



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

**INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA**

**PARTICIPACIÓN DE LOS GLUCOCORTICOIDES  
ESTRIATALES EN UNA TAREA DE LABERINTO ACUÁTICO  
CON PLATAFORMA VISIBLE**

**T E S I S**

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

**PRESENTA:**

**MED. CIR. IRMA SOFIA LEDESMA DE LA TEJA**

**DIRECTORA DE LA TESIS:  
DRA. GINA LORENA QUIRARTE**

**CAMPUS UNAM-JURIQUILLA, QUERÉTARO. 2005**



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.

## AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi reconocimiento a las siguientes instituciones y personas, por el apoyo que me brindaron para la realización del presente trabajo:

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

Bioterio, Instituto de Neurobiología, Campus Juriquilla, UNAM.

Biblioteca, Instituto de Neurobiología, Campus Juriquilla, UNAM.

Unidad de Análisis de Imágenes Digitales, Instituto de Neurobiología, Campus Juriquilla, UNAM.

Dirección General de Estudios de Posgrado, UNAM.

Dirección General de Asuntos del Personal Académico Universidad Nacional Autónoma de México (Proyectos *PAPIIT-DGAPA*, *UNAM IX22704* y *IN-208803*).

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Proyecto 46754).

A la M. en C. Norma Serafín López, por su gentil asistencia en la elaboración de esta tesis.

Al Sr. Ángel Mendez, por todo su apoyo.

Al MVZ José Martín García, por el suministro de animales requeridos para el desarrollo de experimentos.

A Leonor Casanova Rico e Isabel Bolaños por su disposición y apoyo en todos los trámites realizados en la maestría.

A la Lic. Maria del Pilar Galarza Barrios y al personal de la Biblioteca, por el material bibliográfico proporcionado.

A la Ing. Elsa Nydia Hernández de la Unidad de Imágenes, por su auxilio en la toma de fotografías.

Al Lic. Fernando López por ayudar en la mejora de las gráficas e imágenes.

A Lourdes Lara por su ayuda en el enlace a través de videoconferencia.

A Dr. Miguel Ángel Guevara Pérez y el Dr. Gustavo Valencia por su apoyo en estadística.

Al M. en C. Leopoldo González Santos por su apoyo en la impresión de la tesis.

Al Ing. Omar González Hernández por su apoyo en los sistemas de cómputo.

También agradezco inmensamente a:

Al Gran Arquitecto del Universo, por permitirme continuar forjando mi destino.

A la Dra. Gina L. Quirarte, por introducirme en el maravilloso mundo de la ciencia.

Al Dr. Roberto Prado, con especial cariño, respeto y admiración, gracias por estar siempre presente, por todo el apoyo; con su ejemplo, nos hace anhelar y realizar siempre un trabajo digno.

Con particular gratitud a mi muy querido Dr. Larry Reid y su familia, ya que tuvieron oídos, mente y corazón para mí: ellos fueron un pivote en mi desarrollo por el mundo de la ciencia, gracias de corazón.

A los integrantes de mi comité tutorial, y a mi jurado de examen de grado: Doctores Gabriela Morali de la Brena, Raúl Paredes, Maria Isabel Miranda y Marco Antonio Sánchez, por sus acertados comentarios, gracias por enriquecer este trabajo, y con especial agradecimiento al Dr. Manuel Salas Alvarado, por su pulcritud en el trabajo y por su visión de excelencia.

Al Dr. Cesar Quiroz, quien aparte de ser un buen compañero y amigo, de quien siempre guardaré el mejor de los recuerdos, gracias por enseñarme a hacer ciencia, gracias por tener una mente tan inquieta, gracias por las pláticas de ciencia y filosofía, gracias a ti aprendí muchísimo, muchas gracias.

A mis queridos compañeros, de largas e incesantes faenas dentro del laboratorio, el cual se convirtió en nuestro segundo hogar, gracias porque entre todos aprendimos a enriquecernos día a día, gracias a Cristina, Erika, Oscar, Arnulfo y Mara.

A todos los profesores que me dieron cátedra y me instruyeron día a día, en esta maravillosa experiencia, llamada maestría.

A todos mis sujetos de experimentación, a los cuales poco se les reconoce, no son máquinas, ni son objetos inanimados, son seres sintientes, y nobles que nos permiten, gracias a su sacrificio, obtener el conocimiento.

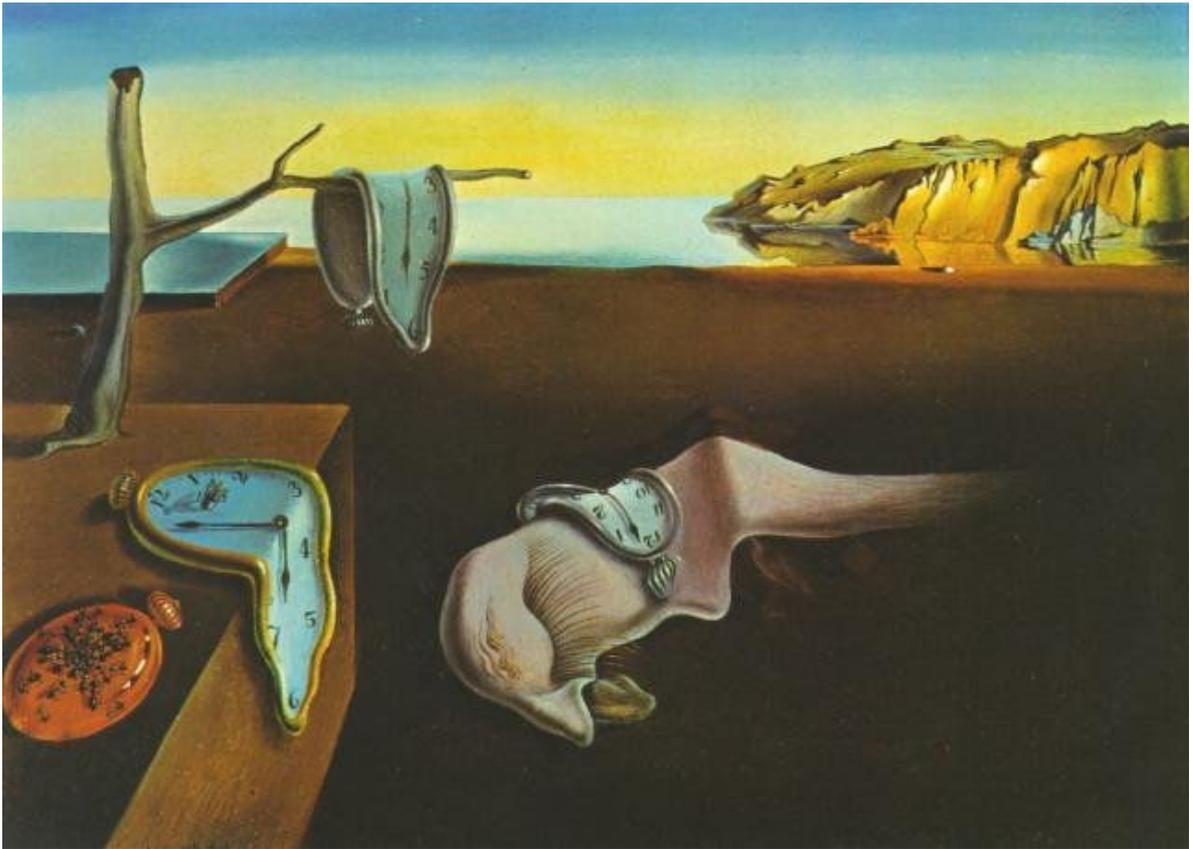
A mis discípulos, quienes son una transición entre familia y amigos. A Carlota, que en mi momento de titubeo, me ayudó a seguir adelante, gracias. A Edith, mi cohabitante, que compartió conmigo, desde traspasadas por estudio, hasta pachangas. A Juan Carlos mi mejor amigo y confidente. A Gloria en la brillantez de la locura. y a Caspasita por la particularidad de su ser.

A mis padres, Ing. Rafael Ledesma Lara y Profa. Irma de la Teja Ortiz, que son los mejores padres del mundo, gracias por apoyarme tanto, gracias por compartir este sueño conmigo, gracias, porque siempre tengo en ellos unos brazos cálidos donde regresar, gracias por poder tener un lugar llamado hogar.

A mis hermanos, que aunque no comprenden mi locura, no censuran la ilusión, que aunque no comprenden el por qué, comparten el sueño, porque mis zapatos de nube siempre tienen cabida en su vida, que a pesar de la torre de cristal siempre hay un apoyo de metal, Gracias Diana, José, Adriana, Rafa, y Erick.

Al Ing. Cristian Galarza, por que el amor de la vida, es aquel que comparte tu vida.

Dedicado a la luz de mi vida, a mi ángel particular, a mi motivo de ser, a mi sonrisa.  
A mi hija Kiara Dominique



Relojes blandos o De la memoria y su reminiscencia  
Eugenio Salvador Dalí

“La vida no es la que uno vivió,  
sino la que uno recuerda y  
como recuerda para contarla”  
Gabriel García Márquez

# ÍNDICE

	Página
RESUMEN	iii
SUMMARY	iv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES GENERALES	3
A. Aprendizaje	3
1. Aprendizaje asociativo	3
a. Condicionamiento clásico o pavloviano	3
b. Condicionamiento instrumental u operante	4
2. Aprendizaje no asociativo	5
a. Habitación	6
b. Sensibilización	6
B. Memoria	6
1. Memoria de corto plazo ( MCP )	6
2. Memoria de largo plazo (MLP )	7
3. Memoria de procedimiento	9
4. Memoria declarativa	9
5. Memoria espacial	10
C. El Laberinto Acuático	12
1. Los neurotransmisores y la tarea de laberinto acuático	13
a. Dopamina	13
b. GABA	14
c. Noradrenalina	14

d. Serotonina	15
e. Acetilcolina	15
2. Procedimiento clásico del LAM	16
3. Memoria espacial de corto plazo	17
4. Memoria no espacial	17
D. Ganglios Basales	18
1. Topografía	21
2. Desarrollo del estriado	22
3. Histología de estriado	22
4. Interconexiones	23
E. Glucocorticoides	24
1. Biosíntesis	24
2. Regulación de la secreción de corticosteroides	26
3. Ritmos de secreción	28
4. Fisiología	28
a. Efectos cardiovasculares	29
b. Control de líquidos	29
c. Inmunidad e inflamación	29
d. Metabolismo	30
e. Fisiología reproductiva	30
f. Efectos neurobiológicos	31
5. Receptores	33
III. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS	39

IV.	OBJETIVOS	43
	A. General	43
	B. Específicos	43
V.	HIPÓTESIS	44
VI.	METODOLOGÍA	45
	A. Sujetos	45
	B. Cirugía	45
	C. Adaptación de los sujetos a las condiciones experimentales	46
	D. Aparatos	47
	E. Entrenamiento	48
	F. Drogas	52
	G. Grupos y Tratamientos	53
	H. Inyección	53
	I. Verificación histológica	53
	J. Análisis estadístico	54
VII.	RESULTADOS	55
	A. Verificación histológica	55
	B. Resultados Conductuales	62
	1. Experimento 1 (Grupos intactos entrenados en LAM)	62
	2. Experimento 2 (Administración de CORT)	64
	3. Experimento 3 (Administración de RU 486)	67
VIII.	DISCUSIÓN	71
IX.	CONCLUSIONES	75
X.	REFERENCIAS	76



**RESUMEN**

Se sabe que algunas hormonas juegan un papel importante en la modulación de la memoria, entre ellas, los glucocorticoides, y que ejercen sus efectos en estructuras como la amígdala y el hipocampo (Roozendaal y McGaugh, 1997a, b). Cuando se ha estudiado el efecto de antagonistas a receptores glucocorticoides (GR), como el RU 486, administrados intracerebralmente, se encuentra un decremento en la ejecución de tareas condicionadas (Oitzl y de Kloet, 1992; Roozendaal y McGaugh, 1997a, 1997b; Sandi y Rose, 1994). Se conoce que el estriado participa en la consolidación de la memoria de diversas tareas (Divac y Oberg, 1979; Dunnett e Iversen, 1981; Sandberg, Sanberg, Hanin, Fisher y Coyle, 1984); también se conoce que existen receptores a GR en forma homogénea en todo el estriado (de Kloet, Oitzl y Jöels, 1993), pero se desconoce la función de los glucocorticoides en esta estructura. Una de las tareas en las que se ha visto involucrado el estriado es la tarea del laberinto acuático de Morris en su modalidad de plataforma visible (Packard, Cahill y McGaugh, 1994; Packard y Teather, 1998). Por lo anterior, nuestro objetivo en la presente tesis fue determinar si los receptores a GR en el estriado afectan el aprendizaje o la retención de la tarea del laberinto acuático de plataforma visible. Para ello se realizaron dos experimentos: en el primero de ellos se inyectaron bilateralmente en estriado dorsal diferentes dosis de corticosterona (2, 5 y 10 ng), mientras que en el segundo experimento se inyectó bilateralmente en el estriado el antagonista RU 486, también con varias dosis (0.5, 1, 2, 5 y 10 ng). En cada experimento se estudió un grupo control al cual se le administró vehículo. Las inyecciones se realizaron antes del entrenamiento y 48 h después se midió la retención de la tarea. Los resultados mostraron que en la sesión de adquisición la totalidad de los sujetos aprendieron homogéneamente sin encontrar diferencias significativas entre los grupos, mientras que en la sesión de prueba encontramos que al administrar corticosterona se presentó facilitación en el grupo de 5 ng y en el grupo que recibió 5 ng de RU 486 se encontró una tendencia al deterioro. Estos resultados sugieren que los glucocorticoides estriatales no están involucrados en el aprendizaje en esta tarea pero sí lo pueden estar en la retención de la misma.

## SUMMARY

It is known that some hormones play an important role in the modulation of memory, among which are the glucocorticoids; these exert modulatory effects on the amygdala and hippocampus (Rooszendaal and McGaugh, 1997a, 1997b). A detrimental effect on conditioned responding has been found after intracerebral administration of selective antagonists of glucocorticoid receptors (GR), such as RU 486 (Oitzl and de Kloet, 1992; Rooszendaal and McGaugh, 1997a, 1997b; Sandi and Rose, 1994). On the other hand, it has been shown that the striatum is involved in memory consolidation of a wide variety of learned tasks (Divac and Oberg, 1979; Dunnett and Iversen, 1981; Sandberg, Sanberg, Hanin, Fisher and Coyle, 1984); it has also been shown that there is a homogeneous distribution of GR in the striatum (de Kloet, Oitzl and Jöels, 1993), but their function is unknown. One instrumental task in which the striatum participates is the visible platform version of the Morris water maze task (Packard, Cahill and McGaugh, 1994; Packard and Teather, 1998). Based on these antecedents, the goal of this thesis was to determine whether activation and blockade of striatal GR receptors produce modifications in learning and retention of this water maze task. To this end two experiments were conducted: In the first one, corticosterone (2, 5, and 10 ng) was bilaterally infused into the striatum; in the second one, the GR antagonist RU 486 (0.5, 1, 2, 5, and 10 ng) were also bilaterally infused into the striatum. In each experiment the vehicle was administered to a control group. All infusions were performed before the training session, and retention of the task was measured in a second session conducted 48 h after training. The results showed that during training all groups learned the task equally well, whereas during the second session the group that was treated with 5 ng of corticosterone showed a facilitation of retention and the group treated with 5 ng of RU 486 showed a marginal deficit. These results suggest that striatal glucocorticoids may be involved in retention, but not so in learning of this water maze task.

## I. INTRODUCCIÓN

Desde tiempos remotos la mente ha sido un misterio, es en ella en donde radican las propiedades cognitivas que nos diferencian del resto de los animales. La búsqueda y la comprensión de ésta y otros enigmas con una visión racional, fueron iniciadas por los filósofos griegos, dando origen a la concepción sustancialista de lo psíquico. Alcmeón de Crotona sostuvo por primera vez que mientras los demás seres sólo sienten, el hombre es el único que piensa (Carpintero, 1996).

Por su parte cuando Platón habla del alma divide a ésta en tres partes: el *thymoides* o ánimo irascible localizado en el pecho, el *epithymetikon* o ánima apetitiva que se encuentra en el vientre, y el *logistíon* o racional que se halla en la cabeza. Platón coloca por primera vez a la racionalidad en la cabeza y a la psique como principio del conocimiento. Platón es el primero que hace énfasis en la importancia del aprendizaje, sostenía la idea de la reencarnación y proponía que en cada una de las vidas se obtenía la ventaja del aprendizaje de la vida previa; asimismo pone a la amnesis como un conocimiento superior (Carpintero, 1996).

Su discípulo Aristóteles escribe el primer tratado que abarca el tema de la memoria titulado “De la memoria y reminiscencia”; en donde concibe la mente como una tabla rasa “donde no hay nada escrito en acto”, todo el conocimiento lo va depositando la experiencia y es fruto del aprendizaje. La primera condición para que se aprenda es que exista la memoria, en el hombre ésta aparece a voluntad y las huellas de la memoria pueden manejarse porque no están desorganizadas, sino enlazadas de manera ordenada; propone también que no sólo existe una memoria intelectual sino también una motora. Posteriormente, los estoicos continúan las bases filosóficas aristotélicas pero siguiendo su corriente moralista, en la que se coloca al aprendizaje como algo fundamental para el autocontrol y el dominio de la voluntad (Carpintero, 1996).

Ya hemos hablado de la memoria y el aprendizaje, pero debemos definir ambos términos antes de proseguir: se entiende por aprendizaje como “el cambio más o menos permanente de la conducta, derivado de cuando menos una experiencia previa, y que no depende de procesos de maduración, fatiga o de efectos pasajeros de fármacos” (Prado-Alcalá y Quirarte, 1993). Ahora bien, podemos definir la memoria como “el almacenamiento de información obtenida por el aprendizaje” (Nelson, 2000).

Ya hemos visto cómo a lo largo de la historia la memoria y el aprendizaje han tenido un lugar especial en su estudio y comprensión, pero en sí ¿para qué nos sirve la memoria? La memoria nos ayuda a respondernos desde las preguntas filosóficas esenciales de ¿quiénes somos?, ¿de dónde venimos?, ¿hacia dónde vamos?, hasta las cuestiones meramente fisiológicas como lo son, ¿ya comí el día de hoy?, ¿ya me bañé?, por lo tanto es esencial en nuestra vida diaria, así como también lo es para poder crecer como entes pensantes.

Como ya lo hemos mencionado, los filósofos han tratado de entender la memoria desde hace miles de años, sin embargo, el estudio científico de esta área cognitiva data de hace aproximadamente 100 años y aún distamos de tener las respuestas a preguntas tales como ¿cuál es la integración funcional de la memoria?, ¿cómo se lleva a cabo la codificación de la memoria?, ¿cómo se transmite molecularmente la memoria de especie?, etc, por lo que aún es largo el camino por recorrer en este campo.

En el presente trabajo se trató de disipar una de tantas interrogantes que se presentan en el campo de la memoria. El objetivo de nuestro grupo de trabajo es investigar la participación que tienen las hormonas, específicamente las hormonas glucocorticoides, en la memoria. Basándonos, como veremos más adelante, en trabajos previos podemos guiar nuestros pasos hacia la respuesta a nuestra interrogante “¿se encuentran los glucocorticoides en el estriado participando en la memoria de procedimiento en el laberinto acuático de Morris?” Es esencial el seguimiento de todos los conocimientos que nos han heredado nuestros antecesores para trabajar con base en ellos e intentar responder las nuevas incógnitas, así pues nuestra finalidad última es la de poder aportar nuevo conocimiento a este campo de la investigación.

## **II. ANTECEDENTES GENERALES**

### **A. Aprendizaje**

Los aprendizajes se pueden agrupar en dos tipos principales:

#### 1. Aprendizaje asociativo

El aprendizaje asociativo se denomina así porque implica al aprendizaje de asociaciones entre eventos, ya sea un estímulo y una respuesta, una respuesta y su consecuencia o entre dos o más estímulos. A este tipo de aprendizaje se le clasifica en: condicionamiento pavloviano y condicionamiento instrumental u operante.

##### a. Condicionamiento clásico o pavloviano

Este tipo de aprendizaje fue descrito por el fisiólogo ruso Pavlov, quien realizó experimentos en los cuales un estímulo neutro antecedió a un estímulo que por sí mismo provocaba una respuesta. Después de varias repeticiones el estímulo neutro se convertía en un estímulo que condicionaba por sí solo una respuesta. Pavlov estudió perros a los cuales exponía al sonido de una campana (estímulo condicionado), posteriormente se les daba una ración de comida (estímulo incondicionado), la cual por sí sola provocaba la salivación (respuesta incondicionada). Después de varias repeticiones, el sonido de la campana, sin la presencia de comida, provocaba la salivación del perro, es decir, la respuesta condicionada (Pavlov, 1927). En la Figura 1 se ejemplifica el condicionamiento clásico.

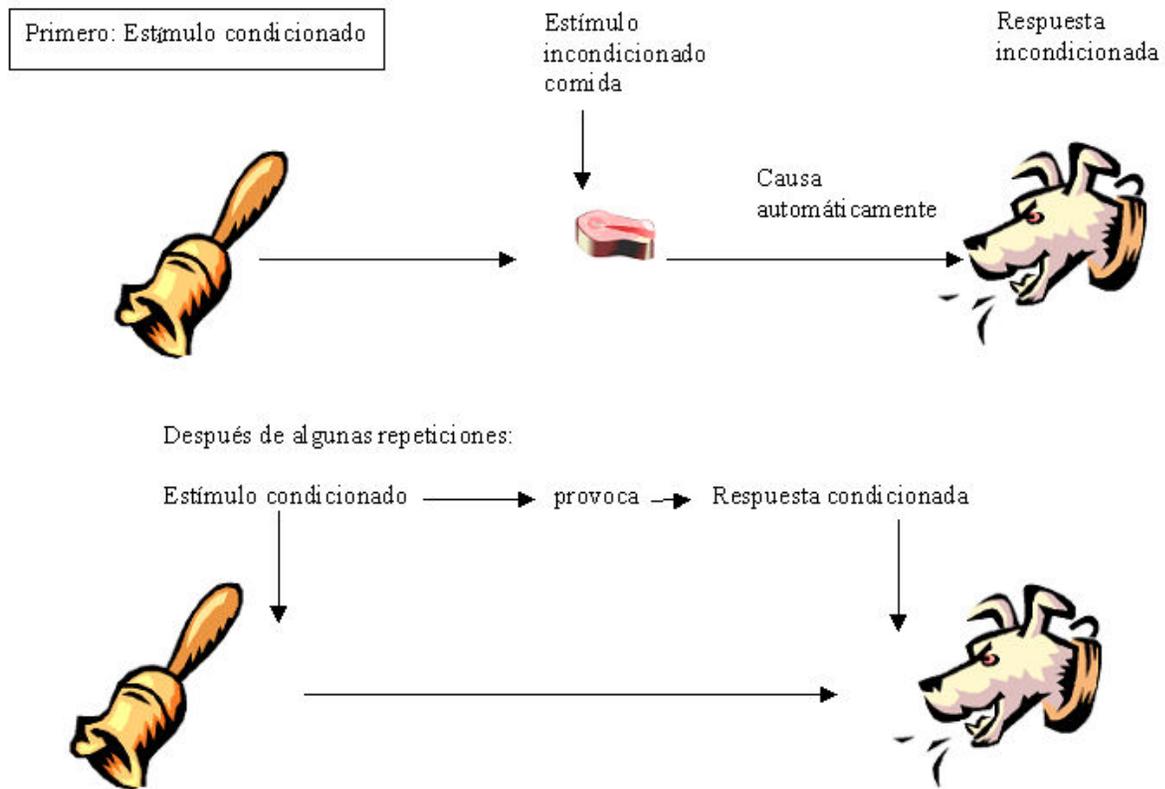


Figura 1. Aquí se representa el condicionamiento clásico, en el experimento que ideó Pavlov; se esquematizan los diferentes estímulos y las diferentes respuestas (modificado de Kalat, 1995).

