por la inyección de propofol se deben a una inhibición de la amígdala por un efecto agonista sobre los receptores GABA_A. Esta inhibición provoca que la amígdala reduzca su actividad moduladora sobre el hipocampo, obteniendo de esta manera una amnesia anterógrada (Alkire *et al.*, 2001). En esta tarea, a las ratas se les da un choque eléctrico en las patas para que evite pasar a un compartimento oscuro de una caja experimental. La lesión excitotóxica de la amígdala impide el aprendizaje de la tarea bajo efectos de la dosis amnésica de propofol. El día de la prueba las ratas presentan una latencia baja comparándolas con el grupo control a las que se les realizó una cirugía estereotáxica similar pero sin lesionar la amígdala. Lo que sugiere que el propofol impide que la información contextual procesada por el hipocampo se asocie con la información aversiva de la amígdala y se produzca una amnesia anterógrada. Estos mismos efectos se han obtenido con otros anestésicos como el sevoflurano utilizando el mismo protocolo (Alkire *et al.*, 2005).

Estos dos experimentos representan tareas de memoria declarativa y no declarativa. El trabajo de Buresová y Bures (1979) es un condicionamiento aversivo (memoria no declarativa) y el protocolo de prevención pasiva utilizado por Alkire *et al.*, (2001, 2005) es una tarea de memoria declarativa por su

componente contextual. La administración de un anestésico daña la memoria declarativa pero no la no declarativa por lo que es posible encontrar con los anestésicos disociaciones entre estas memorias.

Existen investigaciones en humanos en las que se pretende investigar una disociación de memoria similar a la propuesta en esta tesis (Polster *et al.*, 1993; Martin *et al.*, 2009; Veselis *et al.*, 2009). En estos trabajos se les suministra una dosis no hipnótica pero sí amnésica a los sujetos previo al entrenamiento o fase de aprendizaje. Las tareas que se les pide a los sujetos realizar generalmente comprenden la memorización de palabras, frases o imágenes (memoria declarativa) contrastándolas con la facilitación perceptual o priming de estímulos similares (memoria no declarativa). Se ha observado que sí existe una diferencia entre los efectos para la memoria declarativa y la no declarativa. No obstante, encontramos estas investigaciones sugestivas pero no contundentes para determinar una disociación entre memoria declarativa y no declarativa con anestésicos. Debido a que estos trabajos son realizados para ahondar más en la anestesiología, las metodologías no corresponden en su totalidad al estudio de la memoria. Al suministrar el anestésico previo al entrenamiento o aprendizaje es suficiente para estudiar aspectos de la anestesiología pero para observar resultados más interesantes en la memoria se necesita inyectarlo posterior al entrenamiento ya que de esta manera se evita que los anestésicos interfieran con los sistemas sensoriales y/o motores necesarios para un correcto aprendizaje. Por lo tanto, los trabajos con humanos no sólo añaden más evidencias a la posible disociación de memorias con anestésicos sino que además incentivan a perfeccionar los métodos existentes.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La memoria declarativa y no declarativa presentan diferencias funcionales y anatómicas. Tanto la sintomatología de los pacientes amnésicos como los modelos animales apoyan la teoría de especialización de funciones de estos tipos de memoria mediante experimentos de disociación. Los experimentos con anestésicos sugieren que es posible lograr una disociación similar debido a que se ha reportado que afecta tareas con componentes relacionados a la memoria declarativa pero no daña las tareas no declarativas, sin embargo esto no se ha estudiado sistemáticamente.

OBJETIVO

Inducir amnesia mediante una dosis hipnótica de pentobarbital sódico en tareas que requieran memoria de tipo declarativa, pero no en memorias no declarativas.

HIPÓTESIS

Si se inyecta una dosis hipnótica de pentobarbital durante el periodo de consolidación de tareas de tipo declarativas y no declarativas, y la memoria de tipo declarativa se afecta pero las no declarativas permanecen intactas, entonces la dosis hipnótica de pentobarbital puede servir para disociar estas dos memorias.

METODOLOGÍA

En esta tesis se pueden agrupar los experimentos realizados en tres: memoria de reconocimiento de objetos, memoria gustativa y laberinto acuático de Morris. A continuación se describen las características generales de la metodología para los diferentes experimentos, así como los animales y la curva dosis respuesta que realizamos con el pentobarbital para determinar la dosis necesaria para inducir hipnosis. Los procedimientos y particularidades de cada experimento se describen de manera individual.

Animales

Se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar (Colonia del Instituto de Fisiología Celular, UNAM) de un rango de peso entre 250-300 g. Se mantuvieron en cajas individuales a una temperatura controlada de 22 °C con un ciclo estándar luz-oscuridad (12 h luz : 12 h oscuridad) y acceso *ad libitum* de comida y agua excepto cuando se indique lo contrario. Los experimentos se realizaron en la fase de luz.

Anestesia

Se inyectó vía intraperitoneal de Pentobarbital Sódico Sedalphorte® (Reg. Sagarpa Q-7503-003). Como control se inyectó una dosis de 1 ml/Kg de peso de solución salina a una concentración de 0.9%.

CURVA DOSIS RESPUESTA

Como primer aproximación al estudio de diferenciación de memorias a partir de la inducción de amnesia con pentobarbital, decidimos homogeneizar la respuesta conductual de las ratas ante la droga, siendo la hipnosis la conducta mejor apreciable sin necesidad de pruebas elaboradas para su determinación: inmovilidad y falta de reacción ante estímulos nocivos.

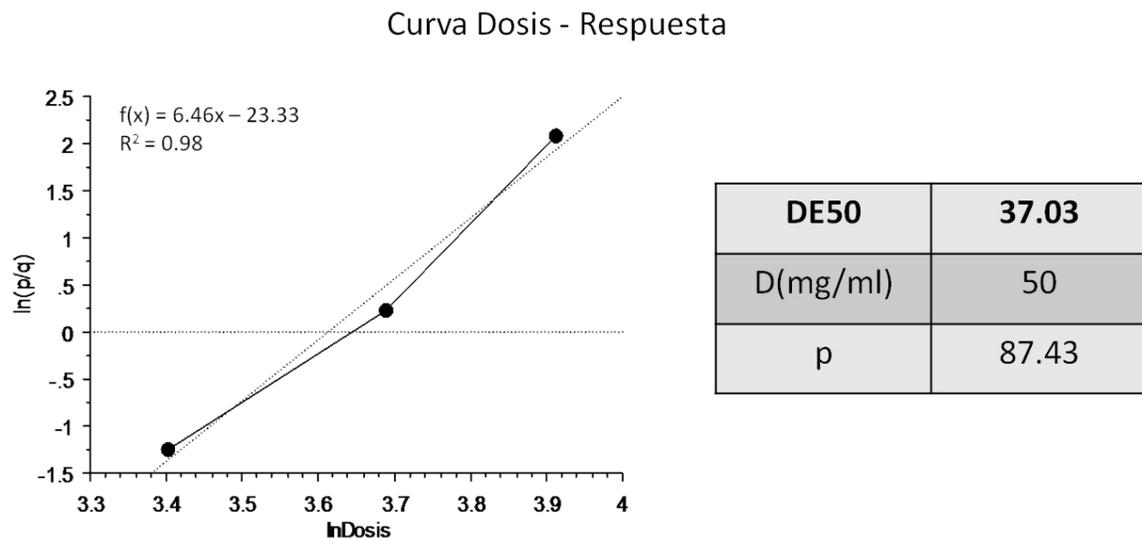


Figura 9. Curva dosis – respuesta donde se grafica el logaritmo natural (ln) de la dosis contra el ln de la probabilidad de obtener un efecto hipnótico (ln(p/q)). Se muestra también la recta de ajuste con $f(x) = 6.46x - 23.33$. A la izquierda de la gráfica se presenta la DE50 (37.03 mg/ml) y la probabilidad en porcentaje (p) de obtener un estado hipnótico con una dosis de 50 mg/ml (87.43%).

La curva dosis respuesta (*fig. 9*) se elaboró para saber la concentración necesaria de pentobarbital para inducir hipnosis a los sujetos. Se inyectó una dosis de 1 ml / Kg a diferentes concentraciones (mg / ml): 10, 20, 30, 40 y 50. Se utilizaron 9 ratas por grupo.

Se encontró que la dosis efectiva 50 (DE50) = es de 37.08 mg / ml y que, con la dosis de 50 mg / ml, existe un 87.43 % de probabilidad de obtener un estado hipnótico. Los grupos de 10 y 20 mg / ml se eliminaron del análisis debido a que nuestro objetivo es observar las consecuencias del estado hipnótico y con estas concentraciones ningún sujeto presentó los efectos del pentobarbital.

El pentobarbital es parte de los fármacos denominados barbitúricos. Estos fármacos promueven corrientes inhibitorias sobre los receptores GABA_A (Bieda y MacIver, 2004; Bonin y Orser, 2008; Gingrich *et al.*, 2009), receptores selectivos de iones Cl⁻ que se encargan de la mayoría de la neurotransmisión inhibitoria en el cerebro. El pentobarbital y otros anestésicos similares disminuyen la excitabilidad de la membrana mediante mecanismos independientes de los receptores GABA_A. Este barbitúrico, además de suprimir las corrientes inhibitorias post-sinápticas del hipocampo, disminuye la respuesta ante neurotransmisores y potenciales post-sinápticos excitatorios. También tiene efectos sobre las propiedades intrínsecas de la membrana celular que disminuyen la excitabilidad de las neuronas. Promueve la conductancia de K⁺ aumentando la corriente necesaria para una respuesta excitatoria. El pentobarbital también inhibe las corrientes de Ca⁺ y suprime la liberación de Ca⁺ que depende de los

neurotransmisores. Los barbitúricos en concentraciones altas disminuyen los potenciales de acción dependientes de Na^+ (Wan y Puil, 2002). Por lo tanto, el pentobarbital, tiene una amplia variedad de mecanismos mediante los cuales suprime las funciones celulares, lo que lo hace muy inespecífico para poder determinar como es que provoca el conjunto de criterios de la anestesia, sin embargo, es útil para producir hipnosis que es el efecto que nosotros estamos buscando para nuestros procedimientos conductuales. Con la curva dosis respuesta observamos que la dosis de 50 mg/ml es la más efectiva para inducir hipnosis sin ser letal, por lo que es la dosis que utilizamos en todos nuestros protocolos.

EXPERIMENTO 1: Memoria de Reconocimiento de Objetos

Como ya se mencionó, esta tarea aprovecha la tendencia natural de las ratas para explorar los objetos novedosos sobre los familiares. De esta manera, en la primera presentación o fase de muestra, a los sujetos se les presentaron dos objetos idénticos novedosos. En el segundo día ó prueba de memoria, se les mostró un objeto de la fase anterior (objeto familiar) junto con uno novedoso. La inyección de pentobarbital o salina se realizó inmediatamente después de la fase de muestra. Se espera que el grupo de solución salina explore más tiempo el objeto novedoso que el familiar y el grupo de pentobarbital explore ambos objetos por igual en la fase de prueba.

Aparatos

Se utilizó una arena de campo abierto (40 x 40 cm, 40 cm de alto) construida de madera pintada de gris y cubierta de aserrín. Se iluminó con luz tenue con focos de 60 W y se mantuvo monitoreada con una cámara de video colocada arriba de la arena (conectada a un DVD/TV). La arena fue ubicada en un cuarto con luz y temperatura controlada a 21° C y ambientada con ruido blanco para aislarla del ruido exterior.

Objetos

Se utilizó una bombilla de luz blanca y un frasco de vidrio adheridos a la arena con velcro.

Procedimiento Conductual

Manipulación y fase de habituación

Cada rata se manipuló por 1 minuto cada día durante 5 días consecutivos. Después de la manipulación, se les permitió a las ratas explorar para familiarizarse con la arena vacía durante 3

minutos. Después de cada habituación se quitó el aserrín sucio y se removió el aserrín para evitar señales olfativas.

Fase de muestra

La rata se colocó en la arena en el lado opuesto de los objetos dando la cara hacia la pared. Se le permitió explorar dos objetos idénticos (A - A) durante 10 min y se midió el tiempo que pasó explorando cada uno de los objetos (T). Luego, se sacó a la rata de la arena y se regresó a su caja. Para evitar rastros de olor se quitó el aserrín sucio y se limpiaron los objetos con etanol al 70% después de cada ensayo.