#### b. Condicionamiento instrumental u operante

Por su parte Edward L. Thorndike describió el condicionamiento instrumental, en el cual se forma una asociación entre la conducta y sus consecuencias. Un ejemplo claro es aquel en donde se coloca a un gato en una caja con una palanca, la cual está conectada para liberar comida cuando es activada; después de varias repeticiones el gato aprende a obtener comida presionando la palanca (Figura 2). Este es un típico caso de aprendizaje con un reforzador positivo, pero también existen paradigmas en donde la consecuencia es un castigo (Thorndike, 1911).

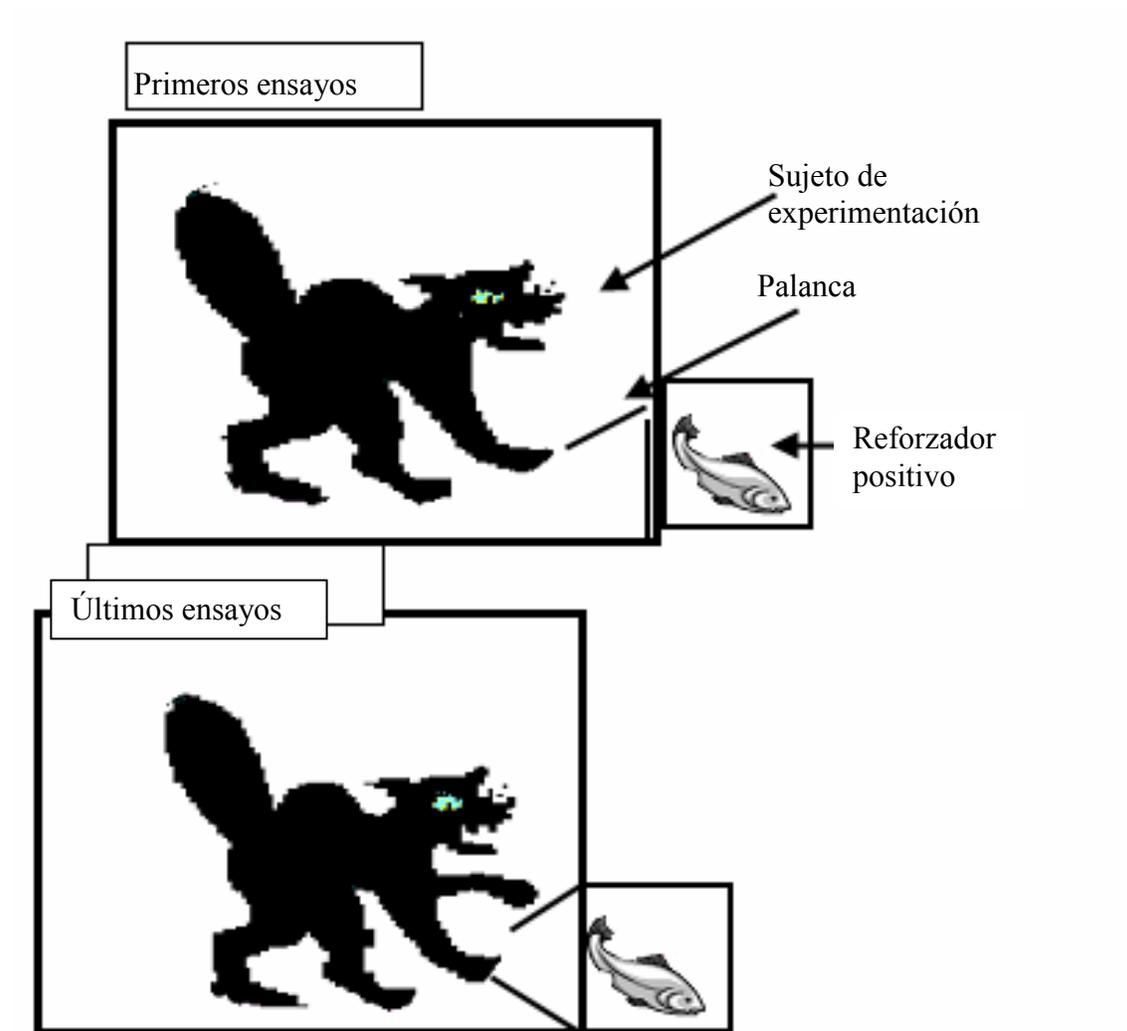


Figura 2. Se esquematiza el condicionamiento instrumental, en donde al sujeto después de varias sesiones aprende a presionar una palanca para que pueda obtener un reforzador positivo.

## 2. Aprendizaje no asociativo

El aprendizaje no asociativo implica experiencia con un sólo estímulo o con dos estímulos que no tienen necesariamente una relación temporal y se ha clasificado en habituación y sensibilización.

#### a. Habituaación

Se define a la habituaación como una disminuaación gradual de una respuesta ante un estímulo repetitivo, que no es de importancia para el sujeto. Esta disminuaación no puede ser atribuida a una adaptaaación sensorial o a fatiga motora. Este aprendizaje sigue algunas reglas como lo son: cuanto más débil sea el estímulo, más rápidamente disminuye la amplitud de la respuesta, y que si el estímulo no se presenta durante un período de tiempo suficientemente grande, la respuesta se recupera espontáneamente. Se sabe que en este tipo de aprendizaje existe participación del sistema nervioso aún cuando éste sea muy rudimentario, por ejemplo en algunos moluscos esto se debe a un decremento en la liberación de algunos neurotransmisores en la célula presináptica (Kandel y Castellucci, 1974).

#### b. Sensibilización

Se puede definir a la sensibilización como el incremento de una respuesta a un estímulo, cuando éste es precedido por otro estímulo relativamente intenso, dado por un aumento en la liberación de neurotransmisores en la membrana presináptica (Squire y Kandel, 1999).

### **B. Memoria**

El proceso de memoria ha sido clásicamente dividido en las siguientes fases 1) adquisición, siendo esta fase la primera confrontación con una experiencia, 2) retención, la cual consiste en el almacenamiento de la información y conlleva a modificaciones en el sistema nervioso (consolidación), 3) evocación, la cual se refiere a la recuperación de la información. 4) extinción, en la cual se va reduciendo la magnitud de la respuesta (Kalat, 1995; Prado-Alcalá, 1991). Algunos investigadores han tratado de clasificar a la memoria en diversas categorías, de acuerdo a su contenido (explícita e implícita) o de acuerdo a su duración; esta última clasificación es la más aceptada y fue propuesta por Donald Hebb en 1949, en la que se divide la memoria en memoria de corto plazo y memoria de largo plazo (Kalat, 1995).

#### 1. Memoria de corto plazo (MCP)

Se define a la memoria de corto plazo como aquella información de sucesos que acaban de ocurrir y que su almacenamiento dura minutos. Este tipo de memoria se estudió en primera instancia en humanos en forma de interrogatorio, como por ejemplo pedirle al sujeto “repita estos dígitos”, “vea los objetos de la mesa y diga cuáles eran y cómo estaban”, etc. (Kalat, 1995; Squire, 1997).

## 2. Memoria de largo plazo (MLP)

La memoria de largo plazo es aquella información cuyo almacenamiento perdura por días, meses o incluso años. Este es el tipo de memoria que nos permite recordar cuál fue nuestra maestra en segundo año de primaria, o qué materias se impartieron el semestre pasado (Kalat, 1995; Squire, 1997).

Se ha hablado mucho sobre el almacenamiento de ambos tipos de memoria. Waugh y Norman (1965), emplean el término de memoria primaria para describir el sistema de almacenamiento de la memoria de corto plazo y memoria secundaria para el almacenamiento de la de largo plazo (Waugh y Norman, 1965). Por su parte Atkinson y Shiffrin (1968) acuñaron los términos de almacén de corto plazo y almacén de largo plazo. De cualquier modo, se puede decir que la memoria primaria o el almacén de corto plazo posee una capacidad de almacenamiento limitada, pero una entrada y una recuperación relativamente rápida, mientras que la memoria secundaria, o almacén de largo plazo, tiene una capacidad enorme, pero tiende a ser más lenta para registrar y recuperar información. Además, para tratar de explicar la forma en que estas dos memorias se almacenan, Atkinson y Shiffrin proponen la existencia de un modelo modal, el cual supone que la información es procesada primero en paralelo en una serie de almacenes sensoriales muy breves. Estos transmiten la información al almacén de corto plazo de capacidad limitada, el cual se comunica a su vez con un almacén de largo plazo (Atkinson y Shiffrin, 1968) (Figura 3)

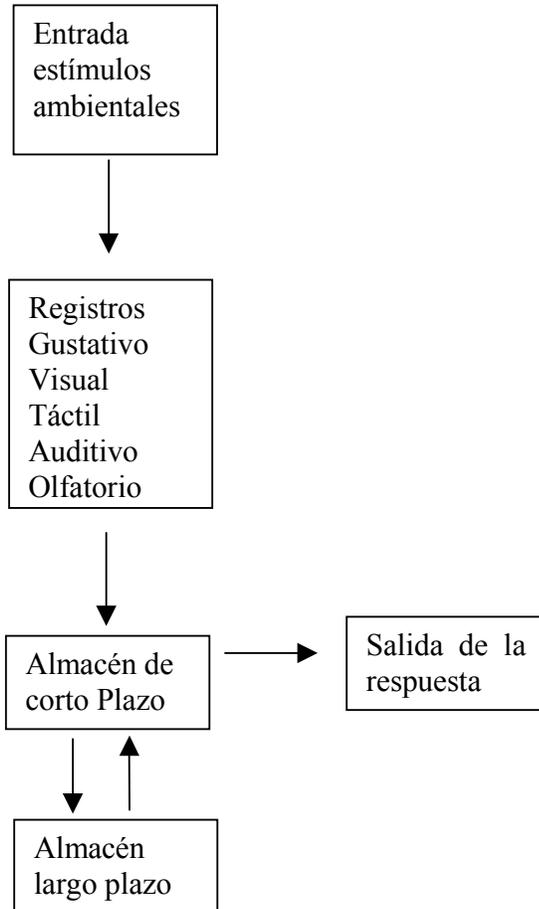


Figura 3. El flujo de información a través del sistema de almacenamiento de la memoria, tal como lo concebían Atkinson y Shiffrin (1968).

Esta propuesta fue poco a poco perdiendo fundamentos, ya que se han descrito experimentos en los cuales se bloqueaba la memoria de corto plazo sin encontrar deficiencias en la memoria de largo plazo, Emptage y Carew fueron de los pioneros en demostrar esta separación cuando en 1993 demostraron que con ciproheptadina (un antagonista de la serotonina) se podía bloquear la respuesta monosináptica de la *Aplysia* inducida por serotonina al probarla a los 2-6 minutos, pero se mantenía la facilitación a las 24 horas (Emptage y Carew, 1993). Se ha encontrado una relación diferente entre las estructuras relacionadas con la memoria de largo plazo y las de corto plazo, así como una diferente modulación también para cada una de ellas (Izquierdo, Medina, Vianna, Izquierdo y Barros, 1999).

### 3. Memoria de procedimiento

Esta memoria es aquella que no requiere la adquisición de un evento específico, y que se puede estudiar cuando se le pide al sujeto que realice alguna actividad previamente aprendida, como por ejemplo, montar bicicleta o abrocharse las agujetas. Esta memoria no se encuentra afectada por la amnesia, ya que se ha encontrado que pacientes con amnesia pueden aprender y recordar nuevas acciones motoras (Cohen y Squire, 1980). También se ha observado que estos pacientes mantienen aún el efecto “priming”, el cual se refiere a la facilitación para completar una palabra con la primera sílaba de ella, luego de la exposición de estas palabras dentro de un texto que el sujeto leyó (Graf, Squire y Mandler, 1984; Shimamura, 1986).

### 4. Memoria declarativa

Son todos los conocimientos puntuales que vamos adquiriendo a lo largo de la vida por experiencias y aprendizaje, conocimientos que pueden ser potencialmente declarados; esto es traerlo de la mente a la palabra o como una imagen mental. Es la memoria para eventos, actos, palabras, música, caras, etc. Este tipo de memoria es afectado por la amnesia (Squire y Kandel, 1999). Esta memoria puede ser de tipo semántica la que se refiere al conocimiento del mundo y episódica que se refiere a datos autobiográficos.

La memoria declarativa y la de procedimiento reflejan diferentes representaciones y no pueden ser sustituidas por otras, por lo que se propone que estos dos tipos de memoria se ven involucrados en diferentes procesos que son mediados por diferentes estructuras como se muestra en la Figura 4 (Thompson y Kim, 1996).

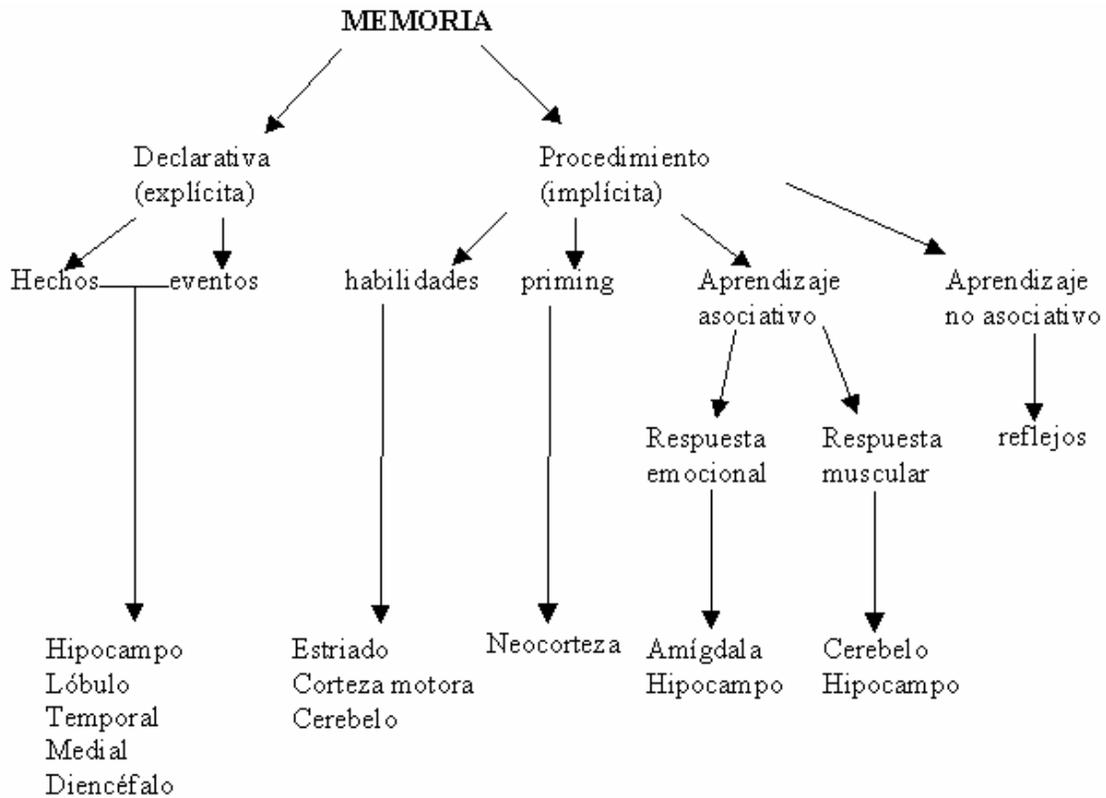


Figura 4. Modelo que proponen Thompson y Kim (1996) para explicar las posibles estructuras que se hallan involucradas en los procesos de memoria explícita e implícita.

### 5. Memoria espacial

Nos referimos a la memoria espacial como aquella con la cual realizamos mapas mentales para ubicarnos en el espacio y guiarnos a través de un lugar determinado y forma parte de la memoria declarativa, ya que podemos formar una imagen mental del mapa que se utiliza (Squire y Kandel, 1999).

Antes de profundizar en la memoria espacial debemos referirnos al famoso caso del paciente H.M., quien en los años sesentas dio pauta para innumerables estudios acerca de la memoria. Al paciente H.M. le fue removida quirúrgicamente una porción del hipocampo; a raíz de dicha operación ha sido incapaz de almacenar nueva memoria declarativa, sin embargo su memoria de procedimiento permanece intacta. Dado este antecedente algunos investigadores se dieron a la tarea de encontrar el papel que juega el hipocampo en la memoria. Entre estas investigaciones se estudió la memoria espacial como parte de la memoria declarativa. En 1976 Olton y Samuelson diseñaron el laberinto radial de 8 brazos en el que la rata aprendía a discriminar los brazos donde

había tenido un reforzador positivo, de los que estaban vacíos (Figura 5); ellos encontraron que cuando lesionaban el hipocampo, el desempeño de las ratas decaía (Olton y Samuelson, 1976). Después, en 1982, Morris crea el laberinto acuático, en el cual también se observó deterioro en el desempeño de las ratas con lesiones en hipocampo (Wenk, 1997). Por su parte, O'Keefe y Dostrovsky, en 1971, describieron lo que llamaron *células de lugar*; ellos colocaron electrodos en ratas para el registro de descargas en neuronas hipocámpicas, encontrando que algunas de ellas mostraban una elevada tasa de actividad sólo cuando la rata se encontraba en una localización determinada (O'Keefe y Dostrovsky, 1971). Este estudio sirvió como referencia a un estudio posterior donde observaron que las diferentes neuronas tenían diferentes campos receptores espaciales, es decir respondían cuando los animales estaban en localizaciones diferentes (Carlson, 1998).



Figura 5. El laberinto radial de ocho brazos es una de las herramientas más utilizadas para el estudio de la memoria espacial (imagen tomada de internet [www.lintoninst.co.uk/mazes.htm](http://www.lintoninst.co.uk/mazes.htm)).

Al parecer, existen estructuras que regulan al hipocampo en la función que realiza para la memoria espacial. Se ha encontrado que en la corteza entorrinal se encuentran también *células de lugar*, aunque no se encuentran tan bien definidas como lo están en el hipocampo y las lesiones en la corteza entorrinal deterioran la capacidad de navegación de las ratas, y a su vez alteran los campos receptores de las células de lugar del hipocampo (Quirk, Muller, Kubie y Ranck, 1992). Así también se ha encontrado que la amígdala tiene un papel modulador sobre el hipocampo en la memoria espacial (McDonald y White, 1993; Packard, Cahill y McGaugh, 1994; Packard y Teather, 1998). También se ha observado una interacción en la memoria espacial con algunas

regiones de la corteza cerebral, como lo son la corteza parietal (Husain et al., 2001), la corteza temporal (O'Connell et al., 1997) y la corteza insular (Bermúdez-Rattoni, Introini-Collison y McGaugh, 1991; Nerad, Ramirez-Amaya, Ormsby y Bermúdez-Rattoni, 1996), y también con el núcleo accumbens (Ploeger, Spruijt y Cools, 1994) y con el estriado (Block, Kunkel y Schwarz, 1993).

### **C. El Laberinto Acuático**

Los laberintos han sido utilizados como poderosas herramientas para el estudio de la memoria y el aprendizaje. Entre los laberintos que se utilizan para el estudio de la memoria, se encuentra el laberinto acuático de Morris (LAM) diseñado por él hace 20 años, el cual ha tenido muchos nombres como lo son: piscina de nado de Morris, laberinto de Morris, laberinto acuático, laberinto de nado y tanque de navegación espacial (D'Hooge y de Deyn, 2001).

El laberinto acuático es la prueba más usada en el estudio de la memoria espacial. Encontramos en el laberinto acuático el procedimiento de uso clásico para medir la memoria espacial (declarativa), y dos procedimientos modificados, una para la memoria espacial de corto plazo, y otra de aprendizaje no espacial o de discriminación visual (procedimiento). Estos procedimientos están basados en la aversión que tienen los roedores al agua, la cual se usa como estímulo aversivo que induce el escape y la memoria del espacio en el que fueron confinados. Los aparatos que comúnmente se utilizan para esta tarea son: una piscina circular, plataforma, lámparas para regular la iluminación, cámara de video, videgrabadora, un analizador de imagen, un monitor de video y una computadora como se muestra en la Figura 6 (Buccafusco, 2001).

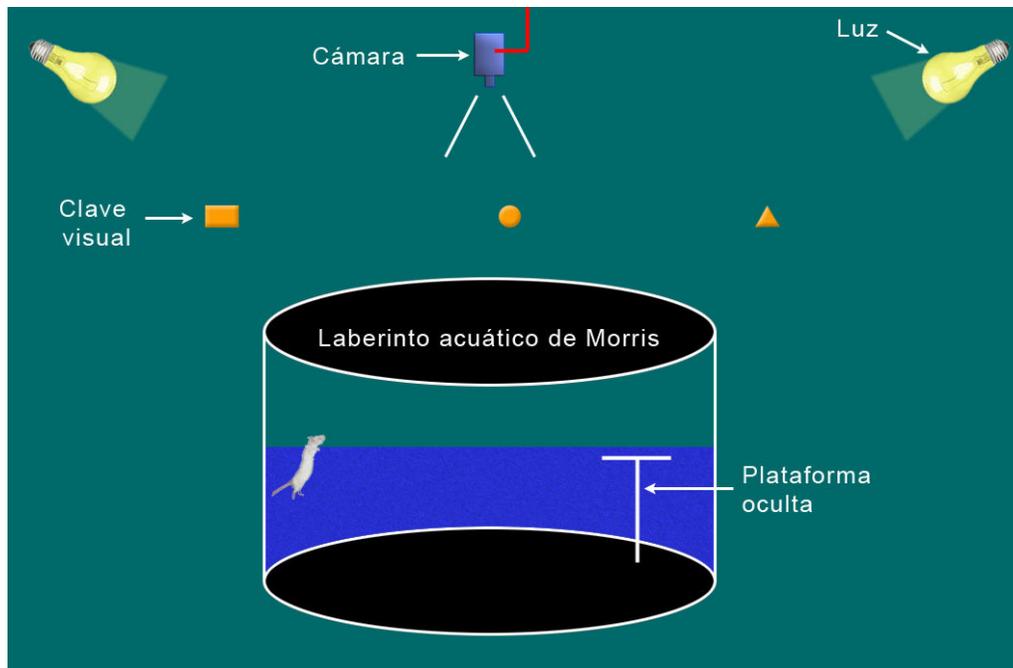


Figura 6. Esquema del laberinto acuático donde se muestran sus componentes principales, una piscina que puede ser de tamaño variable según la especie y la edad del sujeto a entrenar, y un aparato de video el cual es conectado a una computadora.

Se sabe que los sujetos sometidos a esta tarea pueden utilizar tres tipos de estrategia para el aprendizaje 1) estrategia “praxis” es aquella en donde una secuencia de movimientos les permite llegar a la plataforma, 2) estrategia “taxis” o “taxón” donde usan una señal proximal a la plataforma para poder llegar a ella, 3) estrategia “espacial” o “mapa” en donde la información acerca de la localización de la plataforma es dada por la configuración de señales distintas dando como resultado un mapa mental.

## 1. Los neurotransmisores y la tarea de laberinto acuático

### a. Dopamina

Se han realizado diferentes experimentos diseñados para estudiar el papel que tiene el sistema dopaminérgico en el desempeño del laberinto acuático, utilizando como sujeto experimental a la rata. Por ejemplo, se les inyectó sustancias neurotóxicas para células dopaminérgicas (MPTP y 6-OHDA) y lo que encontraron fue que al inyectar MPTP en la sustancia nigra compacta (SNc) se produjo un deterioro en la memoria de procedimiento y en la memoria de trabajo, pero no así en

la espacial, y cuando se administró 6-OHDA en la misma estructura se encontró deterioro tanto en memoria de procedimiento como en la memoria espacial (Da Cunha et al., 2003; Miyoshi et al., 2002; Mura y Feldon, 2003; Whishaw y Dunnett, 1985). También algunos grupos de trabajo administraron diversos antagonistas dopaminérgicos. Cuando se administró haloperidol, ziprasidona, olanzapina por vía subcutánea, y risperidone o clozapina por vía oral se encontró deterioro en la memoria espacial (Skarsfeldt, 1996; Terry et al., 2003); al administrarse supiride (antagonista D2) intracaudalmente se encontró disminución en la memoria espacial (Setlow y McGaugh, 1999). La administración de agonistas, como la apomorfina y la metanfetamina, por vía intraventricular y nigroestriatal, después del entrenamiento produjo deterioro tanto en la versión de plataforma visible como en la oculta (Whishaw y Dunnett, 1985).

#### b. GABA

En lo que respecta a GABA los resultados son controversiales. Uno de los experimentos demostró que bajando los niveles de GABA en el sistema estriado palidal se produce un déficit en la ejecución del laberinto acuático en su modalidad de plataforma visible y que cuando se recobran los niveles de GABA entonces el deterioro desaparece (Aihara, Mizukawa, Koide, Mabe y Nishino, 1994). Por otro lado, cuando se administra intraperitonealmente un bloqueador de la recaptura de GABA (NNC-711) se encontró una mejoría en el desempeño del laberinto acuático (O'Connell et al., 2001); cuando se han administrado antagonistas como el flumazenil y el ZK 93426 sólo se encontró facilitación en la retención. Cuando se administran intraperitonealmente agonistas como el diazepam se ha encontrado que deterioran tanto la adquisición como la retención, mientras que el muscimol produce una dependencia de estado (McNamara y Skelton, 1992; Nakagawa, Ishibashi, Yoshii y Tagashira, 1995; O'Dell, Gibson, Wilson, DeFord y Hamm, 2000).

#### c. Noradrenalina

Se han estudiado ratones mutantes que presentan depleción del sistema noradrenérgico, que tienen un deterioro en el desempeño de la tarea de laberinto acuático al ser comparados con sujetos silvestres; sin embargo, el deterioro se revierte cuando se normalizan los niveles de noradrenalina (Kobayashi y Kobayashi, 2001). Por otra parte, lesiones cerebrales con el neurotóxico 6-OHDA, producen deterioro de la adquisición, no así con DSP-4 (Selden, Cole, Everitt y Robbins, 1990; Sirvio, Lahtinen, Riekkinen y Riekkinen, 1994). También se ha

experimentado con antagonistas noradrenérgicos administrados en el núcleo basolateral de la amígdala como el propranolol, y se encontró un deterioro en el desempeño de la tarea, mientras que la administración directa de norepinefrina produjo una mejoría (Hatfield y McGaugh, 1999).

#### d. Serotonina

En este campo el estudio se ha enfocado más a la inhibición del sistema serotoninérgico que a su activación. Por ejemplo, se administraron intraperitonealmente inhibidores de la recaptura, como lo son el citalopam y la fluoxetina, y se encontró que tienen un deterioro en el desempeño de la tarea de laberinto acuático (Majlessi y Naghdi, 2002). Se ha probado la administración vía oral de múltiples antagonistas (SB-357134-A, SB-271046, Ro04-6790, Ro63-0563), y se encontró una mejoría en el desempeño de las tareas de miedo condicionado y laberinto acuático (Lindner et al., 2003; Rogers y Hagan, 2001; Russell y Dias, 2002; Woolley, Bentley, Sleight, Marsden y Fone, 2001). El agonista a los receptores 5HT<sub>1A</sub>, 8-OH-DPAT, administrado en el septum produjo un deterioro en la adquisición y en la prueba de transferencia de la memoria espacial en una tarea de laberinto acuático (Bertrand, Lehmann, Lazarus, Jeltsch y Cassel, 2000).

#### e. Acetilcolina

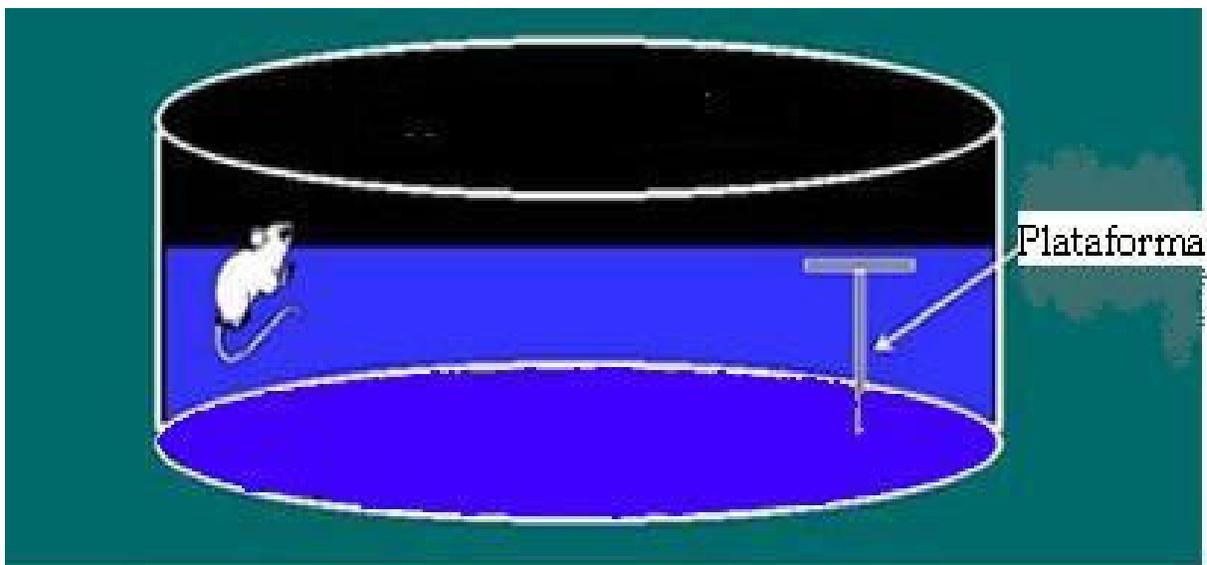
En cuanto al papel que juega este neurotransmisor en la ejecución del laberinto acuático, se han realizado variados experimentos. En uno de ellos se redujeron drásticamente los niveles de acetilcolina en el estriado y no se encontraron deficiencias en la retención de la tarea (Kitabatake, Hikida, Watanabe, Pastan y Nakanishi, 2003). En contraste, la administración de neurotóxicos; ácido iboténico en el núcleo basal magnocelular y de saporina en los ventrículos produjo un deterioro severo de la memoria de la tarea de laberinto acuático (Berger-Sweeney et al., 2001; Nieto-Escámez, Sanchez-Santed y de Bruin, 2002).

Existe una abundante literatura, en la que se muestra que al bloquear farmacológicamente los receptores colinérgicos muscarínicos (vía intraperitoneal) con atropina o escopolamina y al bloquear los receptores nicotínicos intraestriatalmente con methoctramina, al igual que en otras tareas se induce un deterioro en el desempeño del laberinto acuático (Kikusui, Tonohiro y Kaneko, 1999; Lazaris, Cassel, Stemmelin, Cassel y Kelche, 2003; Nieto-Escámez et al., 2002; Prado-Alcalá y Quirarte, 1993; Steckler y Holsboer, 2001; Whishaw y Petrie, 1988).

## 2. Procedimiento clásico del LAM

Este procedimiento consiste en dejar nadar libremente a la rata en la piscina, colocando en los muros del cuarto de experimentación señales visibles que puedan servir de guía, se coloca una plataforma oculta en un cuadrante escogido previamente y se realizan varios ensayos sin mover la plataforma de lugar. Para este procedimiento el animal emplea lo que es llamado una “estrategia de lugar” correlacionando las señales fuera del laberinto para la localización de la plataforma (Baldi, Lorenzini y Bucherelli, 2003).

Las ratas comienzan a nadar cerca de la pared y es muy frecuente que no encuentren la plataforma por ellas mismas durante los primeros ensayos; de cualquier forma eventualmente nadan directo a la zona del cuadrante de la plataforma. Generalmente toma pocos ensayos para que el animal aprenda el lugar donde se localiza la plataforma de escape, hasta que nadan directo a ella. Este protocolo también es conocido como de navegación y esto deriva del hecho de que los animales aprenden a navegar de un lugar a otro de la piscina (Figura 7).



### **Laberinto acuático plataforma oculta**

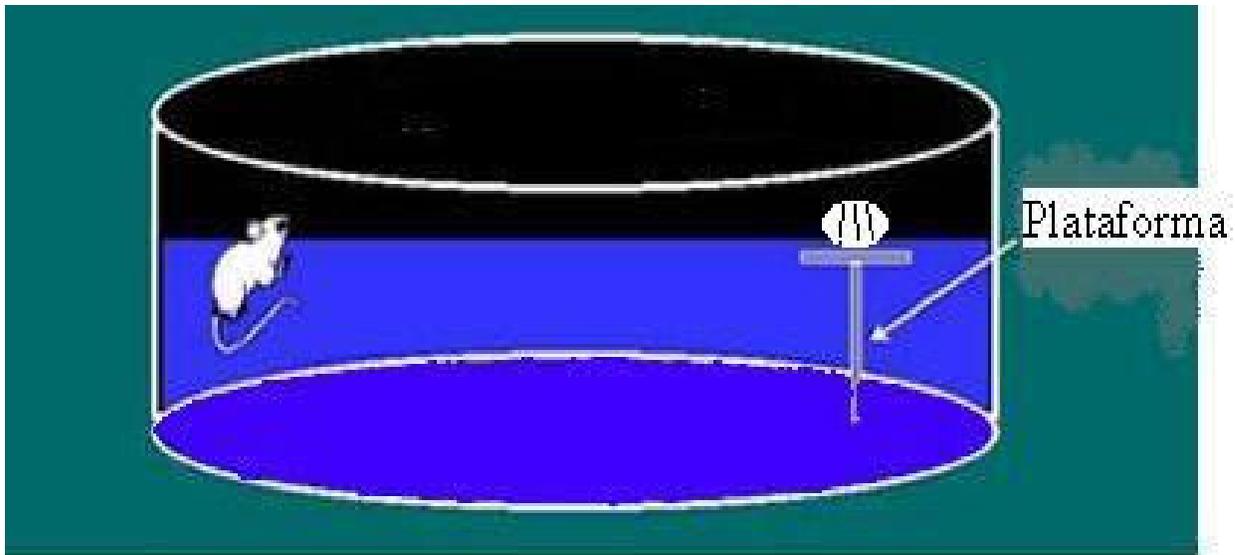
Figura 7. Laberinto acuático con plataforma oculta, la cual normalmente se mantiene entre 1.5 y 2 cm por debajo de la superficie, el agua puede o no opacificarse (imagen modificada de [www.mcg.edu/core/Labs/sabc/Morriswatermaze.htm](http://www.mcg.edu/core/Labs/sabc/Morriswatermaze.htm)).

### 3. Memoria espacial de corto plazo

Esta es una variante para el protocolo de memoria espacial y provee una manera de investigar la memoria espacial de corto plazo independiente de la memoria de largo plazo. En esta variante, la plataforma oculta es puesta en una localización diferente de la piscina cada día. Los análisis de datos se enfocan en el desarrollo entre el primero y segundo ensayo de cada día. El animal requiere demostrar la memoria de una localización simple en el cual el escape es más factible en el ensayo 1 ó en los siguientes ensayos inmediatos. Se utilizan normalmente 4 ensayos por sesión diaria por un periodo de 5 a 10 días.

### 4. Memoria no espacial

Este protocolo se utiliza para la memoria no espacial y también es llamado de discriminación visual, de señalización o de procedimiento. En este procedimiento la plataforma oculta es reemplazada por una plataforma con una señal visible, que puede ser una pelota o una bandera (Figura 8); también existe en este procedimiento la opción de colocar dos plataformas visibles con señales distintas; una de ellas se encuentra con soporte y la otra se encuentra flotante, las plataformas se cambian en cada ensayo, y aquí la rata aprende la señal de plataforma con la que puede evitar el estímulo aversivo (Sahgal, 1993).



## Laberinto acuático plataforma visible

Figura 8. Esquema que representa el laberinto acuático con plataforma visible, en la cual la plataforma puede permanecer por debajo de la superficie con una señalización por encima de ella (imagen modificada de [www.mcg.edu/core/Labs/sabc/Morriswatermaze.htm](http://www.mcg.edu/core/Labs/sabc/Morriswatermaze.htm)).

### D. Ganglios Basales

Originalmente los ganglios basales fueron descritos como un grupo de núcleos del telencéfalo que incluían el núcleo caudado, putamen, globo pálido, claustró y amígdala, pero desde hace algún tiempo la amígdala ha sido reasignada al sistema límbico. Los núcleos subtalámicos han sido añadidos al grupo, la sustancia negra (compacta y reticulada), el área ventral tegmental (núcleo mesencefálico) y el núcleo del pedúnculo pontino tegmental, fueron añadidos más tarde.

El putamen y el globo pálido son llamados en su conjunto núcleo lentiforme o lenticular (Clark y Boutros, 1999). Debemos hacer referencia a que la neuroanatomía de los primates y los roedores difiere, como observamos en las Figuras 9 y 10 en las que podemos ver que en el humano, el caudado y el putamen se encuentran separados por la cápsula interna, mientras que en la rata se encuentran sin esta separación, por lo que siempre que se refieren a estriado se refieren a la unión caudado-putamen.

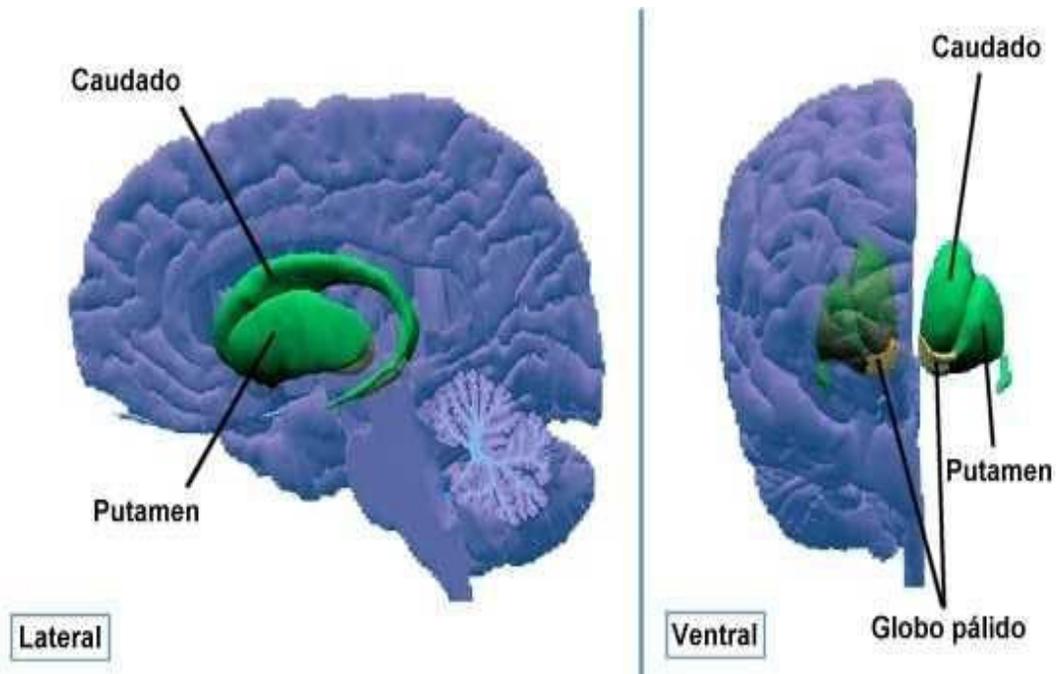


Figura 9. Imagen que muestra la anatomía del estriado y putamen en el humano (imagen tomada de [www.psicoadictiva.com/atlas/estriado.htm](http://www.psicoadictiva.com/atlas/estriado.htm)).

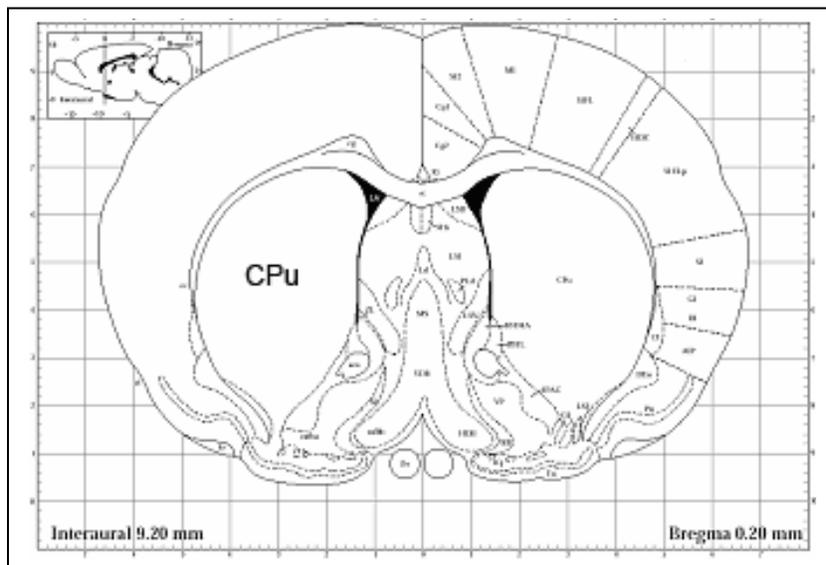


Figura 10. Imagen tomada del Atlas de Paxinos y Watson, 1986, que muestra la localización del neostriado de la rata (CPu).

Los ganglios basales se han dividido en las regiones ventral y dorsal como se aprecia en la Tabla 1.

DIVISION	COMPLEJO PALIDAL		COMPLEJO ESTRIATAL
División dorsal	Paleoestriado	Primates: Globo pálido externo.	Neoestriado (núcleo caudado y putamen)
		No primates: Globo Pálido.	
División ventral	Paleoestriado (sustancia innominata)	Primates: Globo pálido interno	Neoestriado (núcleo acumbens y tubérculo olfatorio)
		No primates: Núcleo entopeduncular.	

Tabla 1. En donde se observa la división de ganglios basales, en dorsal y ventral (Clark y Boutros, 1999; Marín, Smeets y Gonzalez, 1998).

## 1. Topografía

El núcleo lenticular tiene la forma de una cuña de esfera. El putamen (del latín para la cáscara) que tiene aproximadamente la extensión de la ínsula, forma la porción más externa de esta cuña. Está separado por el globo pálido, más medial, por una lámina medular lateral fina de fibras mielinizadas. El globo pálido está, a su vez, dividido en sus porciones medial y lateral (o interna y externa) por una lámina medular medial. El núcleo caudado del adulto (Figura 11) posee una cabeza de mayor tamaño que sobresale hasta el asta anterior; un cuerpo que forma la pared lateral del cuerpo del ventrículo lateral y una cola fina que bordea el asta inferior y que se continua con la amígdala (Nolte, 1994).