Fase de prueba

La fase de prueba se realizó 24 hrs después de la fase de muestra. En la fase de prueba, una de las copias familiares (A) y un objeto novedoso (B) se colocaron en el mismo lugar que los estímulos de la fase de muestra. La rata se colocó en la arena durante 3 minutos y se midió el tiempo que pasó explorando cada objeto (TA y TB).

Las ratas permanecieron en el cuarto experimental 1 hr 30 min antes y después de cada una de las fases del experimento para permitir consolidación y evitar estrés. La anestesia ó salina se inyectó inmediatamente después de la fase de muestra.

Medición

La conducta de los animales se grabó con un reproductor con grabador de DVD. Los datos (tiempo de exploración) se obtuvieron de la grabación por un experimentador entrenado con un temporizador. La exploración de un objeto se define con la distancia entre el objeto y la nariz de la rata que debe de ser máximo 1cm o que la nariz toque el objeto en un ángulo de 90°. Si la rata le da la espalda o se sienta en el objeto no se considera exploración. El experimento se realizó durante la fase de luz del ciclo entre las 10:00 y las 12:00 hrs.

Análisis estadístico

Se realizó una prueba *t* de Student de un grupo contra una media hipotética de 50 para comparar la ejecución de las ratas en la fase de prueba. Un nivel de confiabilidad < 0.05 fue aceptado como estadísticamente significativo.

Resultados

Para comparar la ejecución entre grupos en la fase de prueba, se calculó un índice de reconocimiento (IR) que indica cuánto se exploró un objeto con respecto al tiempo total de exploración (IR de fase de muestra = $(TA / T \text{ total fase de muestra}) \times 100$; IR fase de prueba de A = $(TA / T \text{ total fase de prueba}) \times 100$ e IR fase de prueba de B = $(TB / T \text{ total fase de prueba}) \times 100$. Utilizando una prueba *t* de Student de un grupo contra una media de 50 se observan diferencias significativas en el IR del grupo de salina en A y en B (*fig. 10III*, barras blancas; $t_8 = 0.463$, $p = 0.0129$). El grupo de pentobarbital no tiene diferencias entre el IR de ambos objetos (*fig. 10III*, barras grises; $t_8 = 0.463$, $p = 0.2112$). No se observan diferencias en la fase de adquisición en ningún grupo (*fig. 10II*; salina, $t_8 = 0.428$, $p = 0.6575$; pento, $t_8 = 0.330$, $p = 0.7510$).

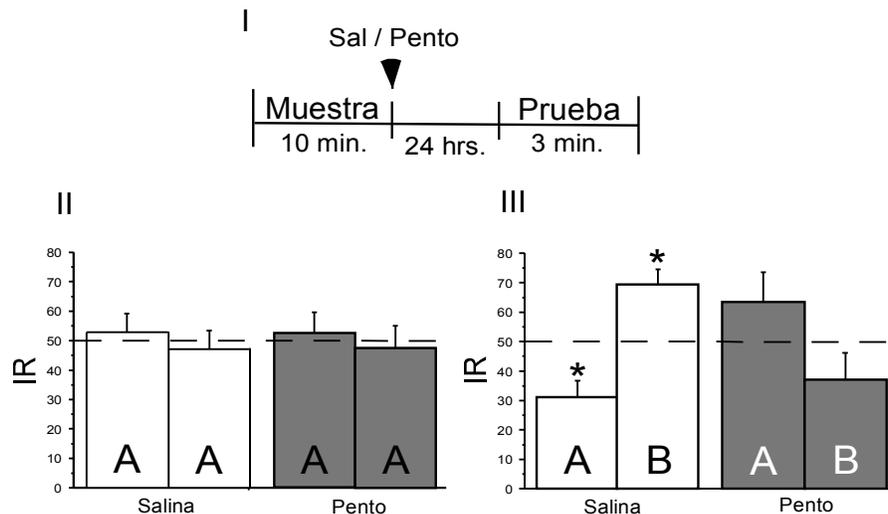


Figura 10. (I) Esquema del protocolo de la memoria de reconocimiento de objetos. (II) En el día 1 (fase de adquisición), se les presentaron a las ratas dos objetos idénticos (A-A durante 10 min. e inmediatamente después recibieron una inyección intraperitoneal de solución salina 0.9% (1ml/kg) o pentobarbital (50mg/ml; 1ml/Kg). (III) En el segundo día (fase de prueba) se les mostró a las ratas un objeto familiar (A) y un objeto novedoso (B) durante 3 min. Los datos se expresan como la media \pm la media del error estándar del índice de reconocimiento. * $p < 0.05$ *t* de Student de un grupo contra una media de 50, $n = 8$ por grupo.

En este experimento se encontró que inyectando pentobarbital inmediatamente después a la fase de muestra de un protocolo de reconocimiento de objetos se mantiene el porcentaje de exploración del objeto A similar a la fase de muestra (*fig. 10II y III*, barras grises). El hecho de que el grupo que recibió solución salina haya explorado el objeto B más que el objeto A en la fase de prueba (*fig. 10III* barras blancas) pero que el IR del grupo de pentobarbital no haya sido estadísticamente diferente de una media de 50 en ambas fases indica que hubo un efecto amnésico. Estos resultados son similares a los

encontrados con inyecciones intraperitoneales de escopolamina (Turchi *et al.*, 2008) en los que tareas de reconocimiento se afectaron pero en la memoria de hábitos no se obtuvieron diferencias significativas con los controles. Se ha demostrado la participación de la neurotransmisión colinérgica para la consolidación de la memoria de reconocimiento de objetos (Tang *et al.*, 1997; Winters *et al.*, 2007), pero con la inyección intraperitoneal de pentobarbital no podemos inferir la participación de un neurotransmisor en específico, ni qué estructuras se están afectando para que los sujetos hayan tenido amnesia retrógrada. Sin embargo, es probable que la dosis de pentobarbital administrada está interfiriendo en los procesos de consolidación de una o varias estructuras del sistema hipocampal por su relevancia en esta tarea (Mumby y Pinel, 1994; Winters y Bussey, 2005; Mumby *et al.*, 2007; Balderas *et al.*, 2008; Albasser *et al.*, 2009; Winters *et al.*, 2010). No sabemos si el pentobarbital está afectando una o varias estructuras, pero ya que se ha visto que la corteza perirrinal es suficiente y necesaria para la memoria de reconocimiento de objetos (Baxter y Murray, 2001; Hampton 2001; Murray y Richmond, 2001), es una candidata idónea para los subsecuentes estudios con anestesia y el reconocimiento. La corteza perirrinal se ha destacado en el procesamiento de la información que recibe de las conexiones que mantiene con áreas de cortezas unimodales de diferentes canales sensoriales (Burwell y Amaral, 1998; Burwell, 2001; Furtak *et al.*, 2007). Al inyectar pentobarbital es posible que estemos afectando los procesos de integración que lleva a cabo. Se ha mencionado que los fármacos que producen anestesia general alteran la actividad cerebral provocando una desorganización funcional que impide la integración de la información en el cerebro para decir que un sujeto está consciente (Alkire, *et al.*, 2008). La memoria declarativa se destaca por necesitar hacer la integración de varios elementos para ubicar los estímulos en un tiempo y en un espacio (Ergorul y Eichenbaum, 2004; Eacott *et al.*, 2005; Babb y Crystal, 2006; Eacott y Easton, 2009). En los resultados que obtuvimos en este experimento es probable que estemos presenciando las consecuencias de esta desorganización en todo el sistema nervioso central.

EXPERIMENTO 2: Memoria Gustativa

Se ha resaltado la importancia de la memoria gustativa para la sobrevivencia de los animales debido a que tienden a consumir en menor cantidad alimentos con sabores novedosos que con sabores familiares y evitan los alimentos asociados con malestar gástrico. Se utilizaron tres protocolos que exploran esta memoria de reconocimiento. Para la neofobia y el CAS, se inyectó el pentobarbital ó salina después del consumo de sacarina; para el protocolo de extinción del CAS se inyectó el

pentobarbital ó salina después del consumo de la primer extinción. Se realizó una prueba 24 h después de la inyección. En la tarea de neofobia y extinción del CAS, se espera que el pentobarbital provoque un efecto amnésico pero no en la tarea de CAS.

Procedimiento Conductual

LÍNEA BASE: Las ratas fueron privadas de agua 24 h antes del inicio del experimento. Se determinó una línea basal de consumo presentando 30 ml de agua en una probeta graduada durante quince minutos entre las 10 y 11 h por cinco días consecutivos registrando el volumen consumido. **DÍA 1** (primer presentación de sacarina): La solución de sacarina 0.5% para el grupo de neofobia o 0.3% para los grupos de CAS y extinción del CAS se presentó a todos los grupos un día después de terminar la línea base. Para los grupos de neofobia y CAS el pentobarbital o la salina se inyectaron inmediatamente después de terminar el consumo. Para el grupo de CAS y extinción del CAS se inyectó el LiCl (0.15 M; 10 ml/kg) 15 min después de terminar el consumo. **DIA 2** (segunda presentación de sacarina): Para los grupos de neofobia y CAS esta segunda presentación sirvió como prueba conductual pero para el grupo de extinción del CAS fue la fase experimental en la que se inyectó el pentobarbital o la salina inmediatamente después de terminar el consumo y se probó 24 h después con una tercer presentación de sacarina 0.3%. A todos los grupos se les permitió beber agua después de cada consumo de sacarina.

Experimento	DIA 1-5	DIA 6	DIA 7	DIA 8
Neofobia	Linea Base	Sacarina (inyección salina/pento)	Prueba	
CAS		Sacarina (inyección LiCl y salina/pento)	Prueba	
Ext. CAS		Sacarina (inyección LiCl)	Sacarina (inyección salina/pento)	Prueba

Tabla 1. Tareas de Memoria Gustativa. En esta tabla se resumen los procedimientos de las tareas de memoria gustativa. Todas las tareas tuvieron una fase de línea basal y una primer exposición al sabor novedoso (sacarina) en el día 6 del experimento. La inyección del anestésico se realizó inmediatamente después del consumo de sacarina en el día del aprendizaje (día 6 para los grupos de neofobia y CAS; día 7 para el grupo de ext. CAS). La prueba se realizó 24 hrs. después de la inyección del pentobarbital.

Medición

Los datos (volumen ingerido) se obtuvieron con la diferencia de 30 ml. menos el valor del volumen presente en la probeta al término del tiempo de consumo.

Análisis estadístico

Para analizar el desempeño de las ratas se calculó la media +/- la media del error estándar del consumo de cada grupo y se analizó con una prueba t de Student no pareada para comparar diferencias entre grupos

Resultados

En el experimento de neofobia se obtuvieron diferencias significativas entre los grupos de salina y pentobarbital el día de la prueba (*fig. 11A*; $t_{[8,8]} = 5.011$, $p = 0.0003$). Al comparar los grupos en la prueba del CAS no se observaron diferencias significativas (*fig. 11B*; $t_{[7,7]} = 0.289$, $p = 0.7778$). En el caso de la extinción del CAS el grupo de pentobarbital presenta diferencias significativas contra el grupo de salina (*fig. 11C*; $t_{[8,8]} = 2.662$, $p = 0.0186$).

Las tres tareas de memoria gustativa que utilizamos en este experimento dependen de estructuras cerebrales diferentes. Se ha visto que la neofobia depende de áreas de asociación como la corteza perirrinal (Gutiérrez *et al.*, 2004) y la corteza insular (Rosenblum *et al.*, 1993; Bermúdez-Rattoni, 2004; De la Cruz *et al.*, 2008;), el CAS de la amígdala (Yamamoto y Fujimoto, 1991; Yamamoto, 2007) y la extinción de las tareas aversivas de la corteza prefrontal medial (Akirav *et al.*, 2006; Quirk *et al.*, 2006). En la tarea de neofobia y CAS las curvas de aprendizaje son distintas. En ambos protocolos hay una disminución del consumo en la primer presentación del sabor novedoso. Al volverse a presentar el sabor, en la tarea de neofobia el consumo aumenta con respecto al día anterior porque se vuelve un estímulo familiar no aversivo, a diferencia del CAS que en la segunda presentación el sabor disminuye porque se asoció a un malestar gástrico inducido por LiCl. A las ratas a las que se les hizo un CAS aumentan su consumo en la tercer presentación porque no se indujo de nuevo el malestar en la segunda presentación. Aunque haya diferencias en las respuestas conductuales (consumo) en cada una de las tareas, se habla de una memoria de reconocimiento ya que las ratas consumen el sabor presentado en la neofobia dependiendo de la familiaridad y sus consecuencias gástricas.