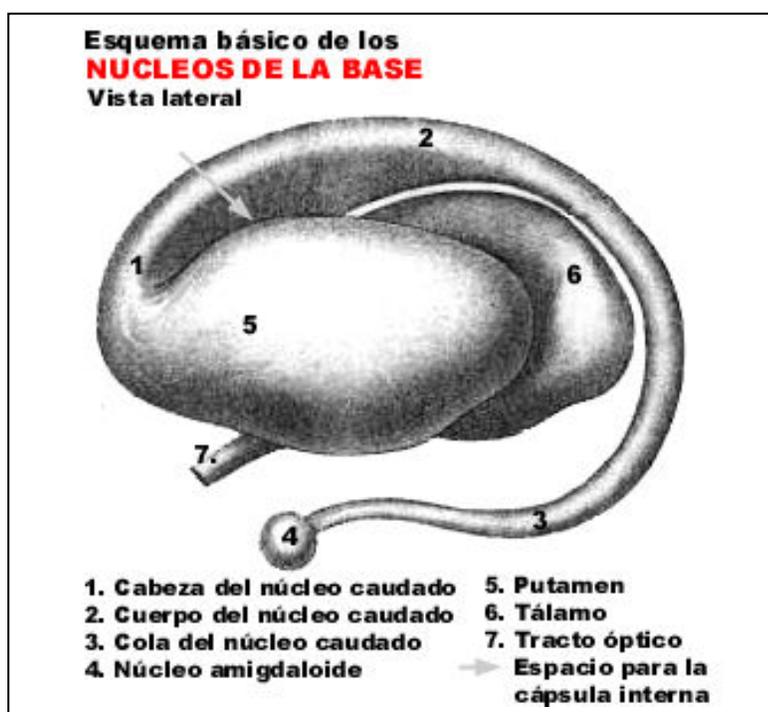


Figura 11. Topografía de los ganglios basales en el humano. Esquema tomado de <http://escuela.med.puc.cl/paginas/cursos/primeroneuroanatomia/cursoenlinea/atlas>

## 2. Desarrollo del estriado

Los periodos de neurogénesis en el neostriado de la rata ocurren principalmente entre el día embrionario 13 (E13) y E12. La mayoría de las neuronas de aparición más temprana son generadas del compartimiento del parche en el día E17 con una distribución homogénea y más tardíamente de la matriz generadas en el día E18; esta población celular no hace conexión ni envía axones, sino hasta después del nacimiento (Fishell y van der Kooy, 1987).

Se ha seguido el desarrollo de las neuronas medianas espinosas, en donde se pueden observar los gradientes que guían el desarrollo. Se ve un gradiente de desarrollo ventrolateral a dorsomedial, por lo tanto se dice que todas las neuronas de las áreas ventrolaterales se originan primero, después de éstas se desarrollan las dorsolaterales y las dorsomediales son las últimas. También existe un gradiente que va de superficial a profundo y el último gradiente dirigido en el eje caudal a rostral (Bayer, 1984).

## 3. Histología de estriado

El estriado está clásicamente dividido en dos compartimientos: el parche y la matriz, los cuales están definidos por sus conexiones, neurotransmisores, enzimas y tipos de receptores. El área de parche puede ser delimitada en el adulto por altos niveles de receptores opiáceos, sustancia P y neurotensina y las aferencias son principalmente de la corteza prefrontal; en tanto que el área de la matriz puede ser identificada por altos niveles de somatostatina, receptores de neurotensina, AchE y terminales talámicas del complejo centromedial parafascicular (Fishell y van der Kooy, 1987).

Existen varios tipos celulares en el estriado; las células más abundantes (hasta en un 90-95%) son las medianas espinosas, que son llamadas también neuronas de proyección. Estas neuronas son por excelencia GABAérgicas, pero también coexpresan péptidos neuroactivos tales como sustancia P, encefalina, dimorfina y neurotensina. Existen también las interneuronas, de estas hay varios tipos que han sido nombradas principalmente por sus propiedades electrofisiológicas, pero cada una de ellas tiene diferente morfología y diferente sensibilidad al marcaje. Se encuentran las de descarga rápida (Fast-spiking, FA); las cuales tienen un disparo corto con un tiempo de hiperpolarización también corto; las de descarga persistente y bajo umbral con una despolarización persistente (Persistent low-threshold spikes, PLTS) y las células de post-hiperpolarización sostenida (long-lasting after hyperpolarization, LA) que tienen potenciales

menos negativos, resistencias de entrada más grandes y una hiperpolarización posterior de mayor duración y mayor amplitud.

En cuanto a su identificación química encontramos que las células LA son inmunoreactivas a la ChAT y liberan acetilcolina, el resto de las interneuronas se consideran GABAérgicas. Las FS son inmunorreactivas a parvoalbumina, las PLTS son diaforasas positivas NADPH y son liberadoras de óxido nítrico, así como también son positivas a somatostatina y al neuropéptido Y. Por último encontramos una clase de interneurona que también es GABAérgica y que es inmunoreactiva a calretinina; para esta última clase de interneurona aún no se conocen sus características electrofisiológicas (Kawaguchi, 1993; Kawaguchi, Wilson, Augood y Emson, 1995).

#### 4. Interconexiones

Aferencias cortico-estriatales. Estas aferencias hacen contacto a través de sinapsis asimétricas, y llevan sus conexiones principalmente a la cabeza distal de las espinas dendríticas de las células medianas espinosas; algunas conexiones provenientes de la corteza de la capa supragranular proyectan principalmente a la matriz y los que vienen de las capas infragranular se proyectan principalmente a la zona de parche.

Aferencias tálamo-estriatales provienen principalmente del núcleo intralaminar y menos abundantemente del núcleo de la línea media y de forma más escasa en los núcleos ventral anterior, ventral lateral, lateroposterior, mediodorsal y núcleo pulvinar. En el núcleo intralaminar, el complejo de núcleos centromedial parafascicular son los que tienen las aferencias más importantes del tálamo hacia el estriado. Estas aferencias tálamo-estriatales hacen un contacto asimétrico principalmente con la parte distal de la dendrita de las células medianas espinosas y liberan principalmente glutamato, pero algunas neuronas también liberan péptidos neuroactivos tales como sustancia P, colecistoquinina, péptido intestinal vasoactivo y calcitonina, y la mayoría de las fibras se dirigen a la matriz.

Las aferencias nigroestriatales, forman sinapsis simétricas con las espinas distales de las dendritas y liberan principalmente dopamina. La dopamina puede también actuar presinápticamente en las fibras corticoestriatales, vía sinápsis axo-axónicas, las terminaciones son guiadas homogéneamente tanto a los parches como a la matriz. Se ha observado que la dopamina juega un importante papel en la regulación de las expresiones de péptido en la célula mediana

espinosa ya que si es destruida la vía nigroestriatal provoca un decremento en el nivel de RNAm que codifica para sustancia P e incrementa el nivel de RNAm que codifica para encefalina.

La aferencia del núcleo medio del rafe forma una sinapsis asimétrica, y su principal neurotransmisor es serotonina (Parent y Hazrati, 1995).

Se han descrito dos vías eferentes principales de los ganglios basales las cuales son llamadas vía directa y vía indirecta, y la activación de la vía directa o indirecta provoca un efecto opuesto funcional en las neuronas blanco de los núcleos de los ganglios basales.

Se observa que en estas vías las neuronas corticoestriatales y las neuronas del núcleo subtalámico son excitatorias utilizando el GABA como neurotransmisor.

## **E. Glucocorticoides**

Los glucocorticoides son hormonas secretadas por la glándula adrenal, órgano endocrino al cual desde el siglo XIX se diferenció en médula y en corteza. La médula, que se considera una parte altamente especializada, produce y secreta principalmente catecolaminas, como la adrenalina y la noradrenalina. La corteza por su parte, tiene a su cargo sintetizar y secretar hormonas esteroideas como lo son el cortisol, la aldosterona, la progesterona y los andrógenos. Podemos agrupar estas hormonas en sexoesteroides (progesterona y andrógenos), mineralocorticoides (aldosterona) y los glucocorticoides (cortisol y corticosterona).

La corteza constituye el 90% del volumen de la glándula y está formada por tres zonas celulares: la externa o glomerular que sintetiza mineralocorticoides, la media o fascicular es la más voluminosa y sus células producen los glucocorticoides, y la interna o reticular que sintetiza los sexoesteroides.

### **1. Biosíntesis**

La vía más conocida para la síntesis de corticoesteroides, también conocida como esteroidogénesis, se inicia con la conversión de colesterol a pregnenolona, la cual es transformada por una serie de procesos enzimáticos hasta llegar a los corticoesteroides biológicamente activos. En la zona fascicular, la conversión de pregnenolona a cortisol requiere de la formación sucesiva de progesterona, 17- $\alpha$  hidroxiprogesterona y 11-desoxicortisol o compuesto S. La formación de cortisol se realiza a expensas del compuesto S, por efecto de una hidroxilasa del carbón 11. La

zona fascicular también es capaz de formar corticosterona (CORT) en pequeñas cantidades. En este caso la progesterona solamente sufre el efecto de la hidroxilasa de los carbonos 11 y 21 (Figura 12).

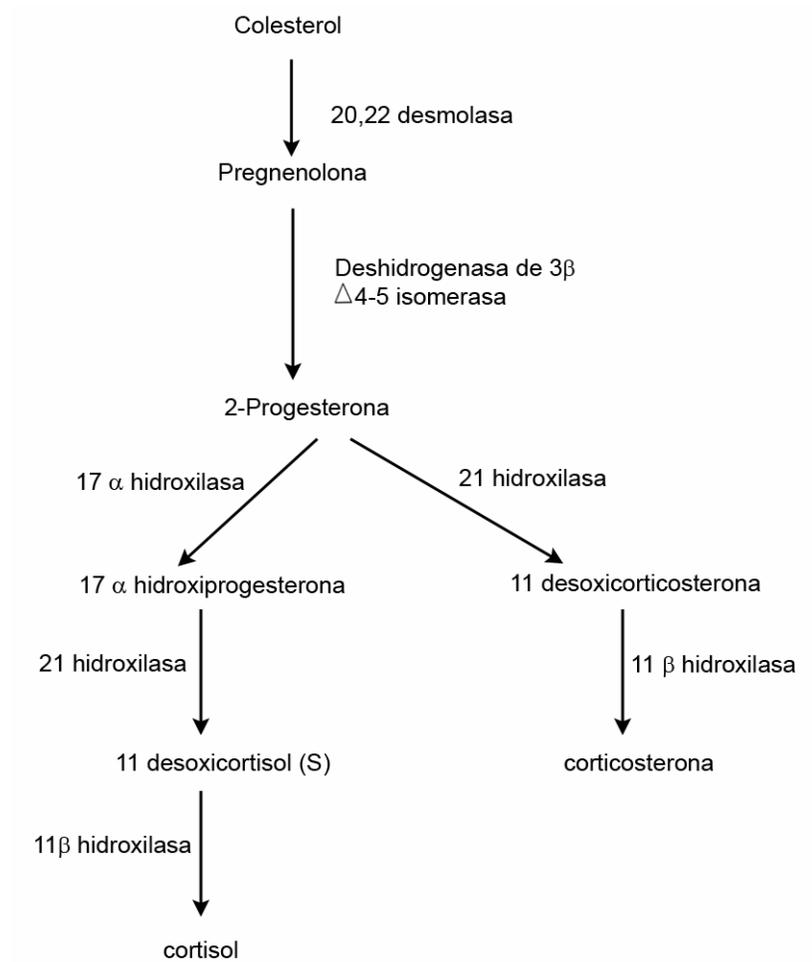


Figura 12. Vía de la biosíntesis de los glucocorticoides en la corteza adrenal.

Los corticosteroides pasan al torrente circulatorio, encontrándose como fracción libre (biológicamente activa), o pueden estar unidas a proteínas transportadoras. Su distribución es la siguiente: 1) libre, 2) la unida a la globulina fijadora de corticosteroides (CBG) o también llamada transcortina, en un 90% y 3) la unida a la albúmina. Su vida media es de 60 a 90 minutos.

## 2. Regulación de la secreción de corticosteroides

Los glucocorticoides son regulados a través del eje hipotálamo-hipófisis-adrenales. En el hipotálamo, en la porción anterior de los núcleos paraventriculares, se produce la hormona liberadora de corticotropina (CRH), la cual pasa a la circulación; la concentración de CRH es mayor en la eminencia media, en el tallo hipofisiario y menor en núcleo supraóptico y en el paraventricular. La CRH estimula la secreción de ACTH mediante su interacción con receptores membranales específicos de las células corticotrópicas de la adenohipófisis y la activación de la adenilato ciclasa que aumenta la síntesis de AMPc intracelular. En la rata, la CRH ejerce también un efecto directo sobre la secreción de somatostatina al estimular a las células corticales e hipotálamicas. Asimismo, tiene un efecto modulador sobre el sistema nervioso autónomo y hace que aumenten rápidamente los niveles de catecolaminas. La ACTH regula el metabolismo de la corteza suprarrenal al unirse a un receptor de membrana, que posee un alto grado de especificidad y afinidad por la hormona. El complejo ACTH-receptor activa en presencia de calcio, la adenilato ciclasa y la producción de AMPc que a su vez activa a la proteinkinasa, enzima compuesta por dos subunidades; una sirve como receptor del AMPc y la otra es una subunidad catalítica. La unión del AMPc disocia estas subunidades; la subunidad catalítica transfiere grupos de fosfato a ciertas proteínas que, una vez fosforiladas, estimulan la esteroidogénesis por la activación de los sistemas enzimáticos que promueven la conversión de colesterol a pregnenolona (Figura 13).

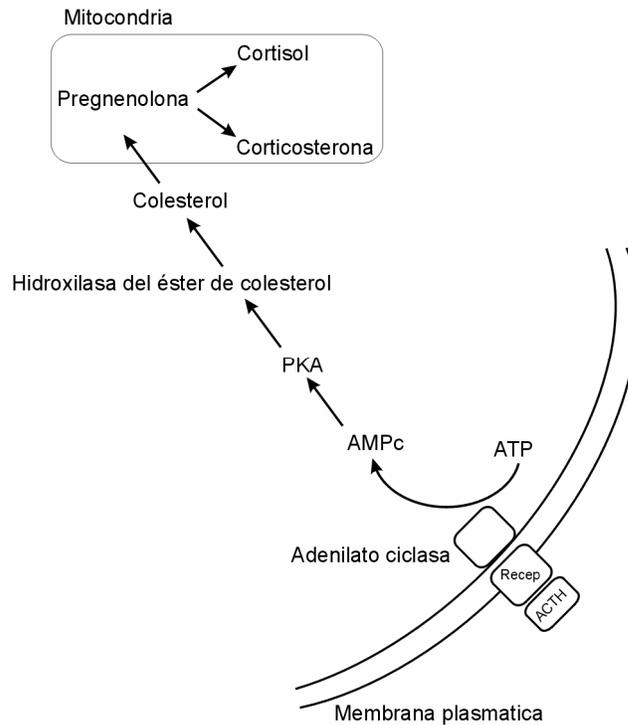


Figura 13. Mecanismo de acción de la ACTH en las células secretoras de cortisol.

Se conoce que el eje hipotálamo–hipófisis-adenales está regulado por una retroalimentación negativa, y que esta retroalimentación opera a tres niveles: inmediata, intermedia y tardía. La inmediata actúa en un tiempo que varía de segundos a minutos. Sus sitios de retroacción son fácilmente saturables y solamente responden a esteroides cuya estructura contiene un grupo hidroxilo en la posición 11 ó 21. Este mecanismo inhibe la liberación de CRH pero no su síntesis, ya que el contenido hipotálamico aumenta o permanece sin cambios.

El mecanismo de retroalimentación intermedia resulta de la exposición a corticosteroides por periodos de 2 a 10 horas. Este mecanismo inhibe la liberación de ACTH pero no su síntesis. El mecanismo de retroacción tardío opera cuando existe exposición a concentraciones elevadas de corticosteroides o cuando la exposición es prolongada y requiere de un tiempo mayor para instalarse, generalmente más de 24 hr. El mecanismo de retroalimentación positiva para la liberación de ACTH, se hace aparente cuando disminuyen bruscamente los niveles sanguíneos de corticosteroides.

Cuando el individuo se enfrenta a situaciones que amenazan su integridad (estrés), sean físicas o psíquicas, aumenta la actividad del sistema simpático (“reacción de alarma o de lucha-huida”). La reacción de alarma es la fase inicial de una respuesta general mediante la cual se adaptan los mecanismos fisiológicos a las nuevas demandas. Junto con la activación simpática ocurre un aumento brusco de la secreción de ACTH y, por consiguiente, de los niveles circulantes de glucocorticoides. La secreción de ACTH estimulada por el estrés es inhibida por mecanismos de autorregulación tempranos y tardíos. Los primeros actúan segundos después de que aumenta la concentración de esteroides y desaparecen en aproximadamente 30 minutos; los segundos se instalan 90 a 120 minutos después. El mecanismo de retroalimentación también actúa en respuesta al estrés crónico, situación en la que disminuye la sensibilidad (desensibilización) de la unidad hipotálamo-hipofisiaria; esta disminución es producida por los elevados niveles de corticosteroides circulantes. Como resultado de la desensibilización los corticoesteroides pueden permanecer elevados durante el estrés prolongado.

### 3. Ritmos de secreción

En el ser humano se describió un ritmo circadiano para la secreción de cortisol desde hace más de 30 años. Este ritmo se caracteriza por un aumento en la secreción que se inicia en la madrugada, alcanzando su máximo nivel durante el día, disminuye paulatinamente durante el periodo vespertino y desciende a valores mínimos durante la noche. Existe además una secreción pulsátil de corticosteroides y ACTH con descargas que suceden cada tres horas; estas descargas son más frecuentes durante el aumento circadiano, ya que durante el resto del día son más espaciadas y de magnitud menor. En la sincronización de la secreción con el periodo diurno interviene una vía neuronal que se inicia en la retina y termina en el núcleo supraquiasmático del hipotálamo (Greenspan, 1993).

### 4. Fisiología

Los glucocorticoides están particularmente involucrados en el metabolismo energético reacciones de defensa (estrés), inmunidad, inflamación, fisiología reproductiva, control

homeostático, trauma, dolor, apoptosis, etc. (McEwen, de Kloet y Rostene, 1986; Sapolsky, Romero y Munck, 2000).

A continuación se describen brevemente las acciones de los glucocorticoides.

#### a. Efectos Cardiovasculares

Los efectos glucocorticoides durante la respuesta de estrés a nivel cardiovascular, no están bien entendidos.

El incremento de la presión arterial y frecuencia cardiaca es una demostración de los efectos inotrópicos positivos de los glucocorticoides; ahora bien tratando de entender estos fenómenos se han realizado estudios en donde por ejemplo dando un tratamiento con el antagonista glucocorticoide (RU 486) a ratas normales, se observa disminución en la reactividad vascular a la norepinefrina y la angiotensina II, por otra parte los glucocorticoides inducen la actividad de la fenilalanina-N-metiltransferasa como enzima limitante de la síntesis de epinefrina con lo cual se reduce la presión arterial y la frecuencia cardiaca, también poseen efectos en la placa neuromuscular al inhibir la recaptura y disminución de los niveles periféricos de catechol-O-metiltransferasa y monoamino oxidasa disminuyendo la contracción cardiaca. (Nijsen et al., 2000).

#### b. Control de Líquidos

Los glucocorticoides inhiben indirectamente la liberación de vasopresina, incrementando el rango de filtración glomerular e incrementando también la secreción del péptido natriurético dando por resultado vasoconstricción, retención de agua y disminución del volumen urinario (Sapolsky et al., 2000).

#### c. Inmunidad e Inflamación

Estos efectos son un área de gran confusión en el papel fisiológico de los glucocorticoides, aunque el efecto inmunosupresivo y antiinflamatorio ha sido conocido por décadas. El efecto más general es la inhibición de la eficacia de citoquinas y otros mediadores que promueven la inmunidad y las reacciones inflamatorias.

También puede inhibir la síntesis, liberación y/o la eficacia de otras moléculas las IL-1, IL-2, IL-3, IL-4 (inhibidas en el humano pero estimuladas en los murinos), IL-5, IL-6, IL-12, factor estimulante de colonias granulocíticas monocíticas (GM-CSF), IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , macrófagos, proteína inflamatoria 1- $\alpha$ , histamina, bradiquinina, ecosanoides, óxido nítrico, colagenasas, elastasas y activador de plasminógeno, inhibiendo así el proceso inflamatorio.

Los glucocorticoides reducen la síntesis de ecosanoides gracias a una inhibición en la expresión de las ciclooxigenasas. También inhiben 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetato y la inducción de la adhesión intracelular, al complejo de histocompatibilidad proteínas clase II, también reducen la activación y proliferación de células T y B, inmunosuprimiendo así al organismo.

Disminuyen los niveles circulantes de linfocitos, eosinófilos, basófilos, macrófagos y monocitos; sin embargo incrementan los niveles de neutrófilos. Los glucocorticoides atrofian el timo, provocan muerte apoptótica de células T y B inmaduras, así como los precursores y las células T maduras (Sapolsky et al., 2000).

#### d. Metabolismo

Los glucocorticoides provocan que los niveles de glucosa sean elevados rápidamente, por una parte existe movilización de la glucosa almacenada y en parte por el bloqueo de almacenaje de la misma, con una rápida resistencia a la insulina. También se movilizan lípidos para la lipólisis y aminoácidos para la inhibición de síntesis de proteínas y estimulan la proteólisis. Todos estos efectos son mediados sinérgicamente por catecolaminas, GH y glucagon estimulando la lipólisis así como la elevación de la glucosa circulante por estimulación de la glucogenólisis y la gluconeogénesis. La epinefrina y el glucagon actúan rápidamente, mientras que los glucocorticoides aumentan y prolongan por muchas horas el incremento de glucosa en sangre, teniendo así mayor aporte de energía capaz de utilizar inmediatamente (Sapolsky et al., 2000).

#### e. Fisiología reproductiva

Los efectos de los glucocorticoides en esta rama son aún pobremente entendidos. Los glucocorticoides interrumpen la fisiología reproductiva por numerosos mecanismos; disminuyen

la liberación de GnRH y LH, integran también efectos antireproductivos de manera que los animales disminuyen tanto su receptividad como su proceptividad en ambos sexos y producen disminución en las erecciones en los machos (Sapolsky et al., 2000).

#### f. Efectos neurobiológicos

Los glucocorticoides poseen una función neural con base en sus efectos genómicos y también se ha propuesto que existen efectos a nivel de membrana, y esto es gracias a la interacción de los glucocorticoides con los receptores a neurotransmisores. Se ha visto, por ejemplo, que pueden aumentar los niveles de mRNA de receptores de NMDA, así como tener una interacción coadyudante con los receptores de GABA.

Se sabe que los glucocorticoides inhiben la utilización de glucosa cerebral así como el transporte de glucosa en las neuronas, en la glia y posiblemente en las células endoteliales. En el transcurso de los minutos u horas provocan translocación de glucosa de la superficie celular a los sitios de almacenamiento intracelular, y en el curso de horas o días también decrecen los niveles de mRNA del transportador de glucosa.

En los procesos de memoria y aprendizaje se ha dicho que los receptores mineralocorticoides (MR) son requeridos para el aprendizaje; mientras que los receptores a glucocorticoides (GR) parecen estar involucrados en los procesos moduladores de la consolidación de la memoria. Se dice que los GR juegan un papel en la formación de la memoria de largo plazo.

Aunque aún es poco lo que se sabe acerca de los mecanismos de acción por los cuales los glucocorticoides modulan los procesos de memoria, puede que se expliquen desde una facilitación hasta daño neural. Se sabe por ejemplo que los glucocorticoides mejoran las formas de plasticidad sináptica para permitir el aprendizaje, pero a su vez con el transcurso de las horas se puede generar una hiperexcitabilidad (por despolarizaciones prolongadas).

Se ha propuesto dos mecanismos responsables de las acciones glucocorticoides sobre la memoria.

1.- La transmisión glutamatérgica: existe evidencia de que los glucocorticoides incrementan las concentraciones de glutamato en regiones como hipocampo, estriado y corteza frontal. Se sabe que la activación glutamatérgica es importante en los procesos de memoria, por lo tanto podríamos decir que los glucocorticoides pueden ser moduladores en estos procesos.

2.- Las moléculas de adhesión celular: la respuesta de los mecanismos de mediación celular es debida a que los receptores provocan un cambio en la expresión de genes. La memoria de largo plazo depende de la síntesis de proteínas, de aquí que uno de los mecanismos por los cuales los glucocorticoides influyen en la consolidación de la memoria pudiera ser por modulación geonómica de síntesis de proteínas que estuviesen implicadas en la reestructuración sináptica y en la estabilización del almacenaje de la memoria. También se ha dado énfasis al papel que juegan estas hormonas con respecto a algunas moléculas de membrana como glicoproteínas y moléculas de adhesión celular (CAMs); se ha demostrado que existe reconocimiento y propiedades de adhesión particularmente las moléculas de adhesión de células nerviosas (NCAM) y L1. Interesantemente las CAMs se encuentran involucradas en los mecanismos neurales de memoria por muchas horas después del entrenamiento (de 6-24 hr dependiendo de los animales y del tipo de experimento) (Sapolsky et al., 2000).

El estadio funcional de las CAMs es modulado postraduccionalmente por glucosilación; fucosilación de glicoproteínas que está involucrado en la transición de mecanismos de memoria de corto plazo a largo plazo. Este mecanismo fue también involucrado en los efectos facilitatorios de corticosteroides en la consolidación (Sandi, 1998).

Existen dos tipos de receptores para los corticosteroides. Los tipo I que son también llamados receptores mineralocorticoides (MR), y los tipo II que son llamados receptores glucocorticoides (GR). Los datos muestran que los MR y los GR median el procesamiento de sus efectos en coordinación y frecuentemente antagonizan sus acciones. 1) en el hipocampo la activación de los MR mantiene una excitabilidad y cuando los GR son ocupados estos suprimen la excitabilidad; 2) los mineralocorticoides centrales participan en el control a la sensibilidad de la respuesta neuroendocrina sistemática al estrés, y los GR son los involucrados en la terminación de la respuesta al estrés (Figura 14); 3) los MR en el hipocampo tienen un papel en la regulación de la conducta, reactivando y seleccionando respuestas conductuales y los GR median los efectos de facilitación en el almacenamiento de la información (de Kloet, Oitzl y Jöels, 1993).

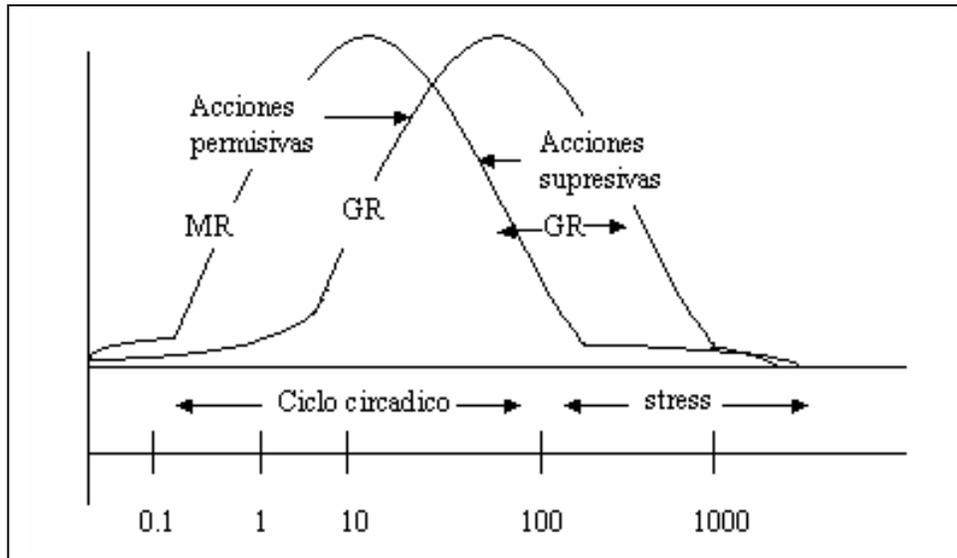


Figura 14. Curvas derivadas de un modelo matemático en las que se muestran las etapas en las que los receptores glucocorticoides y mineralocorticoides regulan la respuesta al estrés. Modificada de Sapolsky et al., 2000

## 5. Receptores

Los receptores GR son factores de transcripción dependientes de ligando que actúan con las regiones reguladoras de DNA para los genes blanco, son receptores llamados de núcleo, sin embargo se encuentran en su forma inactiva en el citosol. La RNA polimerasa no interactúa directamente con los receptores (Judy y Welshons, 1998).

Estos receptores están constituidos por 777 aminoácidos y existen dos subtipos: GR $\alpha$  (777 a.a.) y GR $\beta$  (742 a.a.). Los más abundantes son los GR $\alpha$  y se encuentran en el citoplasma, los GR $\beta$  son menos abundantes se encuentran más en el núcleo y se postula que pueden jugar un papel inactivador de los GR $\alpha$ . En la Figura 15 se muestra un esquema del receptor reactivando y seleccionando la respuesta y los GR median los efectos de facilitación en el almacenamiento de la información (de Kloet et al., 1993).

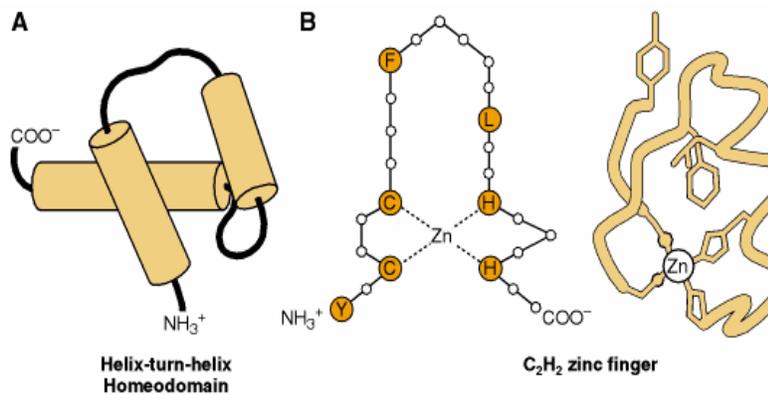


Figura 15. Esquemas del receptor glucocorticoide donde se puede observar los tres dominios, imagen tridimensional (A) y el dedo de zinc (B). Imagen tomada de [www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bu.fcgi?rid=iga.figgrp.2051](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bu.fcgi?rid=iga.figgrp.2051)

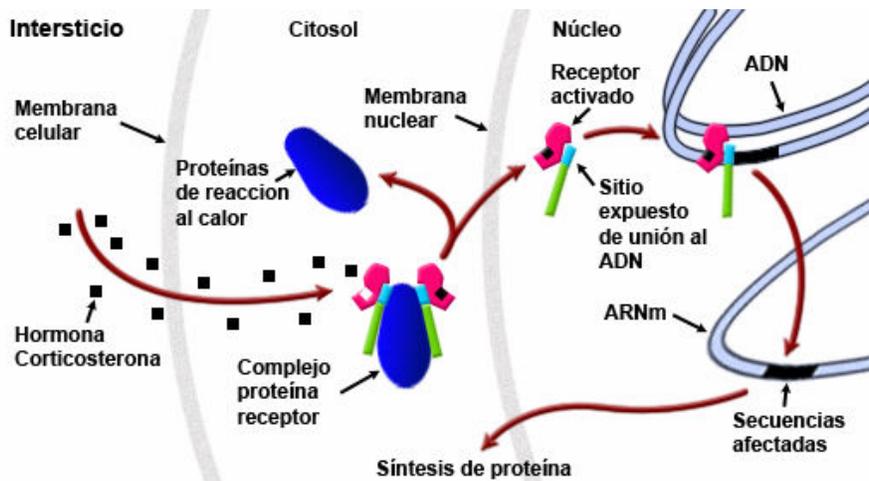


Figura 16. Representación de los mecanismos de las hormonas glucocorticoides: la hormona atraviesa la membrana celular, ya en citosol se crea un complejo hormona-receptor de dímeros formados por el receptor y proteínas, así atraviesa el citosol hasta llegar a la membrana del núcleo en donde para entrar al núcleo se libera de la proteína y queda expuesto su sitio de unión a la cadena del ADN en donde se inicia la señal para la realización de nueva síntesis de proteínas (modificado de Harrison y Lippman 1989).

Se sabe que la hormona se une a su receptor en el citosol y que para que pueda llevarse a cabo dicha unión es gracias a la participación de las proteínas de reacción al calor (heat shock proteins) para que se formen dímeros que viajan a través del citosol, hasta llegar al núcleo en donde es liberado de las proteínas y puede unirse a la cadena de DNA para poder realizar su función de receptor de núcleo. Aquí promueve la síntesis de proteínas como se esquematiza en la Figura 16, y la posible regulación de la expresión de genes que desencadena la activación de dicho receptor se muestra en la Figura 17.

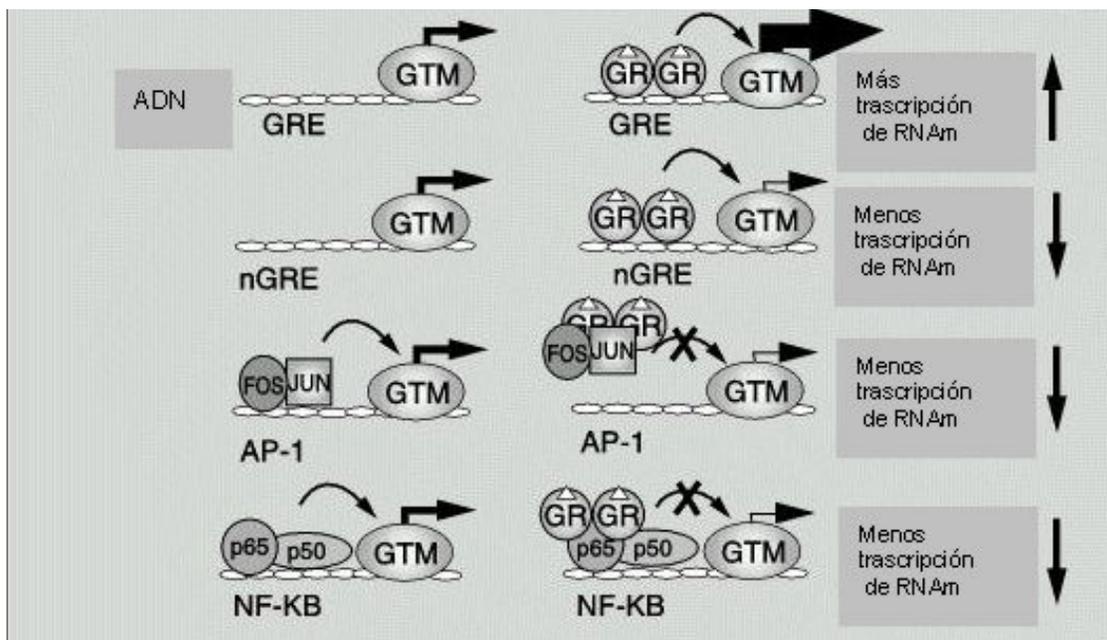


Figura 17. Esquema de la transcripción de genes generada de la activación de los GR. GTM- es la maquinaria general de transcripción, GRE-elemento responsivo glucocorticoide, nGRE- elemento responsivo glucocorticoide negativo, AP1-elemento responsivo de AP1, NF-KB- elemento responsivo para NF-KB, GR- receptor glucocorticoide.

Se ha observado que existen complejos protéicos para el reconocimiento y la activación del receptor, los cuales han sido llamados coactivadores y correpresores como se muestra en la Figuras 18, 19 y 20.

Sitios de unión de las proteínas de reacción al calor

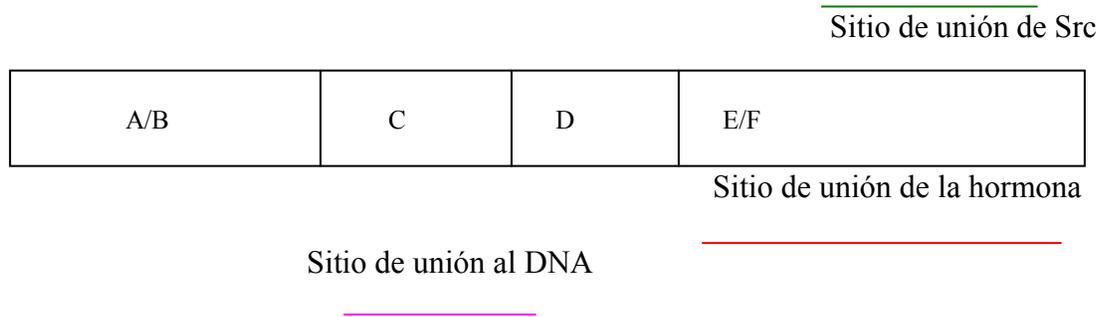


Figura 18. Esquema de los diferentes dominios del receptor GR y las interacciones.

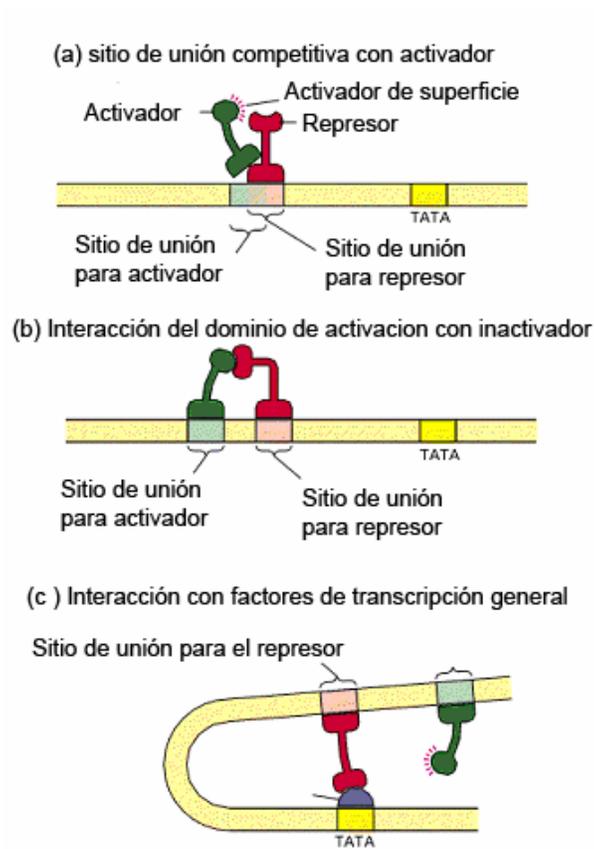


Figura 19. Se muestran los diferentes mecanismos con los cuales actúa un represor, en los tres mecanismos se encuentra que el represor inhibe la activación o interfiere directamente con la iniciación de la formación del complejo activador ADN (imagen modificada de Alberts et al., 1994).

Los coactivadores tienen como función la de unir al complejo hormona-receptor a los sitios de unión de la cadena de DNA, estabilizando el complejo de transcripción, y en conjunto a otras proteínas; tiene la capacidad de acetilar histonas y facilitar así la condensación de la cromatina (McDonnel, 2000). Los correpresores actúan de manera inversa, desacetilando histonas, por lo tanto facilitando la condensación de DNA (McDonnel, 2000). La Tabla 2 muestra a los coactivadores y los correpresores conocidos.

Coactivadores	Correpresores
Src-1 de los cuales existen más de 30 subtipos	NcoR
CREB	SMRT

Tabla 2. Presentación de proteínas coactivadoras y correpresoras

Los receptores GR han sido visualizados por autorradiografía, encontrándose distribuidos en todo el encéfalo, con niveles altos en la corteza cerebral, hipocampo, tálamo, núcleos hipotálamicos supraóptico y paraventricular. Se ha clonado el cDNA para los GR teniendo la posibilidad de realizar un estudio de hibridación *in situ* para visualizar mRNA, y se ha observado que la expresión de mRNA para GR está presente tanto en neuronas como en células gliales, y en el hipocampo. Los niveles mas altos se encuentran en CA1 y CA2, moderados en el giro dentado y bajos en el área CA3 (Reul et al., 2000).

Se conocen también antagonistas y agonistas a los receptores GR, como lo son RU 486 (mefiprestone), o la dexametasona respectivamente. En la Figura 20 se muestran las estructuras químicas de estos dos fármacos.

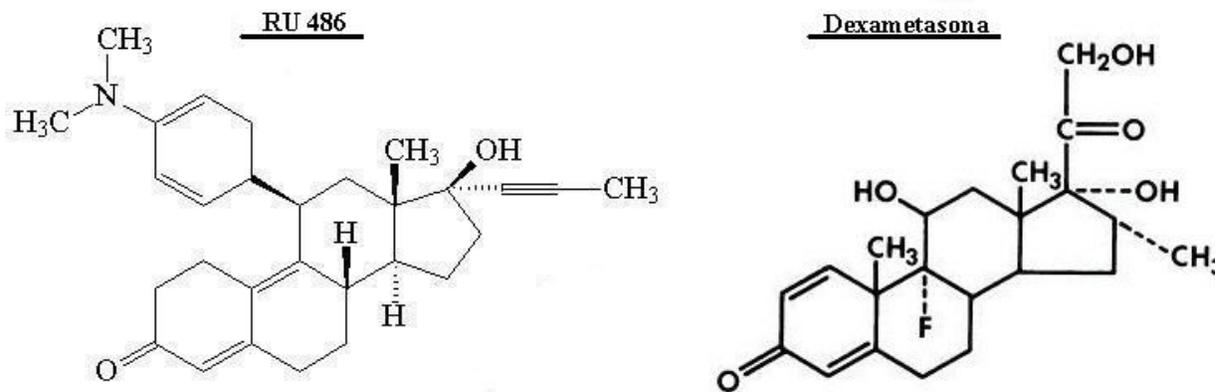


Figura 20. Estructura química del antagonista RU 486 y del agonista dexametasona, a los receptores GR (imagen tomada de [www.facmed.unam.mx/.../mex/productos/7959.htm](http://www.facmed.unam.mx/.../mex/productos/7959.htm)).

### III. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS

Hay evidencias que indican que las hormonas adrenales afectan los procesos tanto de aprendizaje como de la memoria de tareas aversivas (Cahill, Roozendaal y McGaugh, 1997). Gold y van Buskirk (1976) fueron los primeros en demostrar que las hormonas adrenales participan en el proceso de consolidación de la memoria. Ellos inyectaron epinefrina después de entrenar ratas en un paradigma aversivo de un sólo ensayo. La epinefrina administrada inmediatamente después del aprendizaje mejoró la memoria del animal, lo cual se demostró en la prueba de retención un día después. Los efectos de la droga se encontraron solamente cuando ésta se administró inmediatamente después del entrenamiento. Se obtuvo una curva dosis-respuesta en forma de U invertida, en donde los efectos óptimos de mejoría se encontraron con las dosis medias, mientras que las bajas o altas fueron inefectivas (Gold y van Buskirk, 1976).

Las hormonas adrenocorticales también están involucradas en el almacenamiento de la memoria. Se ha demostrado que la adrenalectomía deteriora la memoria espacial de ratas entrenadas en un laberinto de agua (Oitzl, Sutanto y de Kloet, 1990; Roozendaal, Portillo-Marquez y McGaugh, 1996b). La administración sistémica de dexametasona, un glucocorticoide sintético, después del entrenamiento, produce recuperación de la memoria de ratas con adrenalectomía (Roozendaal et al., 1996b). En evitación inhibitoria se han encontrado efectos duales de los corticosteroides sobre la memoria, dependientes de las dosis. Dosis bajas de corticosterona producen mejoría, mientras que dosis altas producen deterioro en la retención de la tarea (Cottrell y Nakajima, 1977; Kovács, Telegdy y Lissák, 1977). Los estudios anteriores nos indican que las hormonas producidas en la corteza y en la médula de las glándulas adrenales participan en el almacenamiento de la memoria.

Los corticosteroides en el cerebro de la rata se unen a receptores de mineralocorticoides (MRs) y glucocorticoides (GRs), siendo la afinidad 10 veces mayor en los primeros. Esto ha sugerido que los MRs están ocupados en condiciones basales de reposo, mientras los GRs son ocupados en los picos del ritmo circadiano y la respuesta al estrés (de Kloet et al., 1993).

En situaciones de aprendizaje aversivo, los niveles de glucocorticoides están generalmente elevados, entran al cerebro y se unen a receptores específicos en regiones cerebrales que están involucradas en los procesos de aprendizaje y memoria. Una pregunta que se han planteado algunos investigadores en este campo es si la activación de los receptores glucocorticoides juega

un papel en la formación de la memoria. Algunos experimentos revelan que la administración selectiva de antagonistas a GR interfieren con la expresión de una respuesta de evitación (Sandi y Rose, 1994).

En una tarea de aprendizaje de orientación espacial usando el laberinto acuático de Morris, se encontró que la administración de antagonistas a GR inyectados intraventricularmente, interfieren con el proceso de almacenamiento de la memoria de información espacial (Oitzl y de Kloet, 1992). En otro estudio la administración selectiva de RU 486 (antagonista glucocorticoide) en el hipocampo, deterioró la memoria de una tarea espacial de laberinto acuático (Roozendaal y McGaugh, 1997a). Cuando el mismo antagonista fue administrado en el núcleo basolateral de la amígdala, también se produjo un deterioro en una tarea espacial de laberinto acuático (Roozendaal y McGaugh, 1997b).