Las ratas a las que se les inyectó solución salina se comportaron de acuerdo al protocolo general descrito (*fig. 11A, B y C*, barras blancas). Las ratas a las que se les inyectó pentobarbital tuvieron efectos diferenciales dependiendo de la tarea en las que se les entrenó (*fig. 11A, B y C*, barras negras).

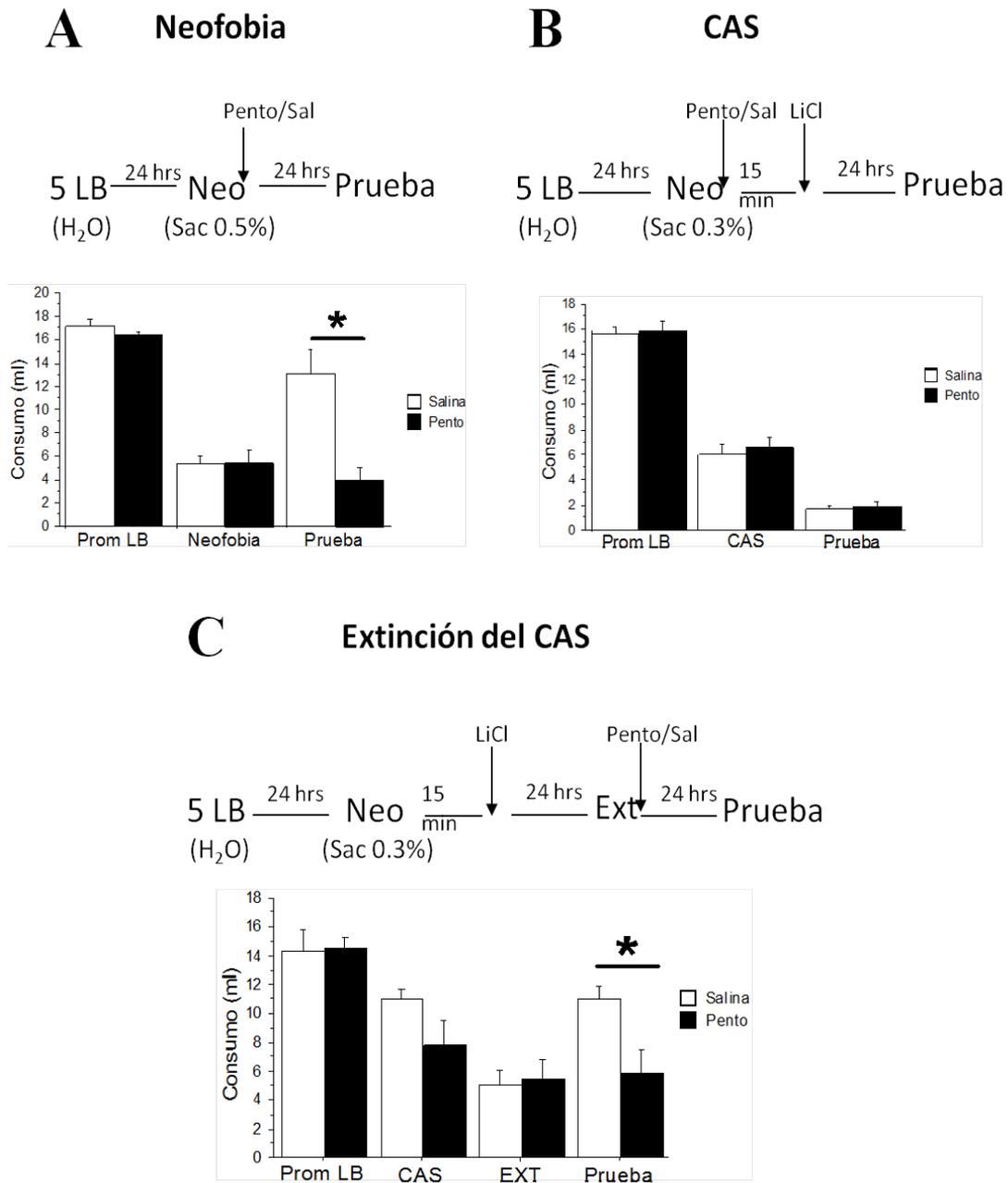


Figura 11. (A) Las ratas fueron inyectadas vía intraperitoneal con solución salina 0.9% (1ml/Kg) o pentobarbital 50mg/ml (1ml/Kg) inmediatamente después del consumo del sabor novedoso (Neo) y 24 hrs después se realizó la prueba conductual. Los datos se expresan como la media +/- la media del error estándar del consumo en ml de cada grupo por día. *p<0.05 contra el grupo de salina; t de Student no pareada, n = 8 por grupo.

(B) A grupos independientes de animales se les inyectó salina o pentobarbital inmediatamente después del consumo del sabor novedoso y 15 minutos después se inyectó LiCl (0.15 M; 10ml/Kg). La prueba se realizó 24 hrs. después. Los datos se expresan como en (A); *p<0.05 contra el grupo de salina; t de Student no pareada, n = 7 por grupo.

(C) A las ratas de extinción del CAS se les inyectó salina o pentobarbital inmediatamente después de la extinción (EXT). Los datos se expresan como en (A); *p<0.05 contra el grupo de salina; t de Student no pareada, n = 8 por grupo.

Se observa un efecto amnésico en la prueba de la neofobia y extinción del CAS (*fig. 11A y C*, barras blancas) pero no en el CAS (*fig. 11B*, barras negras).

En los procedimientos que utilizamos decidimos utilizar dos concentraciones de sacarina para la tarea de neofobia (sacarina 0.5%) y para el CAS y extinción del CAS (sacarina 0.3%) con el propósito de obtener resultados más concluyentes. En el laboratorio hemos observado que la neofobia con sacarina 0.3% no es tan pronunciada como con una concentración de 0.5%. Esto quiere decir que con una neofobia menor es probable que se observen menos diferencias entre los grupos el día de la prueba. Con la concentración de sacarina 0.5% se observa una neofobia robusta comparada con la línea basal en ambos grupos (*fig. 11A*, neofobia) y un aumento del consumo en las ratas que recibieron una inyección de solución salina, pero las que fueron anestesiadas con pentobarbital consumieron en promedio un volumen similar al día de la primera presentación (*fig. 11A*, prueba).

La concentración de sacarina 0.5% produce una mayor neofobia pero también produce un CAS más pronunciado. Para evitar que los resultados de resistencia a los efectos amnésicos del pentobarbital del CAS se debieran a la intensidad del CAS provocada por una concentración alta de sacarina, se utilizó una concentración de 0.3% en las tareas de CAS y extinción del CAS. Con esta concentración se obtuvo una neofobia menor que con sacarina 0.5% (*fig. 11A*, neofobia y *11B*, CAS) pero se observa una disminución significativa del consumo de la segunda presentación en los grupos de salina y pentobarbital en la prueba del CAS (*fig. 11B*, prueba). La extinción del CAS se afectó con el uso del pentobarbital al término del segundo consumo de sacarina (*fig. 11C*, barras negras), lo que indica que probablemente se esté consolidando un nuevo trazo de memoria separado del CAS.

En la neofobia y en la extinción del CAS se obtuvo un efecto amnésico, por lo que deben de participar estructuras que procesen el estímulo gustativo novedoso para su reconocimiento en posteriores encuentros. Se ha observado que el hipocampo, la corteza insular y perirrinal participan en la consolidación de estas dos tareas (Gutiérrez *et al.*, 2004; De la Cruz *et al.*, 2008; Garcia-Delatorre *et al.*, 2010). Estas estructuras pueden estar formando el trazo de extinción que incluya, como en la tarea de reconocimiento de objetos, elementos de juicio de ocurrencia previa.

Una característica importante del procedimiento del CAS que utilizamos es que inyectamos el pentobarbital antes de inyectar el LiCl, por lo que las ratas estaban anestesiadas durante los efectos del irritante gástrico. Esto sugiere que la asociación entre los estímulos condicionado e incondicionado se realizó bajo los efectos hipnóticos del pentobarbital. Se han realizado muchos experimentos en humanos que han demostrado el aprendizaje de tareas no declarativas bajo los efectos de bajas concentraciones

de anestésicos inhalados o intravenosos y efectos amnésicos sobre las memorias declarativas (Polster *et al.*, 1993; Martin *et al.*, 2002; Veselis *et al.*, 2009). En ratas también se han diseñado experimentos similares pero no exploran el aprendizaje de memorias no declarativas sino que se enfocan en la pérdida de memoria declarativa con el uso de anestésicos (Alkire *et al.*, 2001; Alkire *et al.*, 2005). Hasta dónde sabemos, los únicos trabajos en ratas que relacionan el uso de dosis hipnóticas de pentobarbital y la presencia de memoria no declarativa son los que realizaron Buresova y Bures (1979). En este trabajo tanto el estímulo condicionado como el incondicionado se presentaron bajo los efectos de una dosis hipnótica de pentobarbital. Posteriormente, se observó que la amígdala responde ante el estímulo incondicionado mientras la rata está anestesiada (Reddy y Bures, 1981). A diferencia de los trabajos en humanos y en ratas, utilizamos dosis hipnóticas de pentobarbital administradas después de la presentación del estímulo condicionado. El hecho de que el pentobarbital no haya afectado la consolidación del CAS sugiere que la amígdala de todas maneras recibe tanto la señal visceral como la gustativa, probablemente como mecanismo de sobrevivencia ante alimentos potencialmente dañinos.

Experimento 3: Laberinto Acuático de Morris

De acuerdo a lo propuesto por Packard y Teather (1997), se pueden utilizar dos versiones del laberinto acuático de Morris para evaluar aprendizaje dependiente de hipocampo (WM) o aprendizaje dependiente del caudado dorsal (CM). Para el aprendizaje espacial la plataforma se mantuvo sumergida y en el mismo lugar en todos los ensayos realizados, a diferencia del aprendizaje dependiente de clave en el que a la plataforma se le añadió una bandera amarilla para hacerla visible y en cada ensayo se cambió de posición. La inyección de pentobarbital o salina se realizó inmediatamente después del entrenamiento y la prueba se realizó 24 hrs. después. Se espera que el pentobarbital afecte el WM pero no el CM

Aparatos

El laberinto acuático es un tanque circular negro (diámetro, 1.83 m; altura, 0.58 m) lleno de agua (20° C) a una profundidad de 40 cm. El nivel del agua se mantuvo a 1 cm por arriba de una plataforma cuadrada negra de 12 cm. por lado. El cuarto experimental tiene diferentes imágenes y objetos alrededor del laberinto que sirvieron como claves espaciales. La temperatura del cuarto se mantuvo en 22° C. Para el aprendizaje con plataforma visible, se amarró una bandera amarilla a la plataforma.

Procedimiento Conductual

Tanto el aprendizaje espacial como el aprendizaje con plataforma visible consistieron en un día de entrenamiento de 8 ensayos consecutivos (terminando el último ensayo se inyectó el pentobarbital o la salina) y 24 h después se realizó la prueba de memoria. Para el aprendizaje espacial la plataforma permaneció en el mismo lugar teniendo cuatro puntos de inicio (norte, sur, este y oeste) por lo que se repitió una vez cada uno. En el aprendizaje con plataforma visible, el laberinto acuático se dividió por cuadrantes, en cada ensayo la plataforma se cambió de cuadrante y se mantuvieron los puntos de inicio del aprendizaje espacial. El día de la prueba se realizó un ensayo para cada versión del laberinto acuático. Cada ensayo duró 60 s, una vez que la rata llegó a la plataforma permaneció ahí durante 30 s, después se retiró del laberinto colocándola en una caja individual durante 30 s antes de comenzar el siguiente ensayo. Si la rata no llegaba a la plataforma en 60 s se guió a la plataforma.

Medición

Para cada uno de los ensayos se midió la latencia, que se define como el tiempo que tarda la rata en llegar a la plataforma desde el punto de inicio. Para obtener las latencias, todo el experimento se grabó y se midió con el programa Ethovisión XT versión 5.

Análisis estadístico

Para analizar el desempeño de las ratas se calculó la media +/- la media del error estándar de las latencias de cada grupo y se analizaron con una prueba t de Student no pareada para comparar diferencias entre grupos.

Resultados

En la prueba de la versión espacial se observan diferencias significativas entre los grupos (*fig. 12B izquierda*; salina $n = 9$, pentobarbital $n = 9$; $t = 4.722, p = 0.0002$) pero no se observan diferencias en la versión no espacial de la tarea (*fig. 12B derecha*; salina $n = 8$, pentobarbital $n = 7$; $t = 0.095, p = 0.926$).

Nuestros resultados muestran una disociación similar a los observados en los trabajos con lesión o inactivación del hipocampo y caudado dorsal (Packard y McGaugh, 1996; Teather *et al.*, 2005; Miranda *et al.*, 2006) ya que el pentobarbital sólo tiene efectos amnésicos en la memoria de WM pero no en CM (*fig. 12C*). La demanda cognitiva de estas tareas es diferente, por ejemplo, la adquisición del WM requiere que las ratas aprendan la ubicación espacial de la plataforma no visible dependiendo de

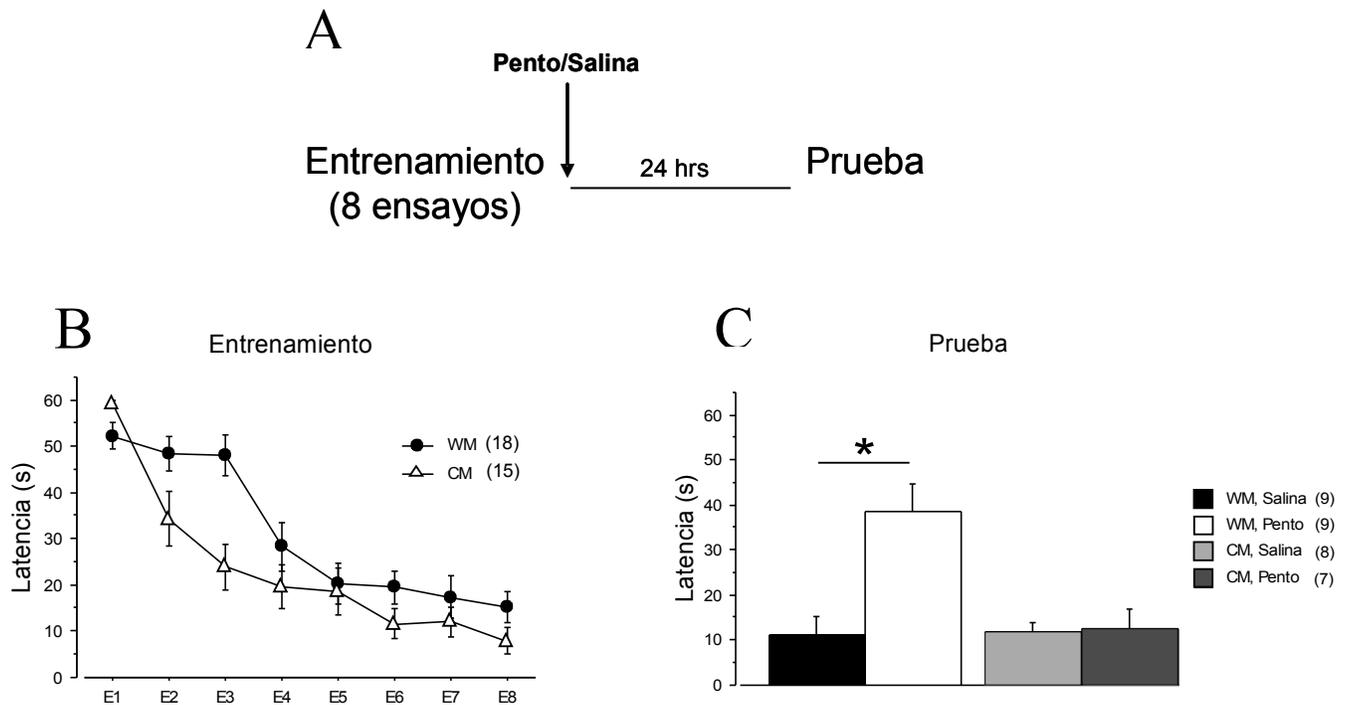


Figura 12. (A) Esquema del protocolo general de ambos entrenamientos. (B) Curva de aprendizaje del entrenamiento para el aprendizaje espacial (WM n = 18) y la versión con plataforma visible (CM n = 15). Inmediatamente después del octavo ensayo, las ratas fueron inyectadas vía intraperitoneal con solución salina 0.9% (1ml/Kg) o pentobarbital (pento) 50mg/ml (1ml/Kg). (C) 24 hrs. después se realizó una prueba. Los datos se expresan como la media +/- la media del error estándar de la latencia (s). * $p < 0.05$ contra el grupo de salina; t de Student no pareada, WM salina n = 9; WM pento n = 9, CM salina n = 8, CM pento n = 7.

las relaciones topográficas entre las claves presentes fuera del laberinto. A diferencia del WM, en el CM la plataforma es visible y se cambia de localización en cada ensayo, por lo que la tarea puede involucrar el aprendizaje de una conducta de aproximación a un estímulo visual específico (por ejemplo, la bandera amarilla que señala la plataforma). Los trabajos de disociación entre las tareas espaciales y los aprendizajes por clave o de estímulo-respuesta indican que la memoria de estas tareas es consolidada en diferentes estructuras. El hipocampo tiene más peso en las memorias espaciales y el caudado dorsal en tareas de hábitos o de procedimientos. La diferencia entre las estructuras para la memoria del CM y WM puede estar indicando los blancos del pentobarbital para provocar amnesia en estas tareas.

Es posible que la participación de estructuras diferentes también indique diferencias en los procesos de aprendizaje. Se ha hipotetizado que la memoria declarativa, incluida la memoria espacial, tiene la facultad de necesitar menos presentaciones de los estímulos que las memorias no declarativas para ser recordados (Zentall, 2006; Eacott y Easton, 2009; Morris, 2001). En nuestros resultados obtuvimos un efecto opuesto. En la fase de entrenamiento observamos una disminución significativa de

la latencia entre el primer y segundo ensayo en la tarea del CM (*fig. 12B*, triángulos) pero no en el WM (*fig. 12B*, círculos). En el aprendizaje espacial no se ve una reducción significativa de la latencia hasta el cuarto ensayo. Esto se puede deber a que en el primero ensayo las ratas entrenadas en CM ya están aprendiendo la estrategia de búsqueda de la plataforma, mientras que en el aprendizaje espacial las ratas aún están buscando una estrategia y formando el mapa topográfico de las claves espaciales¹¹. Esta rapidez en el aprendizaje puede influir en el momento en el que los cambios plásticos se estén dando para formar la memoria, por lo que es posible que el pentobarbital no afecte el CM después de ocho ensayos. El uso de un protocolo que requiera de varios ensayos puede hacer más resistente a la memoria ante drogas amnésicas. Los resultados de WM en el día de la prueba no alcanzan latencias similares al día del entrenamiento como en nuestros protocolos anteriores. Este resultado indica que existen elementos de la tarea espacial presentes aún después de administrar el pentobarbital.

DISCUSIÓN

La curva dosis respuesta realizada indica que una dosis de 50mg/ml de pentobarbital sódico es suficiente para inducir un estado hipnótico en ratas. Esta dosis concuerda con la que se utilizó en los trabajos de Buresová y Bures (1979) en los que obtuvieron un efecto amnésico al realizar el CAS con ratas anestesiadas. Se ha observado que el pentobarbital, en dosis bajas entre 10% y 30% de la necesaria para producir anestesia general, aumenta la excitabilidad de las neuronas del hipocampo (Archer y Roth, 2007) y no altera la plasticidad sináptica (Archer *et al.*, 2007). Esto quiere decir que el pentobarbital tiene efectos bifásicos de inhibición-excitación. Se utilizó la dosis hipnótica para evitar los efectos excitatorios de dosis bajas, sin embargo, en este trabajo nos enfrentamos a una considerable cantidad de muerte por paro respiratorio ocasionado por el pentobarbital, especialmente en las tareas de laberinto acuático probablemente debido a hipotermia.

El efecto hipnótico o de pérdida de consciencia es parte de una gama de efectos que produce la anestesia. Se ha descrito que los anestésicos tienen diferentes sitios de acción para cada uno de sus efectos (Jia *et al.*, 2005; Alkire *et al.*, 2008; Zecharia y Franks, 2009) y estos, a su vez, son independientes entre sí (Bonin y Orser, 2008). Esto se ha observado mediante la administración de diferentes dosis. De hecho, se necesita menos dosis para obtener los efectos amnésicos que para provocar inconsciencia (John y Prichep, 2005). Además, se ha demostrado que los efectos de inmovilidad, sedación e hipnosis son independientes de la amnesia (Bonin y Orser, 2008), lo que

¹¹ De acuerdo a los trabajos de O'Keefe (O'Keefe y Dostrovsky, 1971; O'Keefe, 1976) la actividad de las células de lugar para desarrollar el mapa topográfico ocurre dentro de los primeros 10 – 30 min. de exposición al entorno.

sugiere que no es necesaria la dosis hipnótica para obtener efectos amnésicos. Así que, si se logran obtener resultados amnésicos con dosis menores a la hipnótica es probable que el riesgo de muerte de los sujetos se reduzca.

Existen reportes de pacientes que dicen recordar los eventos sucedidos durante una cirugía que se les practicó (Zecharia y Franks, 2009). Estos reportes alertan a los médicos ya que uno de los objetivos de la anestesia general es que los pacientes no experimenten conscientemente o que no recuerden los procedimientos quirúrgicos a los que son sometidos. Se han realizado experimentos con diferentes dosis de anestesia para observar su efecto sobre la memoria. Es debido a esto que hay una amplia variedad de trabajos que relacionan la anestesia con la memoria (Polster *et al.*, 1993; Martin *et al.*, 2009; Veselis *et al.*, 2009) pero, ya que el objetivo en muchos casos es explicar o mejorar la anestesiología, no corresponden a investigaciones cuyo objeto de estudio sea la memoria en sí y esto se puede observar comparando la metodología de otros experimentos con los de esta tesis en el momento de la administración del fármaco. Mientras que estudios anteriores administran el anestésico previo al entrenamiento, en este proyecto se inyectó post-entrenamiento. Esto quiere decir que los experimentos sobre anestesiología están estudiando los efectos sobre la entrada de información y lo que se está estudiando en esta tesis son los efectos sobre la consolidación de la memoria que, de acuerdo a los reportes de los pacientes amnésicos como H.M., es el principal problema de la amnesia que presentan (Milner y Penfield, 1955; Moscovitch *et al.*, 2005; Squire 2009; Squire y Zola, 1996).

La descripción de las lesiones en los pacientes amnésicos aportaron sustento anatómico a las propuestas de diferentes tipos o divisiones de memoria que se habían descrito desde siglos atrás. En las ideas de Maine de Biran y William James se describe un tipo de memoria que presupone un esfuerzo mental y voluntario que las hace conscientes y otra división de memoria un tanto automática en la que sólo los estímulos del ambiente son necesarios para provocar las respuestas conductuales sin que la información tenga que pasar por procesos más complejos como la consciencia o la voluntad. Dos memorias - dos sistemas es a lo que apostaron los investigadores que observaron los déficits de memoria consciente después de lesiones en el lóbulo temporal medial, pero que aún podían realizar tareas con la memoria inconsciente (Squire y Zola, 1996).

La taxonomía de la memoria que Squire y Zola (1996) propusieron nombrar a las memorias conscientes como declarativas y a las inconscientes como no declarativas. Las primeras corresponden a aquellos recuerdos que los humanos somos capaces de expresar de manera verbal y las últimas hace referencia sólo a aquellas que se demuestran por medio de conducta no verbal como las habilidades

motoras o las respuestas autónomas (Knowlton *et al.*, 1996; Tulving, 2001; Moscovitch *et al.*, 2005;). En este trabajo exploramos dos grandes ramas de la memoria declarativa: el reconocimiento basado en juicios de ocurrencia previa, y la memoria espacial. Ambas han resultado ser muy sensibles a los daños en el sistema hipocampal. Estas tareas abarcan dos de las tres preguntas que responde la memoria declarativa (Ergorul y Eichenbaum, 2004; Babb y Crystal, 2006; Eacott y Easton, 2009; Eacott *et al.*, 2005): ¿qué? (memoria de reconocimiento) y ¿dónde? (memoria espacial). Por otro lado, sólo realizamos pruebas con un limitado grupo de memorias no declarativas: el aprendizaje por clave del laberinto acuático de Morris (CM) y el condicionamiento aversivo al sabor (CAS), pertenecientes a la memoria de procedimientos y al condicionamiento aversivo respectivamente. Por lo que en los experimentos futuros se tiene que considerar ampliar el espectro de tareas para corroborar la eficacia del método de disociación que propone esta tesis.