También los receptores GR de la corteza prefrontal (CP) han sido estudiados. En un estudio reciente en el que se inyectó a ratas, el agonista glucocorticoide RU 362 en la CP inmediatamente después del entrenamiento de una tarea de evitación inhibitoria se encontró una mejoría en la retención probada a las 48 horas. Cuando se inyectó el agonista en la CP, pero además se lesionó la amígdala no se encontró el efecto de mejoría, lo que sugiere una interacción entre estas dos regiones cerebrales para regular las hormonas que afectan la memoria (Roozendaal, McReynolds y McGaugh, 2004).

Otra estructura cerebral que ha sido estudiada con relación a los procesos de aprendizaje y memoria es el estriado. Las primeras evidencias señalan que cuando se interfiere con su actividad normal, ya sea a través de una lesión (Divac, 1979; Dunnett y Iversen, 1981; Glick y Greenstein, 1973; Kirkby y Kimble, 1968; Mitcham y Thomas, 1972; Sandberg, Sanberg y Coyle, 1984; Winocur, 1974) o con la aplicación de inactivadores reversibles o de corriente eléctrica (Prado-Alcalá, Kent y Reid, 1975; Prado-Alcalá, Kaufmann y Moscona, 1980; Wyers, Deadwyler, Hirasuna y Montgomery, 1973), los sujetos experimentales presentan deficiencias en respuestas condicionadas.

En otro grupo de estudios se ha reportado que si se alteran los sistemas neuroquímicos de dicha estructura, como el dopaminérgico (Fibiger, Phillips y Zis, 1974; Kim y Routtenberg, 1976; Staubli y Huston, 1978), el GABAérgico (Salado-Castillo, Diaz del Guante, Alvarado, Quirarte y Prado-Alcalá, 1996) el colinérgico (Haycock y McGaugh, 1973; Neill y Grossman, 1970; Prado-

Alcalá et al., 1972) y el serotoninérgico (Prado-Alcalá, Solana-Figueroa, Galindo, Medina y Quirarte, 2003a; Prado-Alcalá et al., 2003b; Solana-Figueroa, Salado-Castillo, Quirarte, Galindo y Prado-Alcalá, 2002), también se deteriora la respuesta aprendida.

Existen evidencias que señalan al estriado como una estructura que participa en tareas motivadas aversivamente como la evitación inhibitoria o prevención pasiva (Giordano y Prado-Alcalá, 1986; Haycock, Deadwyler, Sideroff y McGaugh, 1973; Prado-Alcalá, Signoret y Figueroa, 1981; Prado-Alcalá, 1985). Hallazgos recientes reportan que el estriado dorsal también es importante para el condicionamiento aversivo al tono, ya que cuando se realizaron lesiones electrolíticas o neurotóxicas de esta estructura se encontró deterioro en dicha tarea pero no en el condicionamiento aversivo al contexto (Ferreira et al., 2003). Se sabe también que cuando el núcleo caudado se lesiona existe un deterioro en la adquisición de una tarea de discriminación visual en el laberinto acuático pero no hay efectos de la lesión sobre la adquisición de una tarea espacial en el laberinto acuático (Packard y McGaugh, 1992). Lo que indica que el núcleo caudado está involucrado en tareas aversivas dependiendo del tipo de memoria que implique la tarea. Estos datos han sugerido que el núcleo caudado es parte de un sistema múltiple de memoria, ya que en otras estructuras, como por ejemplo el fornix, los efectos encontrados son opuestos.

Estos hallazgos, y los encontrados en el hipocampo y la amígdala, sugieren que estas estructuras difieren en el tipo de memoria involucrada (Packard y McGaugh, 1992), lo que apoya la hipótesis de la modulación múltiple de la memoria espacial en la tarea de laberinto acuático en plataforma oculta y visible, ejercida por la amígdala, el hipocampo y el estriado (Packard et al., 1994; Packard y Teather, 1998).

A pesar de que la participación de los receptores glucocorticoides en la formación de la memoria está plenamente demostrada para los casos de la amígdala y el hipocampo, existen muy pocos datos con respecto a las funciones que dichos receptores pudieran tener en el estriado. Investigaciones recientes de nuestro laboratorio tienen como objetivo estudiar la participación de los GR del estriado en la memoria. Datos preliminares sugieren que la activación de los receptores GR por medio de la administración de corticosterona en el estriado mejora la retención en la tarea de evitación inhibitoria, en ratas que fueron entrenadas con un choque eléctrico de baja intensidad y que la administración del antagonista a los GR bloquea los efectos encontrados.

Estos resultados sugieren que es importante la activación de estos receptores para la formación de la memoria (Medina, Sánchez-Resendis, Galindo, Prado-Alcalá y Quirarte, 2002).

Por esta razón, en la presente tesis nos propusimos estudiar la posible participación de los GR del estriado en los procesos mnémicos, específicamente en una tarea de procedimiento (laberinto acuático de Morris con plataforma visible).

#### **IV. OBJETIVOS**

##### **A. General**

Evaluar si los receptores a GR en el estriado participan en el aprendizaje y la memoria de una tarea de laberinto acuático con plataforma visible.

##### **B. Específicos**

Determinar el efecto de la administración intraestriatal de corticosterona sobre el aprendizaje y la retención de una tarea de laberinto acuático con plataforma visible.

Determinar el efecto de la administración intraestriatal de RU 486 sobre el aprendizaje y la retención de una tarea de laberinto acuático con plataforma visible.

## **V. HIPÓTESIS**

1. La administración intraestriatal de corticosterona antes del entrenamiento en una tarea de laberinto acuático con plataforma visible, producirá facilitación en la adquisición (aprendizaje).

2. La administración intraestriatal de corticosterona antes del entrenamiento en una tarea de laberinto acuático con plataforma visible, producirá facilitación en la retención medida a las 48 horas.

3. La administración intraestriatal de un antagonista glucocorticoide antes del entrenamiento en una tarea de laberinto acuático con plataforma visible, producirá deterioro en la adquisición.

4. La administración intraestriatal de un antagonista glucocorticoide antes del entrenamiento en una tarea de laberinto acuático con plataforma visible, producirá deterioro en la retención medida a las 48 horas.

## VI. METODOLOGÍA

El protocolo experimental de la presente tesis fue aprobado por el Comité de Bioética del Instituto de Neurobiología para el uso de Animales de Experimentación.

### A. Sujetos.

Se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar, de 250 a 350 g de peso. Todas las ratas se colocaron en cajas habitación de acrílico individuales (de 24 x 21 x 45 cm), con alimento (Purina chow) y agua *ad libitum*; se mantuvieron en el bioterio del Laboratorio de Aprendizaje y Memoria del INB, con temperatura controlada y un ciclo de luz-oscuridad de 12:12 hr iniciando el periodo de luz a las 7:00 hr. Los animales ingresaron al bioterio del laboratorio, por lo menos una semana antes de la cirugía con la finalidad de que se adaptaran a las nuevas condiciones ambientales.

### B. Cirugía.

Cada animal fue anestesiado utilizando una dosis de pentobarbital sódico (50 mg/Kg) y se administró atropina (0.4 mg/Kg); ambos fármacos fueron aplicados intraperitonealmente. Se inyectó de manera subcutánea 1 ml de solución salina isotónica antes de la intervención para evitar deshidratación. Una vez anestesiado el animal, se rasuró la piel que cubre el cráneo y se fijó en un aparato estereotáxico (como se muestra en la Figura 22). Se incidió la piel al nivel de línea media de cráneo en una longitud aproximada de 1.5 cm y se disecó el tejido perióstico. Con un taladro para uso fino se hicieron 4 orificios pequeños en el hueso del cráneo, cuidando de no lesionar la duramadre; a través de dos de ellos se introdujo una cánula guía de 11 mm de largo en cada estriado. La cánula se fabricó con tubo de aguja hipodérmica de acero inoxidable del número 23, la cual se esterilizó con inmersión previa en etanol al 96% por 10 minutos como tiempo mínimo. Posteriormente, se sumergieron en solución fisiológica estéril por un mínimo de dos minutos. La implantación de las cánulas fue en el estriado anterodorsal, en forma bilateral de acuerdo a las coordenadas anteroposterior (AP) = bregma; mediolateral (ML) =  $\pm 3.5$  mm de la línea media; dorsoventral (DV) =  $-4.2$  mm de la duramadre, tomadas del atlas del cerebro de rata de Paxinos y Watson (1986).

En cada uno de los dos orificios adicionales se colocó un tornillo para fijar las cánulas con la ayuda de cemento dental. A cada cánula se le puso un tapón-estilete de 11 mm de longitud, que

se retiraba para la administración de las drogas. A las ratas se les permitió recuperarse de la intervención durante una semana antes de ser entrenadas.

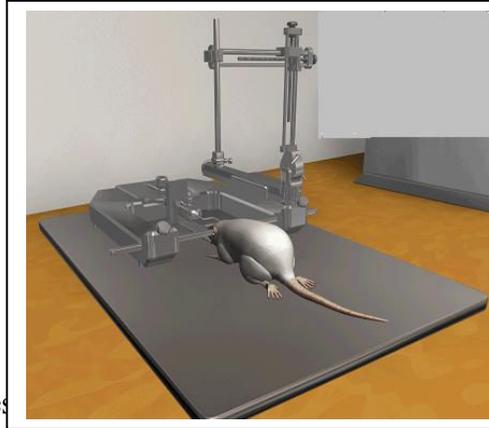


Figura 21. Aparato estéril para la administración de drogas, imagen tomada de [www.stoeltingco.com/physio/store/viewlevel3.asp?keyword1=&keyword3=14](http://www.stoeltingco.com/physio/store/viewlevel3.asp?keyword1=&keyword3=14).

#### A. Adaptación de los sujetos a las condiciones experimentales.

Durante el transcurso de la semana de recuperación de la intervención quirúrgica, las ratas se manipularon tres días; en cada una de estas sesiones, que duraron 5 minutos, el animal se adaptó a la manipulación por parte del investigador, y durante este tiempo se le dieron suaves masajes en la nuca y en el lomo (Figura 21). El día previo al entrenamiento se les introdujo a cada una de las ratas a través de las cánulas, un falso inyector, que es un microinyector guía; esto para que el día del entrenamiento la manipulación necesaria para la microinyección del fármaco no fuera novedosa.



Figura 22. Manipulación de la rata macho Wistar.

Tanto los días descritos anteriormente, como los días de entrenamiento y prueba, las ratas se sacaron del bioterio y se colocaron fuera del cuarto en el que está el laberinto acuático de Morris (LAM), y permanecieron allí durante una hora antes de llevar a cabo las manipulaciones, la introducción del falso inyector, el entrenamiento, la microinyección y la prueba de retención.

#### D. Aparatos



Figura 23. Se muestra el laberinto acuático de Morris.

El laberinto acuático es un tanque circular negro de plástico con diámetro de 154 cm y una altura de 60 cm, colocado sobre una base de metal que lo sostiene a una altura de 58 cm. Se llena con agua hasta una altura de 21 cm, con una temperatura de 25 °C  $\pm$  1°C. Las cuatro posiciones de inicio están marcadas en la cara externa del tanque con Norte, Sur, Este y Oeste, dividiendo en cuatro cuadrantes el tanque. Se utilizó una plataforma cuadrada de acrílico transparente (20 x 20 x 20 cm), la cual fue sumergida a una profundidad de 1 cm. Para la tarea de plataforma visible se colocó encima de ella, una pelota de unicel de 7.5 cm de diámetro recubierta con cinta aislante con rayas blancas y negras uniformemente colocadas (Figura 23). El cuarto en el que se encuentra el tanque tiene una dimensión de 236 cm x 225 cm x 242 cm, es sonoamortiguado y está pintado de blanco, en las paredes se colocaron carteles como señales. Se grabaron todos los experimentos utilizando el sistema Poly-track de San Diego Instruments Incorporated 2000.

#### E. Entrenamiento

En este estudio se utilizó el paradigma de laberinto acuático de plataforma visible (señalización) y con la finalidad de tener un punto de comparación con otra tarea sobre el aprendizaje de los animales y conocer más de cerca el manejo del laberinto también se entrenaron ratas en la tarea de plataforma oculta (espacial). Los horarios de entrenamiento y prueba oscilaron entre las 12:00 h y las 18:00 h.

En el laberinto de plataforma visible el procedimiento que se siguió fue el siguiente:

A los animales se les dio una sesión de entrenamiento que consistió en 8 ensayos. En cada ensayo, el animal fue colocado dentro del tanque mirando de frente al muro en uno de los 4 puntos designados para el inicio (Norte, Sur, Este u Oeste); el animal podía escapar del estímulo aversivo del agua subiéndose a la plataforma de señalización. Se utilizaron diferentes puntos de inicio en cada ensayo, y cada uno de éstos fue usado dos veces dentro de los 8 ensayos. La plataforma de escape se colocó dos veces en el mismo lugar durante los 8 ensayos. En el primer ensayo la plataforma se encontró en el cuadrante inferior derecho y el punto de inicio fue en el Norte del tanque; en el segundo ensayo la plataforma se colocó en el cuadrante superior derecho y el punto de inicio fue en el Este; en el tercer ensayo la plataforma se colocó en el cuadrante superior izquierdo y el punto de inicio fue en el Sur; en el cuarto ensayo se encontró la plataforma en el cuadrante inferior izquierdo y el punto de inicio fue en el Oeste; en el quinto ensayo se colocó la plataforma en el cuadrante inferior derecho y el punto de inicio fue en el Sur; en el sexto ensayo se colocó la plataforma en el cuadrante superior derecho y el punto de inicio fue el Oeste; en el séptimo ensayo se colocó la plataforma en el cuadrante superior izquierdo y el punto de inicio fue el Norte; en el último ensayo se colocó la plataforma en el cuadrante inferior izquierdo y el sitio de inicio fue el Este.

Si algún animal no escapaba dentro de un tiempo de 60 segundos, era guiado manualmente hacia la plataforma de escape. Después de subirse en la plataforma las ratas permanecían allí por 20 segundos y después eran retiradas del laberinto y colocadas en una caja por un intervalo de 30 segundos, para posteriormente iniciar con el nuevo ensayo. La latencia de llegada a la plataforma de escape fue grabada y usada como una medida para la adquisición.

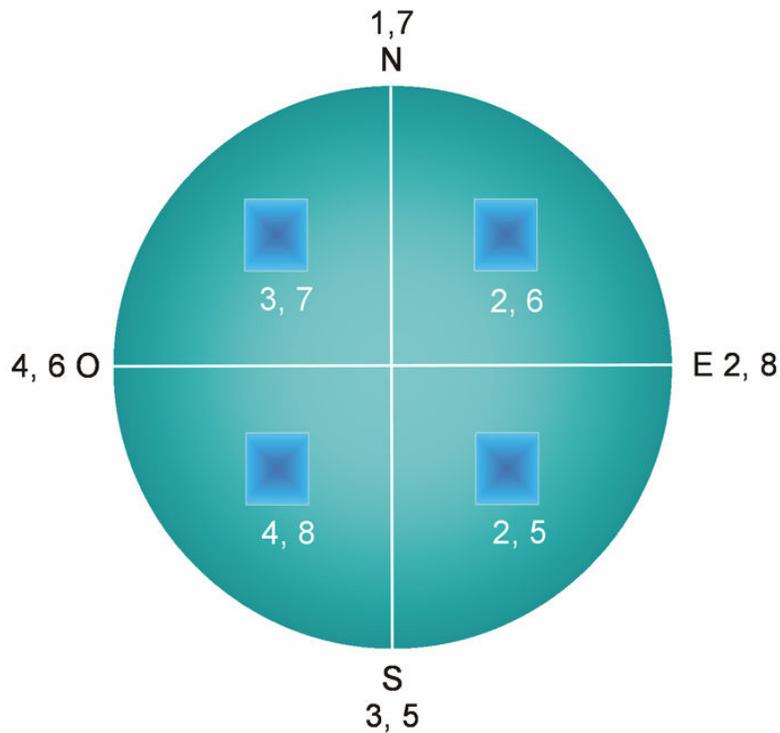


Figura 24. Dibujo que representa en el día del entrenamiento de LAM con plataforma visible los puntos de inicio, así como las posiciones de la plataforma durante los ensayos (indicados con números). Los puntos cardinales están abreviados con letras, Norte (N), Sur (S), Este (E) y Oeste (O).

La retención fue examinada 48 horas después de la terminación del entrenamiento. La retención consistió en 4 ensayos. Al igual que en el entrenamiento la plataforma de escape fue colocada en un diferente cuadrante en cada ensayo, en el primer ensayo se colocó la plataforma en el cuadrante inferior derecho y el punto de salida fue el Norte. En el segundo ensayo la plataforma se colocó en el cuadrante superior derecho y el punto de inicio se encontró en el Oeste. El tercer ensayo fue en el cuadrante superior izquierdo y el punto de inicio se encontró en el Sur. Por último el cuarto ensayo se colocó la plataforma en el cuadrante inferior izquierdo y el punto de origen fue en el Este, aquí se colocó siempre el punto de inicio en relación distal a la plataforma.

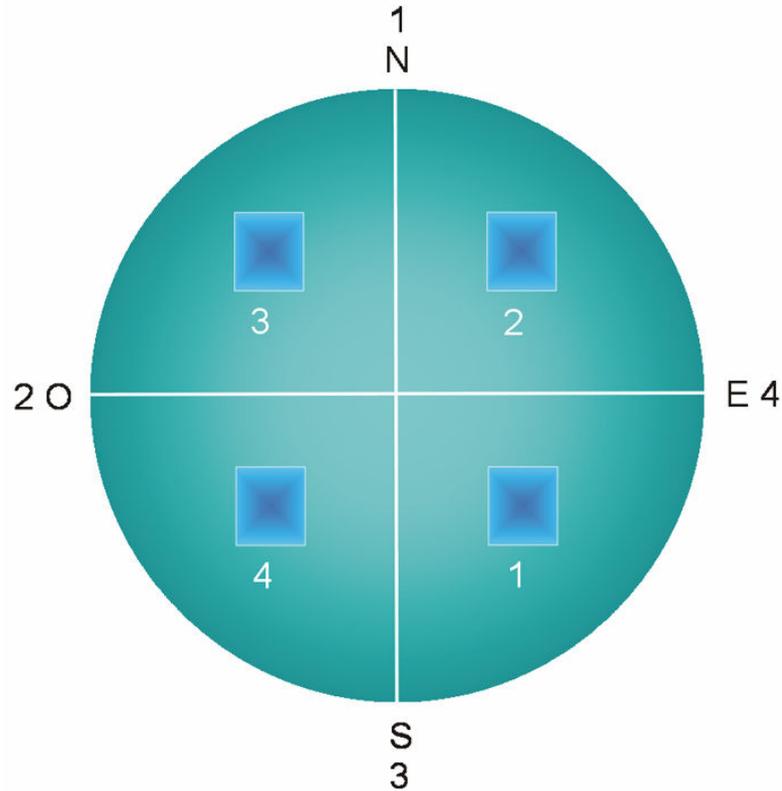


Figura 25. Dibujo que representa en el día de prueba de LAM con plataforma visible los puntos de inicio, así como las posiciones de la plataforma durante los ensayos (indicados con números). Los puntos cardinales están abreviados con letras, Norte (N), Sur (S), Este (E) y Oeste (O).

En el laberinto de plataforma oculta, el procedimiento que se utilizó fue el siguiente:

A los animales se les dio una sesión de entrenamiento que consistió en 8 ensayos. En cada ensayo, el animal fue colocado dentro del tanque mirando de frente al muro en uno de los 4 puntos designados para el inicio (Norte, Sur, Este y Oeste); el animal podía escapar del agua al encontrar la plataforma oculta, subiéndose a ella. Se utilizó un mismo lugar para la plataforma (cuadrante inferior derecho) y diferentes puntos de inicio en cada ensayo, cada uno de éstos fueron usados dos veces dentro de los 8 ensayos, el punto de inicio Oeste se utilizó para los ensayos primero y octavo, el punto de inicio Norte fue para el ensayo segundo y quinto, el punto de inicio Sur se utilizó en el ensayo tercero y sexto, el punto de inicio Este fue para los ensayos cuarto y séptimo. La localización de los puntos de inicio en el tanque de plataforma oculta fueron ordenados de forma tal que la distancia de la plataforma de escape fue proximal o distal y la

localización de la plataforma era relativa al punto de inicio derecha e izquierda, además se balanceó a través de los 8 ensayos. Si algún animal no escapaba dentro de un tiempo de 60 segundos, fue guiado manualmente hacia la plataforma de escape. Después de subirse a la plataforma las ratas permanecieron allí por 20 segundos y después fueron retiradas del laberinto y colocadas en una caja por un intervalo de 30 segundos. La latencia de llegada a la plataforma de escape fue grabada y usada como una medida para la adquisición.

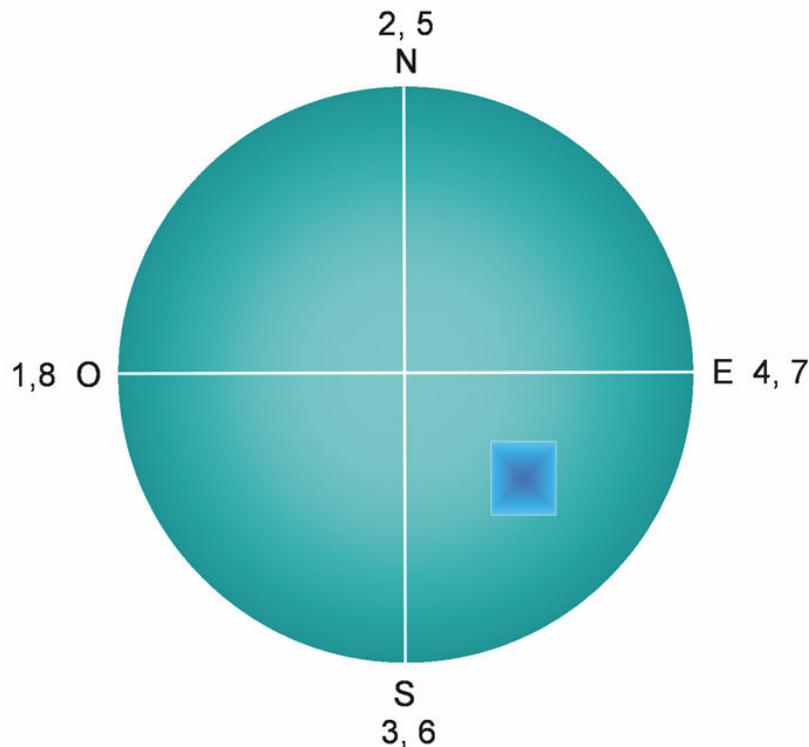


Figura 26. Dibujo que representa en el día del entrenamiento de LAM con plataforma oculta los puntos de inicio, así como la posición de la plataforma durante los ensayos (indicados con números). Los puntos cardinales están abreviados con letras, Norte (N), Sur (S), Este (E) y Oeste (O).