Dejando a un lado estos pendientes por realizar, los resultados que presentamos en este trabajo son similares a los obtenidos en los pacientes amnésicos, en los modelos animales y a los trabajos de doble disociación de memorias. Englobando los resultados, se obtuvo un efecto amnésico en las tareas que corresponden a la memoria declarativa pero aquellas correspondientes a la no declarativa no se obtuvo una disminución en la ejecución de los sujetos el día de la prueba. Esta diferencia se puede deber a la sensibilidad del hipocampo a los fármacos hipnóticos. El efecto sobre el laberinto acuático de Morris puede ser explicado bajo estas circunstancias ya que el hipocampo es indispensable para la memoria de tareas de navegación espacial. Si el hipocampo es el integrador de la información de las circunstancias de la tarea y la conducta del animal, el pentobarbital puede estar interrumpiendo la consolidación de la integración de la información provocando el efecto amnésico observado. Sin embargo, si el sitio de acción del pentobarbital sólo fuera el hipocampo, la tarea de reconocimiento de objetos no podría ser afectada ya que se ha demostrado que la lesión o inactivación del hipocampo no afecta la ejecución de los sujetos y que la corteza perirrinal es suficiente y necesaria para su consolidación (Baxter y Murray, 2001; Hampton 2001; Murray y Richmond, 2001). Es probable que la amnesia observada en el reconocimiento de objetos se deba a un olvido general del episodio de la fase de muestra. La imposibilidad de recordar los eventos de aprendizaje son comunes en los pacientes con daños en el sistema hipocampal (Squire y Zola, 1996; Squire, 2009) pero si se quiere hacer una analogía entre la amnesia observada en la memoria de reconocimiento de objetos en ratas y los pacientes amnésicos entonces el pentobarbital tendría que tener múltiples estructuras blanco.

El pentobarbital sódico suprime la actividad cerebral de manera general aumentando el tiempo de apertura de los canales de Cl⁻, inhibiendo los receptores AMPA y reduciendo el metabolismo de oxígeno, lo que llevó a utilizarlos como ansiolíticos, antiepilépticos ó anestésicos generales (Faulkner *et al.*, 1979; Harrison *et al.*, 2000). Hasta donde sabemos, no se ha descrito un blanco específico para que el pentobarbital produzca sus efectos amnésicos a diferencia de otros anestésicos como el etomidato y su estrecha relación con la subunidad $\alpha 5$ de los receptores GABA_A en el hipocampo¹² (Sur *et al.*, 1999; Collinson *et al.*, 2002; Cheng *et al.*, 2006; Martin *et al.*, 2009;), por lo que no podemos reducir sus mecanismos de acción a una sola estructura y tenemos que hablar de una manera más generalizada al describir las consecuencias de la inyección realizada. Los efectos del pentobarbital sobre las tareas de memoria declarativa sugiere que se están bloqueando los mecanismos de plasticidad post-adquisición en las estructuras del sistema hipocampal.

La plasticidad sináptica se refiere al momento en el que una memoria a corto plazo pasa a un almacenamiento más duradero de días, meses o años por medio de síntesis de nuevas proteínas (McGaugh, 2000). Esto quiere decir que se modifican las sinápsis entre dos neuronas con el propósito de mejorar la comunicación entre ellas. Se ha observado el aumento de la síntesis del ácido ribonucleico mensajero (ARNm) de algunos genes de expresión inmediata en el periodo de consolidación de las tareas. Esto implica que en algún momento de una experiencia se hechó a andar la maquinaria celular por medio de la activación de un receptor en la membrana neuronal desencadenando cascadas de señalización molecular que terminaron en la interacción con el ácido desoxi-ribonucleico (ADN) para prender los genes que forman la memoria. Los anestésicos pueden interferir en algún punto de esta cadena de eventos celulares, desde el bloqueo de los receptores dependientes de ligando hasta la interrupción de la expresión de los genes de expresión inmediata.

Se han realizado experimentos en los que el efecto amnésico de los anestésicos se nulifica con lesiones en la amígdala en una tarea aversiva dependiente de contexto (Alkire *et al.*, 2001, 2005). En otro experimento similar se mostró que la inyección intraperitoneal de propofol previa al entrenamiento redujo la expresión del ARNm de la proteína asociada a la actividad regulada por el citoesqueleto (Arc)

12 La subunidad $\alpha 5$ ha recibido especial atención ya que se expresa en gran cantidad en el hipocampo a diferencia del resto del cerebro (Sur *et al.*, 1999). Estudios con manipulaciones farmacológicas y genéticas han demostrado que los receptores GABA_A que expresan la subunidad $\alpha 5$ contribuyen a la formación de las memorias dependientes de hipocampo. La inyección de una dosis amnésica de etomidato (un anestésico intravenoso agonista GABA) afecta la memoria de diferentes tareas dependientes de hipocampo. Este efecto se bloquea si se inyecta el etomidato junto con L-655-708, un agonista inverso con alta afinidad a la subunidad $\alpha 5$ (Martin *et al.*, 2009). Además, ratones KO de esta subunidad presentan mejor desempeño en tareas dependientes de hipocampo (laberinto acuático de Morris) sin afectar tareas aversivas dependientes de amígdala (Collinson *et al.*, 2002; Cheng *et al.*, 2006).

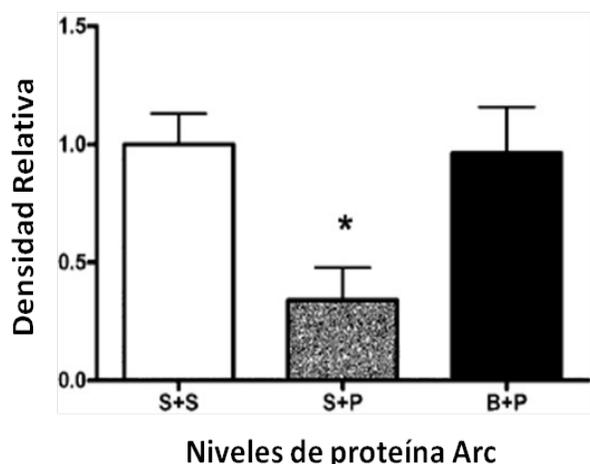


Figura 13. El propofol reduce los niveles de la proteína Arc en el hipocampo (S+P) en la tarea de prevención pasiva. Este efecto se revierte si se inyecta bicuculina en la amígdala basolateral (B+P).

en el hipocampo (*fig. 13*, barra gris; Ren *et al.*, 2008). Se ha observado que esta proteína participa directamente en la modificación de la función de las sinápsis (Miyashita *et al.*, 2008) y también se ha visto un incremento en los niveles de la proteína Arc en tareas como la prevención pasiva y el laberinto acuático de Morris, ambas dependientes de hipocampo (Guzowski *et al.*, 2000; McIntyre *et al.*, 2005). En el mismo trabajo de Ren *et al.* (2008), se evitó el decremento de la expresión de Arc en el hipocampo inyectando bicuculina (antagonista GABA) en la amígdala (*fig. 13*, barra negra).

Estos resultados indican que:

1. La amígdala modula la consolidación de la memoria por lo menos en las tareas con estímulos aversivos asociados a un contexto.
2. Los anestésicos actúan sobre la modulación de la amígdala provocando la amnesia en este tipo de tareas.
3. Las corrientes inhibitorias promovidas por los anestésicos en la amígdala disminuyen la síntesis de nuevas proteínas necesarias para la consolidación de la memoria en el hipocampo.

Es probable que en los protocolos de Alkire y Ren, se esté llevando a cabo un proceso de cooperatividad entre el hipocampo y la amígdala debido a la necesidad de procesar un estímulo nocivo asociado a un contexto, por lo que la lesión de la amígdala o el bloqueo de los receptores GABA en esta estructura podrían no ocasionar efecto sobre la memoria en otros protocolos. Sin embargo, estos experimentos pueden servir como base para realizar experimentos futuros en los que se quiere observar el sitio de acción de los anestésicos para ejercer su efecto amnésico. Por ejemplo, en la memoria de reconocimiento se podría inyectar un antagonista gabaérgico en la corteza perirrinal para ver si en verdad es la única estructura involucrada en la amnesia observada con la inyección de pentobarbital. De ser así, entonces se pueden realizar técnicas de detección de síntesis de proteínas para ver si es la única estructura del sistema hipocampal en la que incrementan los niveles de proteínas asociadas a la consolidación de la memoria como Arc o el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF por sus siglas en inglés).

Tanto la corteza insular como la perirrinal se han visto involucradas en diferentes memorias de reconocimiento (Balderas *et al.*, 2008; De la Cruz *et al.*, 2008) aportando información acerca de la novedad o familiaridad de un estímulo, lo que indica que estas estructuras aparentemente no tienen una participación específica dependiente de tarea, si no que el aporte a la familiaridad-novedad es más generalizada dentro del espectro sensorial. Al igual que el reconocimiento de objetos, la tarea de neofobia también explora el reconocimiento mediante el uso de estímulos gustativos. Las curvas de atenuación de la neofobia que describen un mayor consumo gradual del volumen del sabor novedoso indican que el elemento de novedad se va perdiendo y cuando llegan a una asíntota conductual se dice que el sabor se volvió familiar, por lo que el consumo posterior a la neofobia se vuelve un índice de juicio de ocurrencia previa. Esta característica de la neofobia no es la única que comparte con la memoria declarativa sino que también la existen experimentos que muestran correspondencias anatómica con estructuras del sistema hipocampal (De la Cruz *et al.*, 2008, Gutiérrez *et al.*, 2004)

La inyección de anisomicina en el hipocampo tiene efecto en la consolidación de la memoria gustativa (De la Cruz *et al.*, 2008), no obstante no se ha demostrado cómo es que el hipocampo participa en esta tarea, ya sea procesando un componente contextual o haciendo una integración de la información procesada por regiones parahipocampales, la correspondencia anatómica sugiere que es una memoria declarativa y en este trabajo el pentobarbital administrado después de la adquisición provoca amnesia retrógrada.

En la extinción del CAS el sistema hipocampal no tiene un rol protagónico, sin embargo, los resultados del experimento muestran que la consolidación se afecta inyectando pentobarbital. Los efectos del anestésico se pueden deber a una acción sobre la corteza prefrontal medial ya que esta estructura se ha relacionado con la extinción de memorias aversivas (Akirav *et al.*, 2006; Quirk *et al.*, 2006). Suponiendo que la extinción de una conducta asociativa es un aprendizaje nuevo independiente de la asociación original, las estructuras para la consolidación de la extinción son independientes del condicionamiento. Así como conductualmente se asume que la extinción tiene un efecto inhibitorio sobre el condicionamiento (Quirk *et al.*, 2006), se han buscado los mecanismos bajo los cuales las estructuras relacionadas con la extinción inhiben aquellas que participan en la consolidación del aprendizaje asociativo. De esta manera, se ha sugerido que la corteza prefrontal medial tiene un efecto inhibitorio sobre la amígdala (McDonald *et al.*, 1996). Sumado a esto, el hipocampo tiene proyecciones excitatorias hacia la corteza prefrontal medial que contribuyen a mecanismos celulares, como LTP, durante la consolidación de la extinción (Jay y Witters, 199; Quirk *et al.*, 2006). Los efectos

gabaérgicos del pentobarbital pueden estar potenciando la inhibición de estas dos vías contribuyendo a los efectos amnésicos en esta tarea.

El pentobarbital, tanto en los experimentos de Buresova y Bures (1979) como en los realizados en esta tesis, no provoca daños en la consolidación del CAS y una de las propuestas es debido a la importancia que tienen las memorias aversivas para la sobrevivencia. Se ha observado que las memorias aversivas se consolidan en un menor tiempo que otras memorias (Redburn y Leah, 1997), por lo que es probable que manipulaciones farmacológicas no tengan efecto sobre la consolidación al administrarse después de la adquisición. El protocolo que seguimos muestra que aún cuando se inyecta el LiCl (estímulo incondicionado) bajo los efectos de la anestesia es posible consolidar la memoria. Es probable que aún cuando la rata se encuentre anestesiada la señal visceral provocada por la irritación gástrica alcance la amígdala para lograr la asociación entre estímulo condicionado e incondicionado. Los experimentos de Reddy y Bures (1981) apoyan esta teoría al registrar actividad en la amígdala de ratas anestesiadas antes de la inyección del LiCl.

Aunque es posible que las memorias aversivas sean resistentes a la anestesia por su relevancia para la sobrevivencia, no puede ser el caso de todas las memorias no declarativas como el CM. En el procedimiento que normalmente se lleva a cabo en los protocolos de laberinto acuático la temperatura del agua es una variable importante a considerar. Las bajas temperaturas (entre 20 °C y 25 °C) promueven estados motivacionales en las ratas para buscar la plataforma. Es probable que la amígdala participe como modulador de estas tareas pero no se ha visto que participe en la consolidación como el hipocampo en el WM o el caudado dorsal en el CM.

En los resultados que obtuvimos en las tareas de laberinto acuático de Morris se asemejan a lo observado en las tareas de disociación entre WM y CM (Packard y McGaugh, 1996; Teather *et al.*, 2005; Miranda *et al.*, 2006). En estos trabajos la lesión o inactivación del hipocampo afectan el WM pero no el CM. Con la inyección intraperitoneal de pentobarbital post-adquisición, se obtiene la misma disociación: se afecta el WM pero no el CM. Si la hipótesis de la relevancia para la supervivencia del aprendizaje de las tareas para su resistencia a los fármacos amnésicos fuera cierta para el laberinto acuático de Morris, entonces el WM no sería afectado. Por lo que es más probable que haya una diferencia entre las demandas de las tareas, el funcionamiento de las estructuras para consolidar la memoria o en los mecanismos de acción del pentobarbital, que hagan a las memorias no declarativas resistentes al efecto amnésico del pentobarbital.

Ya que se ha descrito que las memorias declarativas necesitan de un sistema cerebral para su consolidación; la integración de las funciones de los componentes del sistema es indispensable. Los choques electroconvulsivos y el uso de agentes amnésicos provocan irregularidades en el sistema que evitan la integración de información dañando la memoria (Kurtz y Palfai, 1977). Es probable que el efecto obtenido con el pentobarbital sea similar a lo observado con choques electroconvulsivos. Las corrientes inhibitorias provocadas por la potenciación en la neurotransmisión gabaérgica del pentobarbital interfiere en la comunicación entre estructuras del sistema declarativo, impidiendo la coherencia funcional necesaria para una correcta integración de la información (Markowitsch, 1995; Vertes *et al.*, 2001; Lisman, 2005). Por otro lado, no hay un sistema de memoria no declarativa, sino que este término agrupa tareas cuya característica general es que se expresan únicamente a través de su ejecución como condicionamientos y tareas procedurales (Squire y Zola, 1996). La información relevante de cada una de las tareas va a ser procesada por estructuras diferentes más específicas y subcorticales por lo que es posible que la información se consolide con mayor rapidez.

CONCLUSIONES

El pentobarbital interfiere con la formación de memorias declarativas pero no con las no declarativas. Estos resultados son consistentes con los reportados en estudios con humanos y otros animales que presentan síndromes amnésicos después de alguna lesión en las estructuras del sistema hipocampal. Existe evidencia de que ambas memorias cooperan para eficientizar la conducta de los animales, pero también existe evidencia de especialización de tareas entre las estructuras que marcan los límites entre ambos tipos de memoria. De acuerdo a nuestros resultados, la inyección post-entrenamiento de una dosis de pentobarbital sódico es capaz de marcar un nuevo límite para diferenciar entre memoria declarativa y no declarativa. La descripción de los límites entre memorias no sólo contribuyen con información con la teoría taxonómica de la memoria sino que puede tener una importancia clínica ya que con estas investigaciones se pueden predecir qué tipos de memoria se dañan con ciertas sustancias de abuso.

Esta tesis se plantea la disociación con una metodología que se centra en la consolidación de la memoria, lo que la hace relevante en comparación con las investigaciones de anestesiología. No obstante, no ahonda en los mecanismos o las diferencias fisiológicas o estructurales por los cuales existe esta disociación, por lo que se necesita más investigación al respecto.

REFERENCIAS

- Akirav, I., Khatsrinov, V., Vouimba, R., Merhav, M., Ferreira, G., Rosenblum, K., y Maroun, M. (2006). Extinction of conditioned taste aversion depends on functional protein synthesis but not on NMDA receptor activation in the ventromedial prefrontal cortex. *Learning and Memory*, 13(3), 254-258.
- Albasser, M. M., Davies, M., Futter, J. E., y Aggleton, J. P. (2009). Magnitude of the object recognition deficit associated with perirhinal cortex damage in rats: Effects of varying the lesion extent and the duration of the sample period. *Behavioral Neuroscience*, 123(1), 115-124.
- Alexander, G. E., y Crutcher, M. D. (1990). Functional architecture of basal ganglia circuits: neural substrates of parallel processing. *Trends in Neurosciences*, 13(7), 266-271.
- Alkire, M. T., Vazdarjanova, A., Dickinson-Anson, H., White, N. S., y Cahill, L. (2001). Lesions of the basolateral amygdala complex block propofol-induced amnesia for inhibitory avoidance learning in rats. *Anesthesiology*, 95(3), 708-715.
- Alkire, M. T., Hudetz, A. G., y Tononi, G. (2008). Consciousness and anesthesia. *Science*, 322(5903), 876-880.
- Alkire, M. T., Nathan, S. V., y McReynolds, J. R. (2005). Memory enhancing effect of low-dose sevoflurane does not occur in basolateral amygdala-lesioned rats. *Anesthesiology*, 103(6), 1167-1173.
- Anagnostaras, S. G., Gale, G. D., y Fanselow, M. S. (2001). Hippocampus and contextual fear conditioning: recent controversies and advances. *Hippocampus*, 11(1), 8-17.
- Anderson, M. I., y Jeffery, K. J. (2003). Heterogeneous modulation of place cell firing by changes in context. *The Journal of Neuroscience*, 23(26), 8827-8835.
- Archer, D. P., Nguyen, K. Q., Samanani, N., y Roth, S. H. (2007). Pentobarbital enhances gamma-aminobutyric acid-mediated excitation without altering synaptic plasticity in rat hippocampus. *Anesthesia and Analgesia*, 104(4), 840-846.
- Archer, D. P., y Roth, S. H. (2007). Low concentrations of pentobarbital enhance excitability of rat hippocampal neurons. *Anesthesia and Analgesia*, 105(4), 993-997.
- Babb, S. J., y Crystal, J. D. (2006). Episodic-like memory in the rat. *Current Biology*, 16(13), 1317-1321.

- Balderas, I., Rodriguez-Ortiz, C. J., Salgado-Tonda, P., Chavez-Hurtado, J., McGaugh, J. L., y Bermudez-Rattoni, F. (2008). The consolidation of object and context recognition memory involve different regions of the temporal lobe. *Learning and Memory*, 15(9), 618-624.
- Balleine, B. W., Liljeholm, M., y Ostlund, S. B. (2009). The integrative function of the basal ganglia in instrumental conditioning. *Behavioural Brain Research*, 199(1), 43-52.
- Baxter, M. G., y Murray, E. A. (2001). Opposite relationship of hippocampal and rhinal cortex damage to delayed nonmatching-to-sample deficits in monkeys. *Hippocampus*, 11(1), 61-71.
- Bermúdez-Rattoni, F. (2004). Molecular mechanisms of taste-recognition memory. *Nature Reviews. Neuroscience*, 5(3), 209-217.
- Bieda, M. C., y MacIver, M. B. (2004). Major role for tonic GABAA conductances in anesthetic suppression of intrinsic neuronal excitability. *Journal of Neurophysiology*, 92(3), 1658-1667.
- Bonin, R. P., y Orser, B. A. (2008). GABAA receptor subtypes underlying general anesthesia. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 90(1), 105-112.
- Bucci, D. J., Phillips, R. G., y Burwell, R. D. (2000). Contributions of postrhinal and perirhinal cortex to contextual information processing. *Behavioral Neuroscience*, 114(5), 882-894.
- Bucci, D. J., Saddoris, M. P., y Burwell, R. D. (2002). Contextual fear discrimination is impaired by damage to the postrhinal or perirhinal cortex. *Behavioral Neuroscience*, 116(3), 479-488.
- Buresová, O., y Bures, J. (1979). The anterograde effect of ECS on the acquisition, retrieval and extinction of conditioned taste aversion. *Physiology y Behavior*, 22(4), 641-645.
- Burgess, N., Becker, S., King, J. A., y O'Keefe, J. (2001). Memory for events and their spatial context: models and experiments. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, 356(1413), 1493-1503.
- Burgess, N., Maguire, E. A., y O'Keefe, J. (2002). The human hippocampus and spatial and episodic memory. *Neuron*, 35(4), 625-641.
- Burwell, R. D. (2000). The parahippocampal region: corticocortical connectivity. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 911, 25-42.
- Burwell, R. D., y Amaral, D. G. (1998). Perirhinal and postrhinal cortices of the rat: interconnectivity and connections with the entorhinal cortex. *The Journal of Comparative Neurology*, 391(3), 293-321.
- Burwell, R. D., y Hafeman, D. M. (2003). Positional firing properties of postrhinal cortex neurons. *Neuroscience*, 119(2), 577-588.

- Burwell, R. D., Shapiro, M. L., O'Malley, M. T., y Eichenbaum, H. (1998). Positional firing properties of perirhinal cortex neurons. *Neuroreport*, 9(13), 3013-3018.
- Burwell, R. D., Witter, M. P., y Amaral, D. G. (1995). Perirhinal and postrhinal cortices of the rat: a review of the neuroanatomical literature and comparison with findings from the monkey brain. *Hippocampus*, 5(5), 390-408.
- Cheng, V. Y., Martin, L. J., Elliott, E. M., Kim, J. H., Mount, H. T. J., Taverna, F. A., Roder, J. C., et al. (2006). Alpha5GABAA receptors mediate the amnesic but not sedative-hypnotic effects of the general anesthetic etomidate. *The Journal of Neuroscience*, 26(14), 3713-3720.
- Cohen, N. J., y Squire, L. R. (1980). Preserved learning and retention of pattern-analyzing skill in amnesia: dissociation of knowing how and knowing that. *Science*, 210(4466), 207-210.
- Collinson, N., Kuenzi, F. M., Jarolimek, W., Maubach, K. A., Cothliff, R., Sur, C., Smith, A., et al. (2002). Enhanced learning and memory and altered GABAergic synaptic transmission in mice lacking the alpha 5 subunit of the GABAA receptor. *The Journal of Neuroscience*, 22(13), 5572-5580.
- Corkin, S., Amaral, D. G., Gonzáles, R. G., Johnson, K. A., y Hyman, B. T. (1997). H. M.'s temporal lobe lesion: findings for magnetic resonance imaging. *Journal of Neuroscience*, 17(10), 3964-79.
- Corodimas, K. P., y LeDoux, J. E. (1995). Disruptive effects of posttraining perirhinal cortex lesions on conditioned fear: contributions of contextual cues. *Behavioral Neuroscience*, 109(4), 613-619.
- Da Cunha, C., Wietzikoski, E. C., Dombrowski, P., Bortolanza, M., Santos, L. M., Boschen, S. L., y Miyoshi, E. (2009). Learning processing in the basal ganglia: a mosaic of broken mirrors. *Behavioural Brain Research*, 199(1), 157-170.
- De la Cruz, V., Rodriguez-Ortiz, C. J., Balderas, I., y Bermudez-Rattoni, F. (2008). Medial temporal lobe structures participate differentially in consolidation of safe and aversive taste memories. *The European Journal of Neuroscience*, 28(7), 1377-1381.
- Devan, B. D., y White, N. M. (1999). Parallel information processing in the dorsal striatum: relation to hippocampal function. *The Journal of Neuroscience*, 19(7), 2789-2798.
- Di Filippo, M., Picconi, B., Tantucci, M., Ghiglieri, V., Bagetta, V., Sgobio, C., Tozzi, A., et al. (2009). Short-term and long-term plasticity at corticostriatal synapses: implications for learning and memory. *Behavioural Brain Research*, 199(1), 108-118.