La retención fue examinada 48 horas después del entrenamiento. La retención consistió en 4 ensayos. Al igual que en el entrenamiento la plataforma de escape era colocada en un mismo cuadrante (cuadrante inferior derecho) en cada ensayo, el punto de inicio en el primer ensayo fue el Sur, en el segundo ensayo estaba en el Norte, en el tercer ensayo era en el Oeste, y en el último se encontró en el Este. La latencia de llegada a la plataforma de escape fue grabada en todas las pruebas de retención para su estudio estadístico correspondiente.

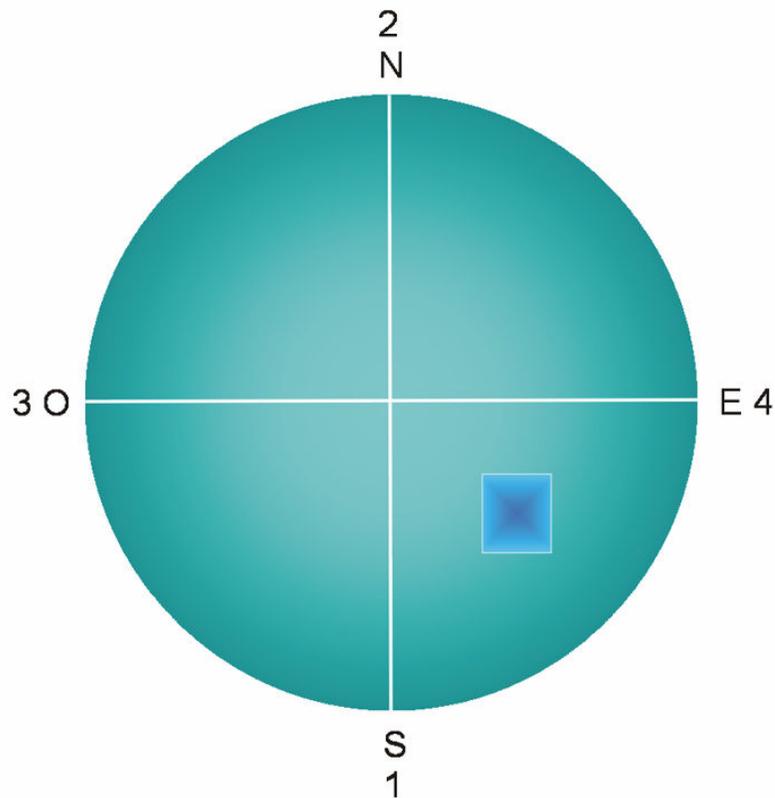


Figura 27. Dibujo que representa en el día de prueba de LAM con plataforma oculta los puntos de inicio, así como la posición de la plataforma durante los ensayos (indicados con números). Los puntos cardinales están abreviados con letras, Norte (N), Sur (S), Este (E) y Oeste (O).

#### F. Drogas

Se prepararon soluciones de almacenamiento tanto de corticosterona (CORT) como de RU 486 (ambos de laboratorios Sigma) 1:1 con etanol al 100% los cuales se mantuvieron en refrigeración a -14 °C, cada tres semanas se reponía la solución por una nueva; para realizar las soluciones de las diferentes dosis se disolvía la solución de almacenamiento adecuada en solución salina y se equilibraba el pH de solución hasta 7.

#### G. Grupos y Tratamientos

Experimento 1. Consistió en entrenar 2 grupos independientes de ratas intactas, uno en el laberinto acuático con plataforma visible y el otro en el laberinto acuático con plataforma oculta. Estos experimentos tuvieron la finalidad de estandarizar el método de entrenamiento, aprenderlo y afinar su manejo.

Experimento 2. Se formaron tres grupos independientes de ratas que fueron inyectados bilateralmente en el estriado con CORT (2, 5, ó 10 ng) con la finalidad de obtener una curva dosis-respuesta. Adicionalmente un grupo fue inyectado con vehículo. El volumen total de la microinyección fue de 1µl. Inmediatamente después los animales fueron entrenados en la tarea de laberinto acuático con plataforma visible.

Experimento 3. Se formaron cinco grupos independientes de ratas que fueron inyectados bilateralmente en el estriado con diferentes dosis de RU 486 (0.5, 1, 2, 5, ó 10 ng) con la finalidad de obtener una curva dosis-respuesta. Adicionalmente un grupo fue inyectado con vehículo. El volumen total de la microinyección fue de 1µl. Inmediatamente después los animales fueron entrenados en la tarea de laberinto acuático con plataforma visible.

#### H. Inyección

La inyección se llevó a cabo con una bomba de perfusión lenta (WPI modelo sp200i), acoplada a una jeringa Hamilton de 10 µl, conectada a través de un tubo de polietileno calibre PE-20 a un inyector de 12 mm fabricado con tubo de aguja hipodérmica de acero inoxidable del número 30. Las inyecciones se realizaron a razón de 1µl durante 1 minuto.

#### I. Verificación histológica

Todos los animales fueron sacrificados con una sobredosis de pentobarbital sódico y perfundidos con solución salina isotónica seguida de formaldehído al 10%. Una vez terminada la perfusión se extrajo el cerebro y se colocó en un frasco con una solución de formaldehído al 10%. Posteriormente, se realizaron cortes coronales de 50 µm de espesor que se tiñeron con la técnica de Nissl y fueron observados en un microscopio para localizar las puntas de las cánulas. Aquellos cerebros que no tuvieron las puntas de las cánulas en la región elegida fueron desechados.

#### J. Análisis estadístico

Se realizó un análisis estadístico paramétrico de parcelas divididas de dos factores con repetición en un factor tanto para las latencias de escape de la sesión de entrenamiento (8 ensayos), como para las latencias de escape de la sesión de prueba (4 ensayos), esto para cada uno de los tres experimentos. Las latencias del primer ensayo del día de la prueba se analizaron con un análisis de varianza aleatorio de un factor (tratamientos). La prueba post hoc que se

utilizó fue la Duncan para conocer el grupo en el cual se encontraron valores significativamente diferentes. Las hipótesis se evaluaron con un nivel de significancia menor o igual al 0.05.

## VII. RESULTADOS

### A. Verificación histológica.

La verificación histológica consistió en observar la ubicación de las puntas de las cánulas en los cortes realizados de las ratas que formaron parte del experimento 2 y 3. En el reporte que se presenta a continuación, se incluye únicamente la información de los casos en los cuales las puntas de las cánulas quedaron alojadas en la región descrita en la sección de Material y Métodos, que corresponde a la región anterodorsal del estriado. En las siguientes Figuras (28 a 37) se representa esquemáticamente, la región en donde se aplicó la inyección; cada punto en el esquema representa un solo sujeto en forma unilateral. La Figura 38 muestra ejemplos representativos de fotografías de cortes histológicos que muestran la localización bilateral de las puntas de las cánulas en el estriado.

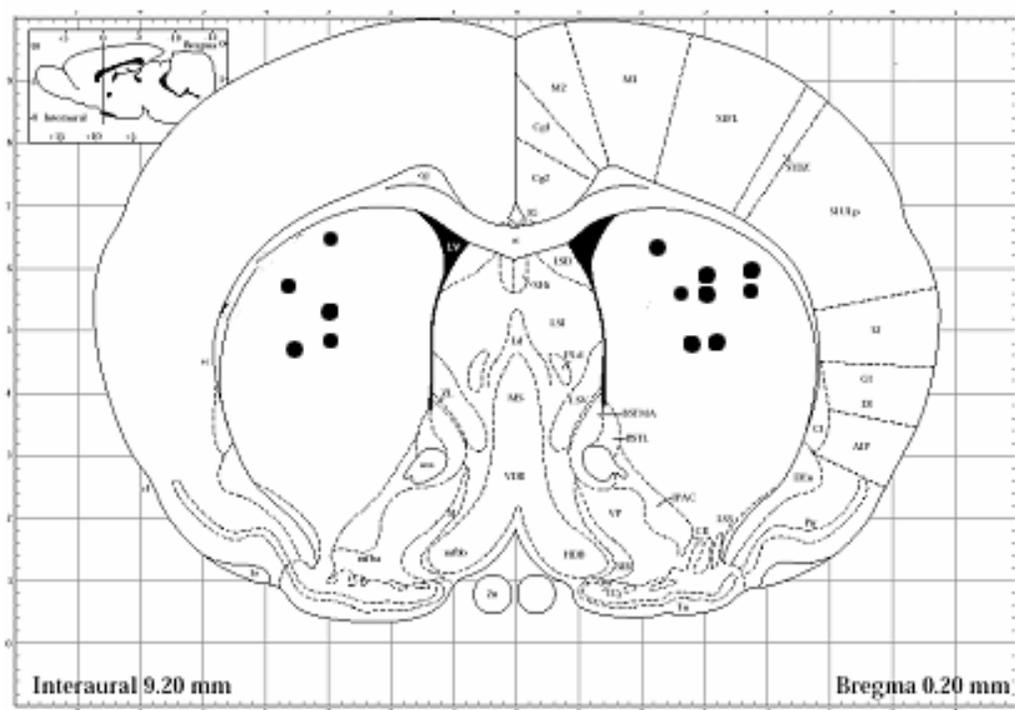


Figura 28. Localización de las puntas de las cánulas, grupo vehículo de la corticosterona.

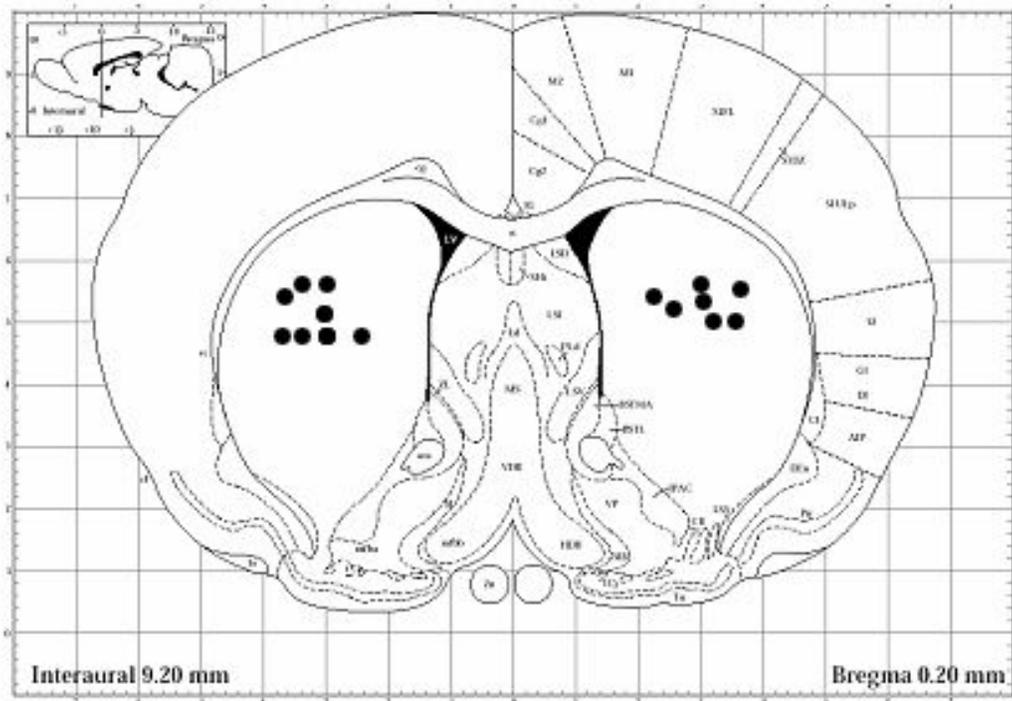


Figura 29. Localización de las puntas de las cánulas, grupo de 2 ng de corticosterona.

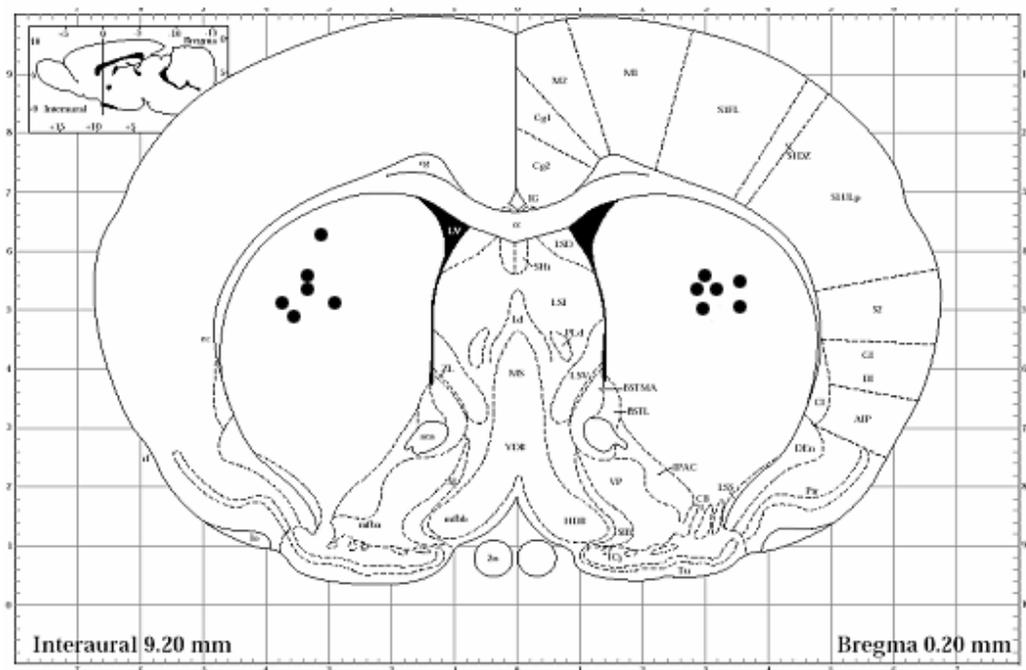


Figura 30. Localización de las puntas de las cánulas, grupo de 5 ng de corticosterona.



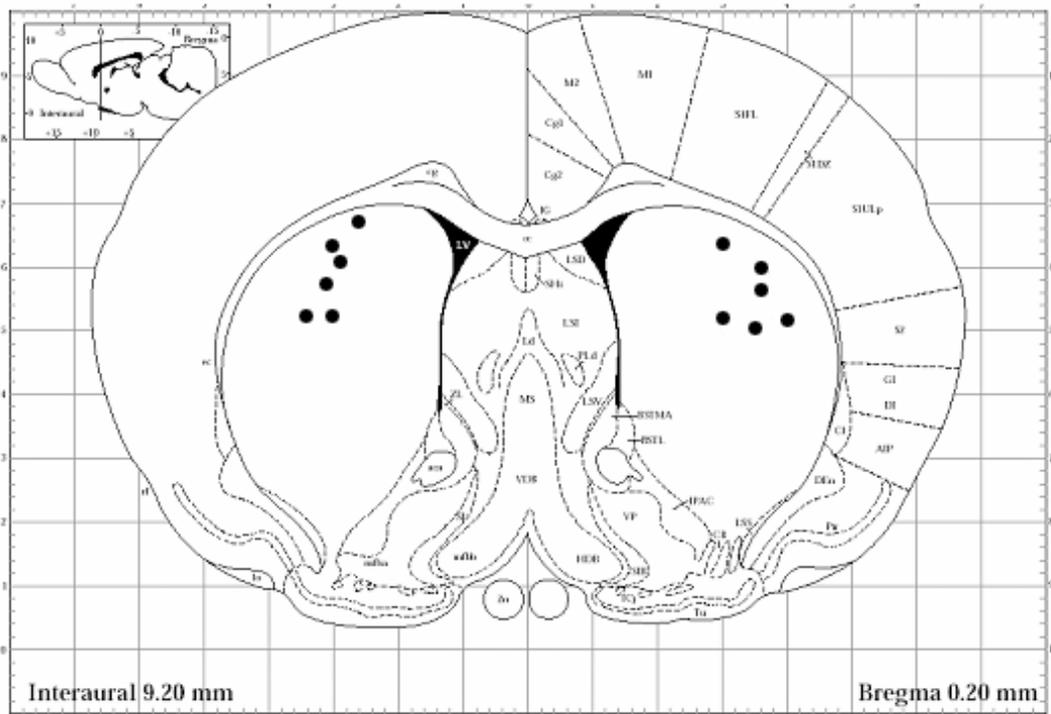


Figura 33. Localización de las puntas de las cánulas, grupo de 0.5 ng de RU 486

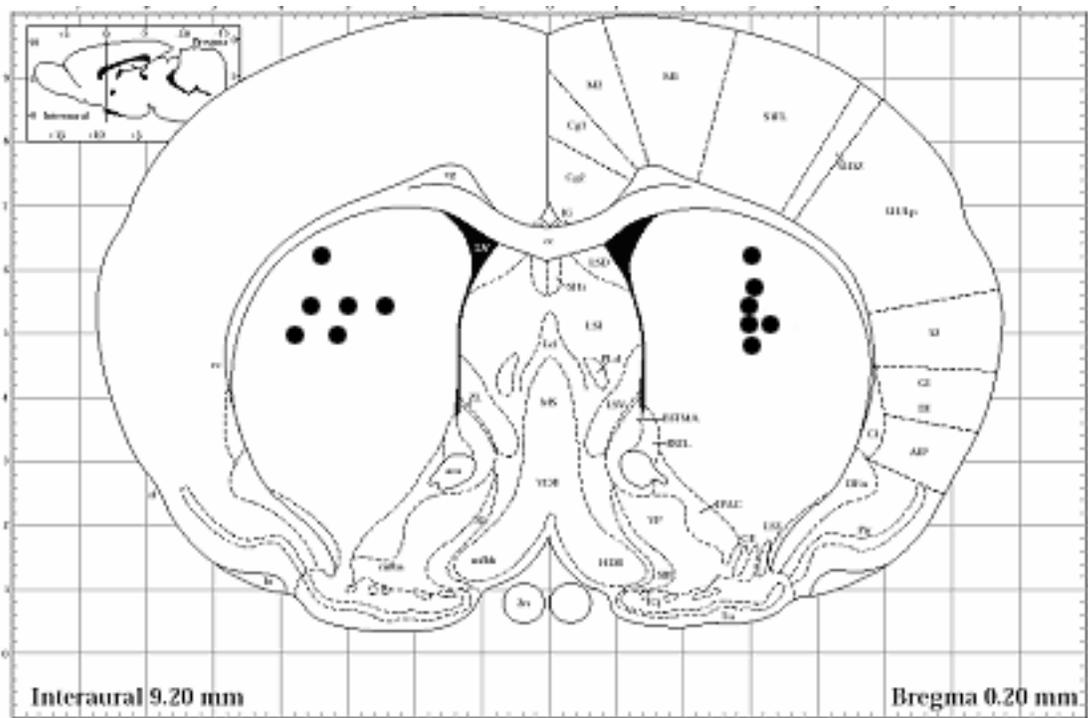


Figura 34. Localización de las puntas de las cánulas, grupo de 1 ng de RU 486.

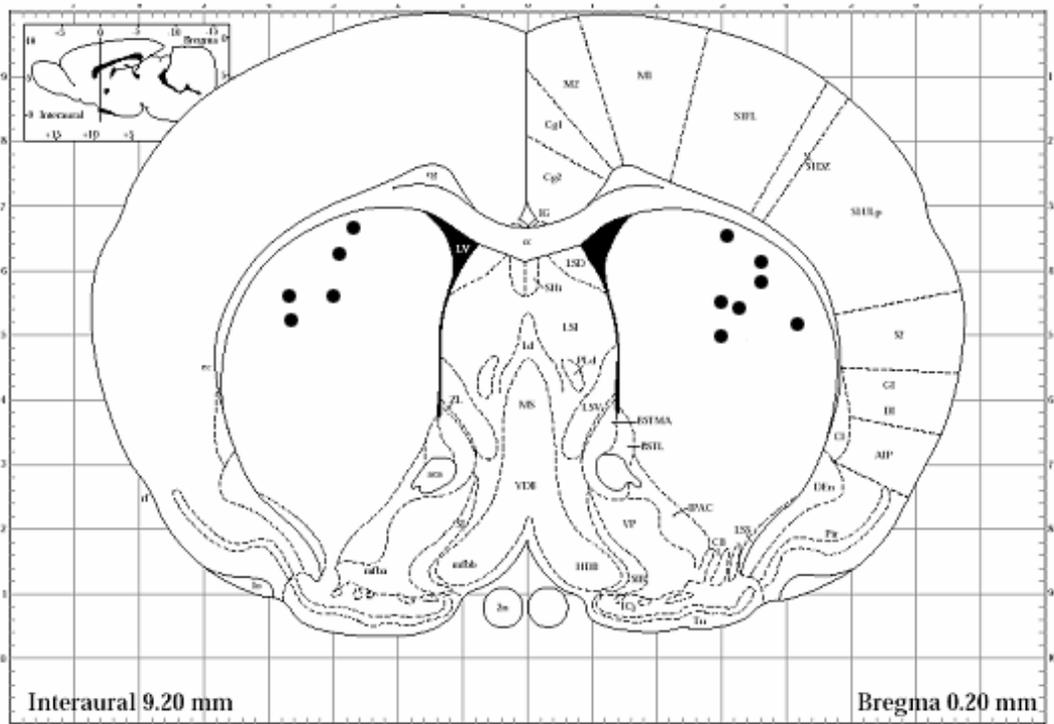


Figura 35. Localización de las puntas de las cánulas, grupo de 2 ng de RU 486.