- Dickerson, B. C., y Eichenbaum, H. (2010). The episodic memory system: neurocircuitry and disorders. *Neuropsychopharmacology*, 35(1), 86-104.
- Doyon, J., Bellec, P., Amiel, R., Penhune, V., Monchi, O., Carrier, J., Lehericy, S., et al. (2009). Contributions of the basal ganglia and functionally related brain structures to motor learning. *Behavioural Brain Research*, 199(1), 61-75.
- Eacott, M. J., y Gaffan, E. A. (2005). The roles of perirhinal cortex, postrhinal cortex, and the fornix in memory for objects, contexts, and events in the rat. *The Quarterly Journal of Experimental Psychology*, 58(3-4), 202-217.
- Eacott, M. J., y Easton, A. (2009). Episodic memory in animals: Remembering which occasion. *Neuropsychologia*, 48(8), 2273-2278.
- Eacott, M. J., Easton, A., y Zinkivskaya, A. (2005). Recollection in an episodic-like memory task in the rat. *Learning and Memory*, 12(3), 221-223.
- Eichenbaum, H., Yonelinas, A. P., y Ranganath, C. (2007). The medial temporal lobe and recognition memory. *Annual Review of Neuroscience*, 30, 123-152.
- Eichenbaum, H. (2004). Hippocampus: cognitive processes and neural representations that underlie declarative memory. *Neuron*, 44(1), 109-120.
- Ennaceur, A., y Delacour, J. (1988). A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. 1: Behavioral data. *Behavioural Brain Research*, 31(1), 47-59.
- Ergorul, C., y Eichenbaum, H. (2004). The hippocampus and memory for "what," "where," and "when". *Learning and Memory*, 11(4), 397-405.
- Eschenko, O., y Mizumori, S. J. Y. (2007). Memory influences on hippocampal and striatal neural codes: effects of a shift between task rules. *Neurobiology of Learning and Memory*, 87(4), 495-509.
- Faulkner, T. P., Hayden, J. H., Mehta, C. M., Olson, D. A., y Comstock, E. G. (1979). Dose-Response Studies on Tolerance to Multiple Doses of Secobarbital and Methaqualone in a Polydrug Abuse Population. *Clinical Toxicology*, 15(1), 23-37.
- Ferbinteanu, J., Kennedy, P. J., y Shapiro, M. L. (2006). Episodic memory--from brain to mind. *Hippocampus*, 16(9), 691-703.
- Ferreira, T. L., Moreira, K. M., Ikeda, D. C., Bueno, O. F. A., y Oliveira, M. G. M. (2003). Effects of dorsal striatum lesions in tone fear conditioning and contextual fear conditioning. *Brain Research*, 987(1), 17-24.

- Furtak, S. C., Wei, S., Agster, K. L., y Burwell, R. D. (2007). Functional neuroanatomy of the parahippocampal region in the rat: the perirhinal and postrhinal cortices. *Hippocampus*, 17(9), 709-722.
- Garcia, J., Kimeldorf, D. J., y Koelling, R. A. (1955). Conditioned aversion to saccharin resulting from exposure to gamma radiation. *Science*, 122(3160), 157-158.
- García-Delatorre, P., Rodríguez-Ortiz, C. J., Balderas, I., Bermúdez-Rattoni, F. (2010). Differential participation of temporal structures in the consolidation and reconsolidation of taste aversion extinction. *European Journal of Neuroscience*, 32(6), 1018-1023.
- Gardiner, T. W., y Kitai, S. T. (1992). Single-unit activity in the globus pallidus and neostriatum of the rat during performance of a trained head movement. *Experimental Brain Research*, 88(3), 517-530.
- Gingrich, K. J., Burkat, P. M., y Roberts, W. A. (2009). Pentobarbital produces activation and block of $\alpha 1\beta 2\gamma 2S$ GABAA receptors in rapidly perfused whole cells and membrane patches: divergent results can be explained by pharmacokinetics. *Journal of General Physiology*, 133(2), 171-188.
- Grahn, J. A., Parkinson, J. A., y Owen, A. M. (2009). The role of the basal ganglia in learning and memory: neuropsychological studies. *Behavioural Brain Research*, 199(1), 53-60.
- Graybiel, A. M., (2000). The basal ganglia. *Current Biology*, 10 (14), 509-511.
- Gutiérrez, R., De la Cruz, V., Rodríguez-Ortiz, C. J., y Bermudez-Rattoni, F. (2004). Perirhinal cortex muscarinic receptor blockade impairs taste recognition memory formation. *Learning and Memory*, 11(1), 95-101.
- Guzowski, J. F., Lyford, G. L., Stevenson, G. D., Houston, F. P., McGaugh, J. L., Worley, P. F., y Barnes, C. A. (2000). Inhibition of activity-dependent arc protein expression in the rat hippocampus impairs the maintenance of long-term potentiation and the consolidation of long-term memory. *The Journal of Neuroscience*, 20(11), 3993-4001.
- Haber, S. N., Fudge, J. L., y McFarland, N. R. (2000). Striatonigrostriatal pathways in primates form an ascending spiral from the shell to the dorsolateral striatum. *The Journal of Neuroscience*, 20(6), 2369-2382.
- Hampton, R. R. (2001). Rhesus monkeys know when they remember. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(9), 5359-5362.

- Hampton, R. R. (2005). Monkey perirhinal cortex is critical for visual memory, but not for visual perception: reexamination of the behavioural evidence from monkeys. *The Quarterly Journal of Experimental Psychology*, 58(3-4), 283-299.
- Harder, J. A., Baker, H. F., y Ridley, R. M. (1998). The role of the central cholinergic projections in cognition: implications of the effects of scopolamine on discrimination learning by monkeys. *Brain Research Bulletin*, 45(3), 319-326.
- Harrison, N., Mendelson, W. B., y Wit, H. (2000). Barbiturates. *Neuropsychopharmacology*. <http://www.acnp.org/g4/GN401000173/CH169.html>. Obtenido el 15 de julio de 2008.
- Hikosaka, O. (1998). Neural systems for control of voluntary action: a hypothesis. *Advance in Biophysics*, 35, 81-102.
- Horvitz, J. C. (2009). Stimulus-response and response-outcome learning mechanisms in the striatum. *Behavioural Brain Research*, 199(1), 129-140.
- Jay, T. M., y Witter, M. P. (1991). Distribution of hippocampal CA1 and subicular efferents in the prefrontal cortex of the rat studied by means of anterograde transport of Phaseolus vulgaris-leucoagglutinin. *The Journal of Comparative Neurology*, 313(4), 574-586.
- Jia, F., Pignataro, L., Schofield, C. M., Yue, M., Harrison, N. L., y Goldstein, P. A. (2005). An extrasynaptic GABAA receptor mediates tonic inhibition in thalamic VB neurons. *Journal of Neurophysiology*, 94(6), 4491-4501.
- Joel, D., y Weiner, I. (2000). The connections of the dopaminergic system with the striatum in rats and primates: an analysis with respect to the functional and compartmental organization of the striatum. *Neuroscience*, 96(3), 451-474.
- John, E. R., y Prichep, L. S. (2005). The anesthetic cascade: a theory of how anesthesia suppresses consciousness. *Anesthesiology*, 102(2), 447-471.
- Kimura, M. (1995). Role of basal ganglia in behavioral learning. *Neuroscience Research*, 22(4), 353-358.
- Kimura, M., Aosaki, T., y Ishida, A. (1993). Neurophysiological aspects of the differential roles of the putamen and caudate nucleus in voluntary movement. *Advances in Neurology*, 60, 62-70.
- Knowlton, B. J., Mangels, J. A., y Squire, L. R. (1996). A neostriatal habit learning system in humans. *Science*, 273(5280), 1399-1402.
- Kurtz, P. y Palfai, T. (1977). Mechanisms in retrograde amnesia: a case of biogenic amines. *Behavioral Reviews*, 1, 25-33.

- Lang, S., Kroll, A., Lipinski, S. J., Wessa, M., Ridder, S., Christmann, C., Schad, L. R., y Flor, H. (2009). Context conditioning and extinction in humans: differential contribution of the hippocampus, amygdala and prefrontal cortex. *The European Journal of Neuroscience*, 29(4), 823-832.
- Lavenex, P., y Amaral, D. G. (2000). Hippocampal-neocortical interaction: a hierarchy of associativity. *Hippocampus*, 10(4), 420-430.
- Levy, R., Friedman, H. R., Davachi, L., y Goldman-Rakic, P. S. (1997). Differential activation of the caudate nucleus in primates performing spatial and nonspatial working memory tasks. *The Journal of Neuroscience*, 17(10), 3870-3882.
- Li, F., y Tsien, J. Z. (2009). Memory and NMDA receptors. *The New England Journal of Medicine*, 361(3), 302-303.
- Lisman, J. (2005). The theta/gamma discrete phase code occurring during the hippocampal phase precession may be a more general brain coding scheme. *Hippocampus*, 15(7), 913-922.
- Maine de Biran (1929) *The Influence of Habit on the Faculty of Thinking*. Baltimore: Williams and Wilkins.
- Markowitsch, H. J. (1995). Which brain regions are critically involved in the retrieval of old episodic memory? *Brain Research*, 21(2), 117-127.
- Marschner, A., Kalisch, R., Vervliet, B., Vansteenwegen, D., y Büchel, C. (2008). Dissociable roles for the hippocampus and the amygdala in human cued versus context fear conditioning. *The Journal of Neuroscience*, 28(36), 9030-9036.
- Martin, J., Matthews, A., Martin, F., Kirkby, K. C., Alexander, J., y Daniels, B. (2002). Effects of lorazepam and oxazepam on perceptual and procedural memory functions. *Psychopharmacology*, 164(3), 262-267.
- Martin, L. J., Oh, G. H. T., y Orser, B. A. (2009). Etomidate targets alpha5 gamma-aminobutyric acid subtype A receptors to regulate synaptic plasticity and memory blockade. *Anesthesiology*, 111(5), 1025-1035.
- Matus-Amat, P., Higgins, E. A., Barrientos, R. M., y Rudy, J. W. (2004). The role of the dorsal hippocampus in the acquisition and retrieval of context memory representations. *The Journal of Neuroscience*, 24(10), 2431-2439.

- Matus-Amat, P., Higgins, E. A., Sprunger, D., Wright-Hardesty, K., y Rudy, J. W. (2007). The role of dorsal hippocampus and basolateral amygdala NMDA receptors in the acquisition and retrieval of context and contextual fear memories. *Behavioral Neuroscience*, 121(4), 721-731.
- Mcdonald, A. J., Mascagni, F., y Guo, L. (1996). Projections of the medial and lateral prefrontal cortices to the amygdala: a Phaseolus vulgaris leucoagglutinin study in the rat. *Neuroscience*, 71(1), 55-75.
- McGaugh, J. L. (2000). Memory--a century of consolidation. *Science*, 287(5451), 248-251.
- McHaffie, J. G., Stanford, T. R., Stein, B. E., Coizet, V., y Redgrave, P. (2005). Subcortical loops through the basal ganglia. *Trends in Neurosciences*, 28(8), 401-407.
- McIntyre, C. K., Miyashita, T., Setlow, B., Marjon, K. D., Steward, O., Guzowski, J. F., y McGaugh, J. L. (2005). Memory-influencing intra-basolateral amygdala drug infusions modulate expression of Arc protein in the hippocampus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(30), 10718-10723.
- McNish, K. A., Gewirtz, J. C., y Davis, M. (2000). Disruption of contextual freezing, but not contextual blocking of fear-potentiated startle, after lesions of the dorsal hippocampus. *Behavioral Neuroscience*, 114(1), 64-76.
- Milner, B., y Penfield, W. (1955). The effect of hippocampal lesions on recent memory. *Transactions of the American Neurological Association*, (80th Meeting), 42-48.
- Miranda, R., Blanco, E., Begega, A., Rubio, S., y Arias, J. L. (2006). Hippocampal and caudate metabolic activity associated with different navigational strategies. *Behavioral Neuroscience*, 120(3), 641-650.
- Mishkin, M. (1978). Memory in monkeys severely impaired by combined but not by separate removal of amygdala and hippocampus. *Nature*, 273(5660), 297-298.
- Miyashita, T., Kubik, S., Lewandowski, G., y Guzowski, J. F. (2008). Networks of neurons, networks of genes: an integrated view of memory consolidation. *Neurobiology of Learning and Memory*, 89(3), 269-284.
- Mizumori, S. J., Ragozzino, K. E., Cooper, B. G., y Leutgeb, S. (1999). Hippocampal representational organization and spatial context. *Hippocampus*, 9(4), 444-451.
- Mizumori, S. J. Y., Puryear, C. B., y Martig, A. K. (2009). Basal ganglia contributions to adaptive navigation. *Behavioural Brain Research*, 199(1), 32-42.

- Morris, R. (1984). Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *Journal of Neuroscience Methods*, 11(1), 47-60.
- Morris, R. G. (2001). Episodic-like memory in animals: psychological criteria, neural mechanisms and the value of episodic-like tasks to investigate animal models of neurodegenerative disease. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, 356(1413), 1453-1465.
- Moscovitch, M., Rosenbaum, R. S., Gilboa, A., Addis, D. R., Westmacott, R., Grady, C., McAndrews, M. P., et al. (2005). Functional neuroanatomy of remote episodic, semantic and spatial memory: a unified account based on multiple trace theory. *Journal of Anatomy*, 207(1), 35-66.
- Mumby, D. G., y Pinel, J. P. (1994). Rhinal cortex lesions and object recognition in rats. *Behavioral Neuroscience*, 108(1), 11-18.
- Mumby, D. G., Piterkin, P., Lecluse, V., y Lehmann, H. (2007). Perirhinal cortex damage and anterograde object-recognition in rats after long retention intervals. *Behavioural Brain Research*, 185(2), 82-87.
- Murray, E. A., y Mishkin, M. (1998). Object recognition and location memory in monkeys with excitotoxic lesions of the amygdala and hippocampus. *The Journal of Neuroscience*, 18(16), 6568-6582.
- Murray, E. A., y Richmond, B. J. (2001). Role of perirhinal cortex in object perception, memory, and associations. *Current Opinion in Neurobiology*, 11(2), 188-193.
- Murray, E. A., Graham, K. S., y Gaffan, D. (2005). Perirhinal cortex and its neighbours in the medial temporal lobe: contributions to memory and perception. *The Quarterly Journal of Experimental Psychology*, 58(3-4), 378-396.
- Naor, C., y Dudai, Y. (1996). Transient impairment of cholinergic function in the rat insular cortex disrupts the encoding of taste in conditioned taste aversion. *Behavioural Brain Research*, 79(1-2), 61-67.
- Nelson, L. E., Guo, T. Z., Lu, J., Saper, C. B., Franks, N. P., y Maze, M. (2002). The sedative component of anesthesia is mediated by GABA(A) receptors in an endogenous sleep pathway. *Nature Neuroscience*, 5(10), 979-984.
- Norman, G., y Eacott, M. J. (2005). Dissociable effects of lesions to the perirhinal cortex and the postrhinal cortex on memory for context and objects in rats. *Behavioral Neuroscience*, 119(2), 557-566.

- O'Keefe, J. (1976). Place units in the hippocampus of the freely moving rat. *Experimental Neurology*, 51(1), 78-109.
- O'Keefe, J., Nadel, L., Keightley, S., y Kill, D. (1975). Fornix lesions selectively abolish place learning in the rat. *Experimental Neurology*, 48(1), 152-166.
- O'Keefe, J., y Dostrovsky, J. (1971). The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. *Brain Research*, 34(1), 171-175.
- Otto, T., y Eichenbaum, H. (1992). Complementary roles of the orbital prefrontal cortex and the perirhinal-entorhinal cortices in an odor-guided delayed-nonmatching-to-sample task. *Behavioral Neuroscience*, 106(5), 762-775.
- Packard, M. G., y McGaugh, J. L. (1996). Inactivation of hippocampus or caudate nucleus with lidocaine differentially affects expression of place and response learning. *Neurobiology of Learning and Memory*, 65(1), 65-72.
- Packard, M. G., y Teather, L. A. (1997). Double dissociation of hippocampal and dorsal-striatal memory systems by posttraining intracerebral injections of 2-amino-5-phosphonopentanoic acid. *Behavioral Neuroscience*, 111(3), 543-551.
- Packard, M. G. (2009). Exhumed from thought: basal ganglia and response learning in the plus-maze. *Behavioural Brain Research*, 199(1), 24-31.
- Packard, M. G., y Knowlton, B. J. (2002). Learning and memory functions of the Basal Ganglia. *Annual Review of Neuroscience*, 25, 563-593.
- Polster, M. R., Gray, P. A., O'Sullivan, G., McCarthy, R. A., y Park, G. R. (1993). Comparison of the sedative and amnesic effects of midazolam and propofol. *British Journal of Anaesthesia*, 70(6), 612-616.
- Quirk, G. J., Garcia, R., y González-Lima, F. (2006). Prefrontal mechanisms in extinction of conditioned fear. *Biological Psychiatry*, 60(4), 337-343.
- Redburn, J. L., y Leah, J. D. (1997). Accelerated breakdown and enhanced expression of c-Fos in the rat brain after noxious stimulation. *Neuroscience Letters*, 237(2-3), 97-100.
- Reddy, M. M., y Bures, J. (1981). Unit activity changes elicited in amygdala and neocortex of anaesthetized rats by intraperitoneal injection of lithium chloride. *Neuroscience Letters*, 22(2), 169-172.
- Ren, Y., Zhang, F., Xue, Q., Zhao, X., y Yu, B. (2008). Bilateral inhibition of gamma-aminobutyric acid type A receptor function within the basolateral amygdala blocked propofol-induced amnesia and

- activity-regulated cytoskeletal protein expression inhibition in the hippocampus. *Anesthesiology*, 109(5), 775-781.
- Rogan, M. T., Stäubli, U. V., y LeDoux, J. E. (1997). Fear conditioning induces associative long-term potentiation in the amygdala. *Nature*, 390(6660), 604-607.
- Rolls, E. T. (2000). Memory systems in the brain. *Annual Review of Psychology*, 51, 599-630.
- Rosen, J. B., y Donley, M. P. (2006). Animal studies of amygdala function in fear and uncertainty: relevance to human research. *Biological Psychology*, 73(1), 49-60.
- Rosenbaum, R. S., Winocur, G., y Moscovitch, M. (2001). New views on old memories: re-evaluating the role of the hippocampal complex. *Behavioural Brain Research*, 127(1-2), 183-197.
- Rosenblum, K., Meiri, N., y Dudai, Y. (1993). Taste memory: the role of protein synthesis in gustatory cortex. *Behavioral and Neural Biology*, 59(1), 49-56.
- Shapiro, M. L., Tanila, H., y Eichenbaum, H. (1997). Cues that hippocampal place cells encode: dynamic and hierarchical representation of local and distal stimuli. *Hippocampus*, 7(6), 624-642.
- Sherry, D. F., y Schacter, D. L. (1987). The evolution of multiple memory systems. *Psychological Review*, 94(4), 439-454.
- Shohamy, D., Myers, C. E., Onlaor, S., y Gluck, M. A. (2004). Role of the basal ganglia in category learning: how do patients with Parkinson's disease learn? *Behavioral Neuroscience*, 118(4), 676-686.
- Smith, D. M., y Mizumori, S. J. Y. (2006). Hippocampal place cells, context, and episodic memory. *Hippocampus*, 16(9), 716-729.
- Squire, L. R., y Zola, S. M. (1996). Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(24), 13515-13522.
- Squire, L. R. (2009). Memory and brain systems: 1969-2009. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 29(41), 12711-12716.
- Squire, L. R., Stark, C. E. L., y Clark, R. E. (2004). The medial temporal lobe. *Annual Review of Neuroscience*, 27, 279-306.
- Sur, C., Fresu, L., Howell, O., McKernan, R. M., y Atack, J. R. (1999). Autoradiographic localization of alpha5 subunit-containing GABAA receptors in rat brain. *Brain Research*, 822(1-2), 265-270.

- Tang, Y., Mishkin, M., y Aigner, T. G. (1997). Effects of muscarinic blockade in perirhinal cortex during visual recognition. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(23), 12667-12669.
- Teather, L. A., Packard, M. G., Smith, D. E., Ellis-Behnke, R. G., y Bazan, N. G. (2005). Differential induction of c-Jun and Fos-like proteins in rat hippocampus and dorsal striatum after training in two water maze tasks. *Neurobiology of Learning and Memory*, 84(2), 75-84.
- Tulving, E. (2001). Episodic memory and common sense: how far apart? *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, 356(1413), 1505-1515.
- Turchi, J., Buffalari, D., y Mishkin, M. (2008). Double dissociation of pharmacologically induced deficits in visual recognition and visual discrimination learning. *Learning and Memory*, 15(8), 565-568.
- Vertes, R. P., Albo, Z., y Viana Di Prisco, G. (2001). Theta-rhythmically firing neurons in the anterior thalamus: implications for mnemonic functions of Papez's circuit. *Neuroscience*, 104(3), 619-625.
- Veselis, R. A., Pryor, K. O., Reinsel, R. A., Li, Y., Mehta, M., y Johnson, R. (2009). Propofol and midazolam inhibit conscious memory processes very soon after encoding: an event-related potential study of familiarity and recollection in volunteers. *Anesthesiology*, 110(2), 295-312.
- Viaud, M. D., y White, N. M. (1989). Dissociation of visual and olfactory conditioning in the neostriatum of rats. *Behavioural Brain Research*, 32(1), 31-42.
- Wan, X., y Puil, E. (2002). Pentobarbital depressant effects are independent of GABA receptors in auditory thalamic neurons. *Journal of Neurophysiology*, 88, 3067 – 3077.
- Watkins, L. H., Rogers, R. D., Lawrence, A. D., Sahakian, B. J., Rosser, A. E., y Robbins, T. W. (2000). Impaired planning but intact decision making in early Huntington's disease: implications for specific fronto-striatal pathology. *Neuropsychologia*, 38(8), 1112-1125.
- Welzl, H., D'Adamo, P., y Lipp, H. P. (2001). Conditioned taste aversion as a learning and memory paradigm. *Behavioural Brain Research*, 125(1-2), 205-213.
- White, N. M. (2009). Some highlights of research on the effects of caudate nucleus lesions over the past 200 years. *Behavioural Brain Research*, 199(1), 3-23.
- Wickens, J. R. (2009). Synaptic plasticity in the basal ganglia. *Behavioural Brain Research*, 199(1), 119-128.

- Willingham, D. B. (1998). A neuropsychological theory of motor skill learning. *Psychological Review*, 105(3), 558-584.
- Winterbauer, N. E., y Balleine, B. W. (2007). The influence of amphetamine on sensory and conditioned reinforcement: evidence for the re-selection hypothesis of dopamine function. *Frontiers in Integrative Neuroscience*, 1, 9.
- Winters, B. D., Bartko, S. J., Saksida, L. M., y Bussey, T. J. (2007). Scopolamine infused into perirhinal cortex improves object recognition memory by blocking the acquisition of interfering object information. *Learning and Memory*, 14(9), 590-596.
- Winters, B. D., Bartko, S. J., Saksida, L. M., y Bussey, T. J. (2010). Muscimol, AP5, or scopolamine infused into perirhinal cortex impairs two-choice visual discrimination learning in rats. *Neurobiology of Learning and Memory*, 93(2), 221-228.
- Winters, B. D., y Bussey, T. J. (2005). Transient inactivation of perirhinal cortex disrupts encoding, retrieval, and consolidation of object recognition memory. *The Journal of Neuroscience*, 25(1), 52-61.
- Winters, B. D., Forwood, S. E., Cowell, R. A., Saksida, L. M., y Bussey, T. J. (2004). Double dissociation between the effects of peri-postrhinal cortex and hippocampal lesions on tests of object recognition and spatial memory: heterogeneity of function within the temporal lobe. *The Journal of Neuroscience*, 24(26), 5901-5908.
- Winters, B. D., Saksida, L. M., y Bussey, T. J. (2006). Paradoxical facilitation of object recognition memory after infusion of scopolamine into perirhinal cortex: implications for cholinergic system function. *The Journal of Neuroscience*, 26(37), 9520-9529.
- Yamamoto, T., y Fujimoto, Y. (1991). Brain mechanisms of taste aversion learning in the rat. *Brain Research Bulletin*, 27(3-4), 403-406.
- Yamamoto, T. (2007). Brain regions responsible for the expression of conditioned taste aversion in rats. *Chemical Senses*, 32(1), 105-109.
- Yin, H. H., y Knowlton, B. J. (2006). The role of the basal ganglia in habit formation. *Nature Reviews Neuroscience*, 7(6), 464-476.
- Zecharia, A. Y., y Franks, N. P. (2009). General anesthesia and ascending arousal pathways. *Anesthesiology*, 111(4), 695-696.
- Zentall, T. R. (2006). Mental time travel in animals: a challenging question. *Behavioural Processes*, 72(2), 173-183.