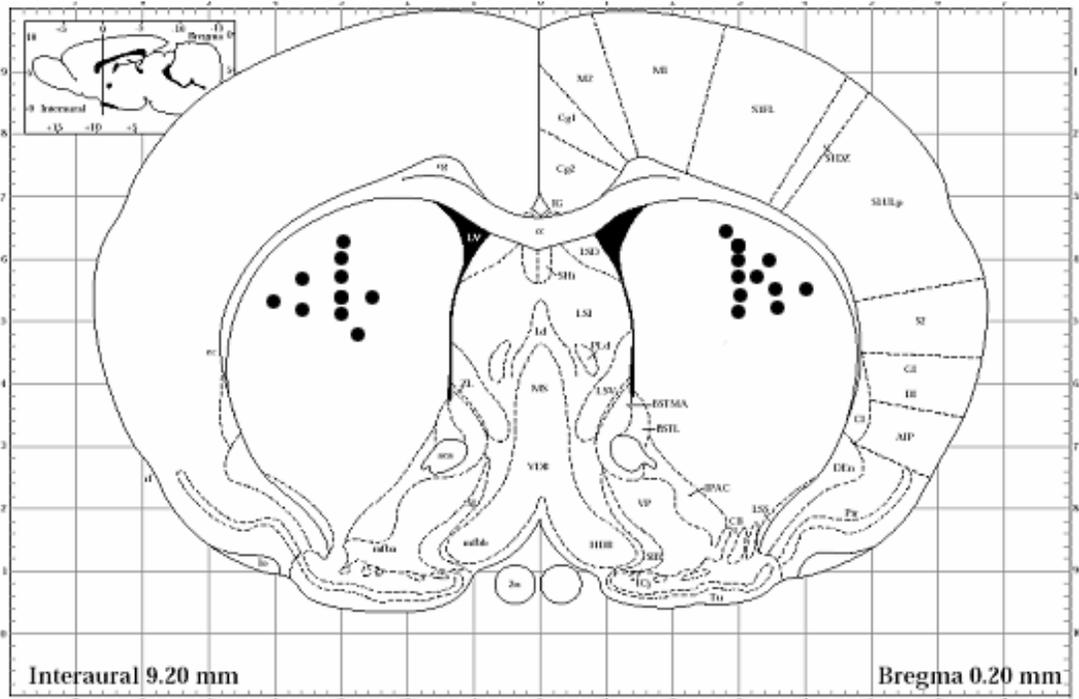


Figura 36. Localización de las puntas de las cánulas, grupo 5 ng de RU 486.

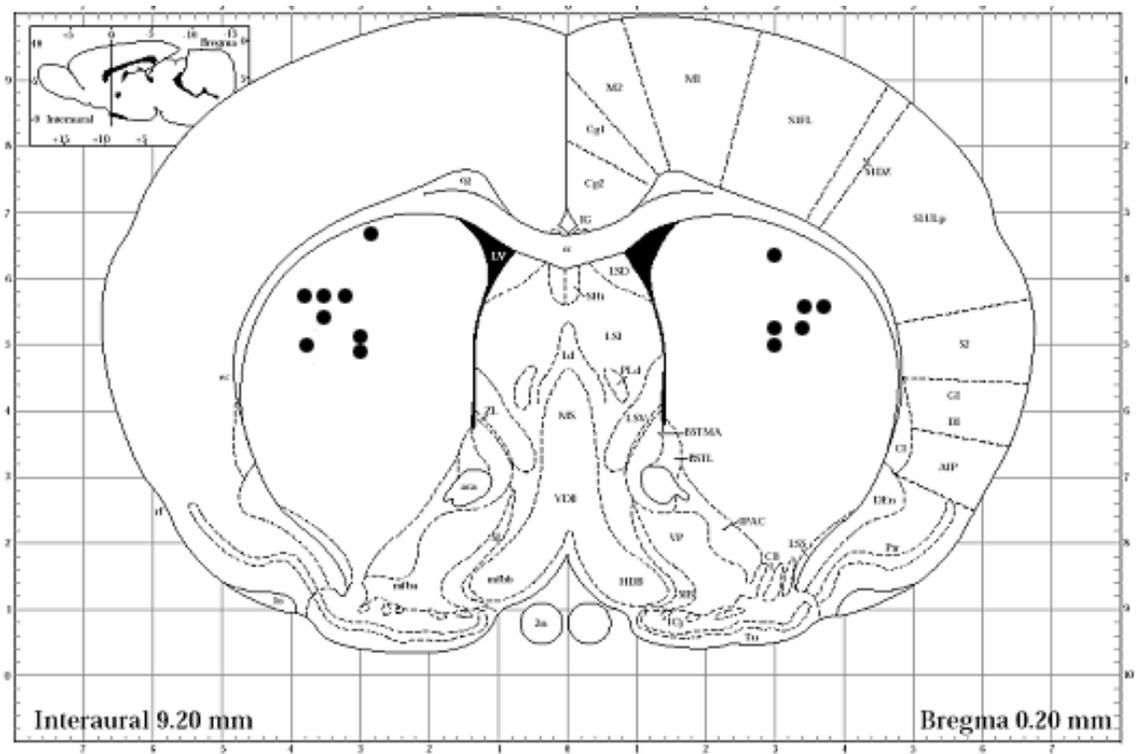


Figura 37. Localización de las puntas de las cánulas, grupo de 10 ng de RU 486.

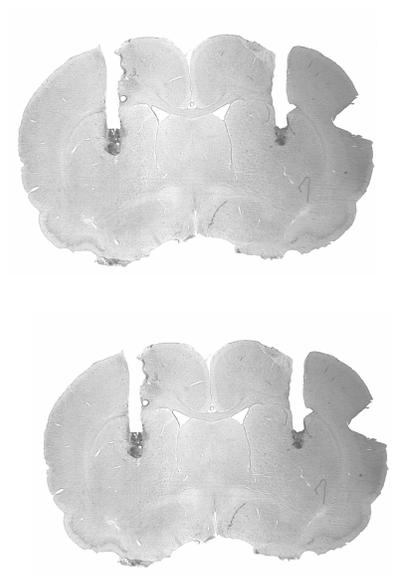


Figura 38. Ejemplos de cortes histológicos representativos. Muestran la localización de las puntas de las cánulas en el estriado antero-dorsal.

## B. Resultados conductuales

### 1. Experimento 1 (Grupos intactos entrenados en LAM)

En este experimento todas las ratas fueron intactas y cada grupo tuvo una  $n=10$

#### Sesión de entrenamiento

Se realizó el análisis de las latencias de escape durante el entrenamiento (tiempo de llegada a la plataforma) del grupo entrenado con plataforma oculta y del grupo entrenado con plataforma visible (Figura 39). No se encontraron diferencias significativas entre el tipo de entrenamiento utilizado en los grupos ( $F[3.84]$ , g.l. = 1, 19  $p = 0.07$ ), mientras que si las hubo al analizar el desarrollo de la respuesta a lo largo de los ensayos ( $F[11.05]$ , g.l. = 7  $p = 0.0001$ ) y la interacción entre el tipo de entrenamiento y los ensayos ( $F[2.77]$ , g.l. = 7  $p = 0.01$ ).

#### Sesión de prueba

Se realizó el análisis de las latencias de escape del día de prueba (tiempo de llegada a la plataforma) del grupo entrenado con plataforma oculta y el entrenado con plataforma visible. Se encontraron diferencias significativas entre el tipo de entrenamiento utilizado entre los grupos ( $F[8.21]$ , g.l. = 1, 19  $p = 0.01$ ), y también al analizar el desarrollo de la respuesta a lo largo de los ensayos ( $F[5.50]$ , g.l. = 3,  $p = 0.002$ ). No se encontró interacción entre el tipo de entrenamiento y los ensayos ( $F[0.82]$ , g.l. = 3,  $p = 0.5$ ).

La prueba post hoc de Duncan mostró que la única diferencia significativa ocurrió en el tercer ensayo, el grupo entrenado con plataforma oculta tuvo una latencia menor ( $p < 0.5$ ) (Figura 39). No hubo diferencias significativas en el primer ensayo de la sesión de retención (Figura 40).

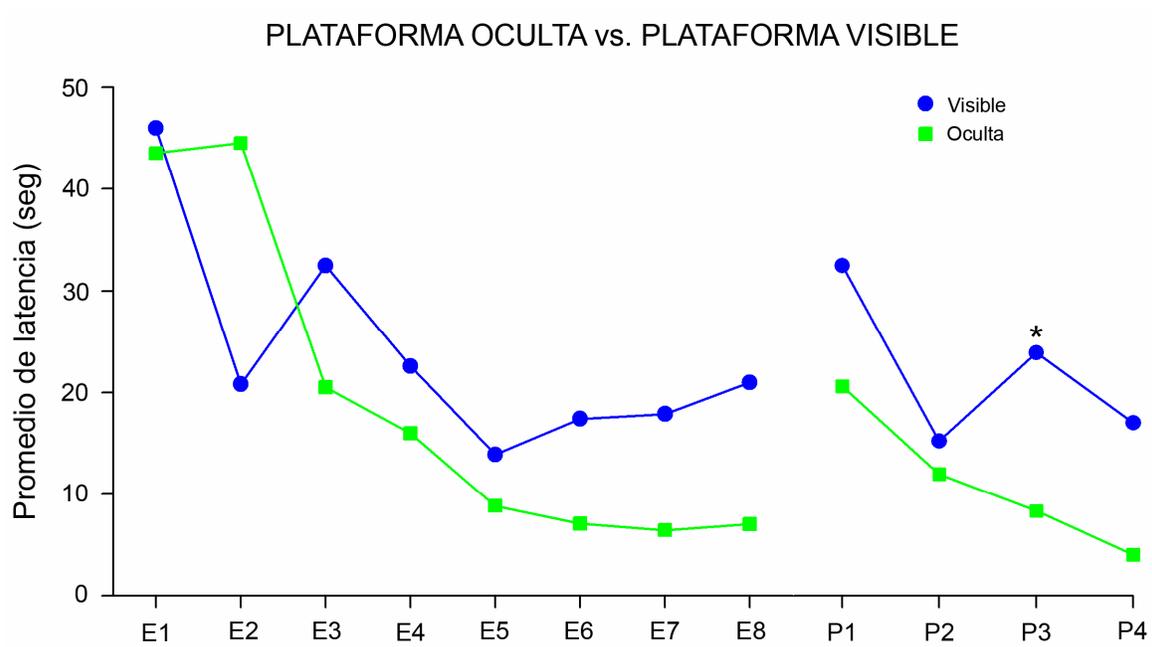


Figura 39. Promedio de las latencias de escape de las ratas íntegras durante el entrenamiento y la prueba con plataforma oculta vs. plataforma visible. El asterisco indica  $p < 0.05$  al comparar ambos grupos en el tercer ensayo de la sesión de prueba.

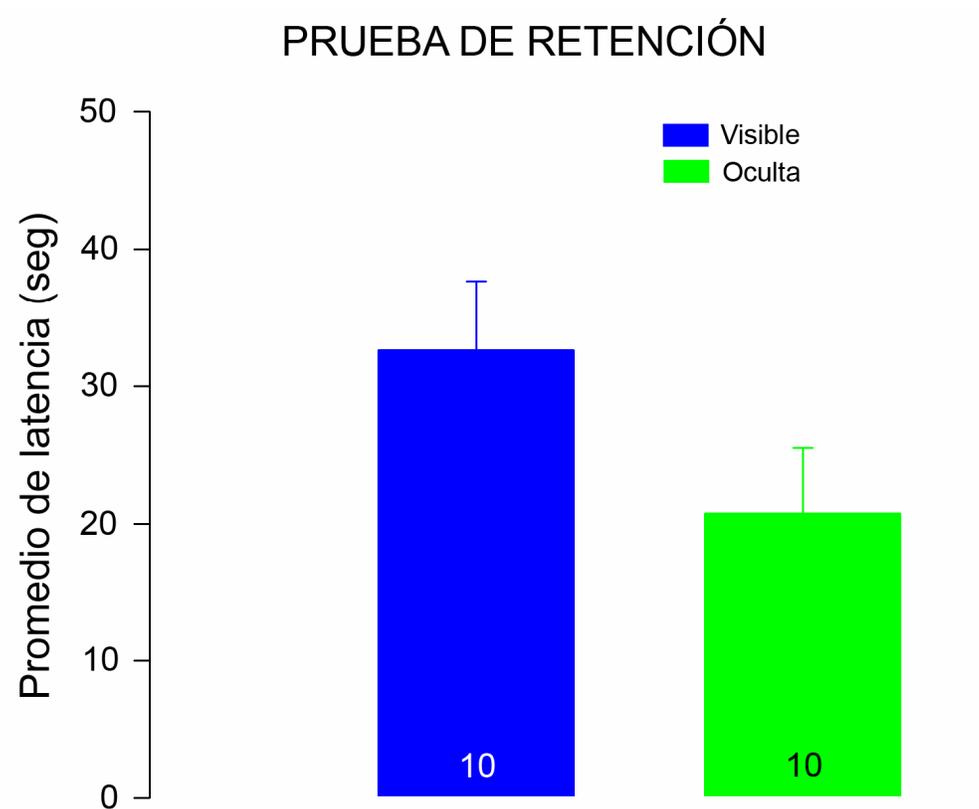


Figura 40. Promedio de las latencias de escape de las ratas íntegras durante el primer ensayo de la prueba con plataforma oculta vs. plataforma visible. El número dentro de la barra indica la n.

## 2. Experimento 2 (Administración de CORT)

En este experimento la n de los grupos fue la siguiente:

Grupo vehículo n=13, CORT 2 ng n=15, CORT 5 ng n=11, CORT 10 ng n=13

Sesión de entrenamiento

En este experimento también se realizó el análisis de las latencias de llegada a la plataforma con la prueba de parcelas divididas, en la sesión de entrenamiento de los diferentes grupos (vehículo, CORT 2 ng, CORT 5 ng, CORT 10 ng) y no se encontraron diferencias significativas entre los grupos ( $F[0.77]$ , g.l. =3  $p = 0.52$ ), (Figura 41).

### Sesión de prueba

Se realizó el análisis de las latencias de escape (tiempo de llegada a la plataforma) de los cuatro ensayos del día de prueba de los diferentes grupos con la prueba de parcelas divididas. No se encontraron diferencias significativas entre los grupos ( $F[1.28]$ , g.l. = 3,48  $p = 0.29$ ), pero si se encontraron diferencias significativas al analizar el desarrollo de la respuesta a lo largo de los ensayos ( $F[12.23]$ , g.l. = 3,  $p = 0.0001$ ). También se encontró que hubo interacción entre el tipo de entrenamiento y los ensayos ( $F[3.58]$ , g.l. = 9,  $p = 0.0005$ ) (Figura 40).

Como hemos mencionado antes, la medida principal de memoria en el aprendizaje del laberinto acuático está representada por la latencia para encontrar la plataforma en el primer ensayo de la segunda sesión, por lo que además de la Figura 41 en la que mostramos los 4 ensayos de la prueba se graficó el comportamiento de los diferentes grupos en el primer ensayo de la segunda sesión, ésto se muestra en la Figura 42.

Al realizar el análisis de varianza de un factor se encontraron diferencias significativas entre los grupos ( $F[5.96]$ , g.l. = 3  $p = 0.002$ ).

Cuando se realizó la prueba post hoc de Duncan se encontró que durante el primer ensayo de la sesión de prueba, el grupo CORT 5 ng tuvo una latencia de escape significativamente menor que el resto de los grupos (comparado con el vehículo,  $p=0.01$ ; comparado con CORT 2 ng,  $p=0.05$ ; comparado con CORT 10 ng,  $p=0.01$ ) (Figura 42).

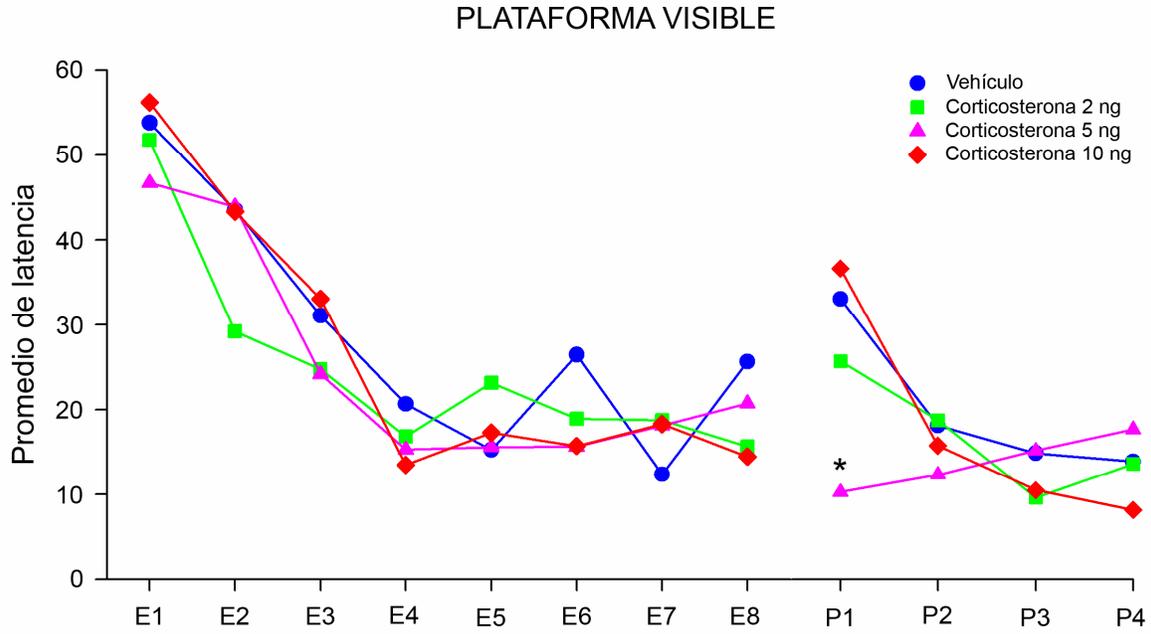


Figura 41. Promedios de las latencias de escape durante la sesión de entrenamiento y de prueba, de los diferentes grupos tratados con vehículo, 2 ng, 5 ng y 10 ng de CORT. El asterisco indica  $p \leq 0.05$  al comparar los diferentes grupos en el mismo ensayo.

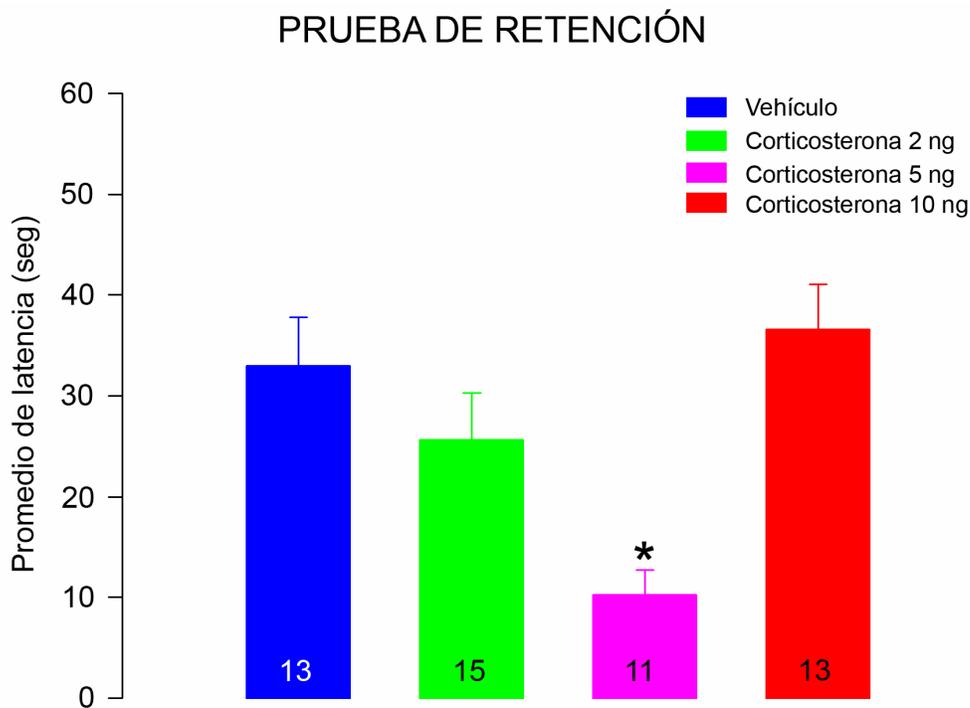


Figura 42. Promedios de las latencias de escape en el primer ensayo de la sesión de prueba, de los diferentes grupos tratados con vehículo, CORT 2 ng, CORT 5 ng y CORT 10 ng, El asterisco indica  $p \leq 0.05$  en comparación con el resto de los grupos. El número dentro de la barra indica la n.

### 3. Experimento 3 (Administración de RU 486)

Las n de los grupos fueron: vehículo n=11, RU 486 0.5 ng n=11, RU 486 1 ng n= 11, RU 486 2 ng n=12, RU 486 5 ng n= 10 y RU 486 10 ng n=12.

#### Sesión de entrenamiento

El análisis de varianza de parcelas divididas mostró en la sesión de entrenamiento que no hubo diferencias significativas entre los grupos en cuanto al efecto de los tratamientos aplicados ( $F[0.80]$ , g.l. = 5,61  $p = 0.55$ ), mientras que si las hubo al analizar el desarrollo de la respuesta a

lo largo de los ensayos ( $F[50.47]$ , g.l. = 7,  $p = 0.0001$ ), sin haberse encontrado una interacción significativa entre los dos factores mencionados (tratamiento y ensayos) ( $F[1.09]$ , g.l. = 35,  $p = 0.33$ ) (Figura 43).

#### Sesión de prueba

El análisis de varianza de parcelas divididas mostró que al comparar las latencias de los cuatro ensayos de los diferentes grupos no hubo diferencias significativas ( $F[1.99]$ , g.l. = 5,61  $p = 0.09$ ). Pero si se encontraron diferencias significativas al analizar el desarrollo de la respuesta a lo largo de los ensayos ( $F[18.74]$ , g.l. = 3,  $p = 0.0001$ ). No hubo una interacción significativa entre el tipo de entrenamiento y los ensayos ( $F[1.08]$ , g.l. = 15,  $p = 0.38$ ) (Figura 43).

La medida principal de la memoria en el aprendizaje de laberinto acuático es la latencia para encontrar la plataforma en el primer ensayo de la segunda sesión, llamada de prueba. Es decir, una vez que hubieron aprendido en la primera sesión, transcurrieron 48 horas para que los animales demostraran si ese aprendizaje quedó almacenado en la memoria de largo plazo.

A pesar de que en la segunda sesión se midió la conducta durante cuatro ensayos, la latencia para llegar a la plataforma durante el primero de ellos indica cuánto se almacenó en la memoria. Los tres ensayos restantes representan un índice de reaprendizaje. Para analizar las latencias del primer ensayo se aplicó un análisis de varianza completamente aleatorizado, de un factor (tratamientos), no encontrándose diferencias significativas entre los tratamientos ( $F [2.05]$ ,  $gl = 5$   $p = 0.08$ , a pesar de que se pueden apreciar diferencias muy aparentes entre las medias de los grupos (Figura 44). Para confirmar el resultado estadístico descrito, los mismos datos fueron analizados con la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, encontrándose el mismo resultado:  $H[10.05]$ ,  $gl=5$   $p=0.07$ .

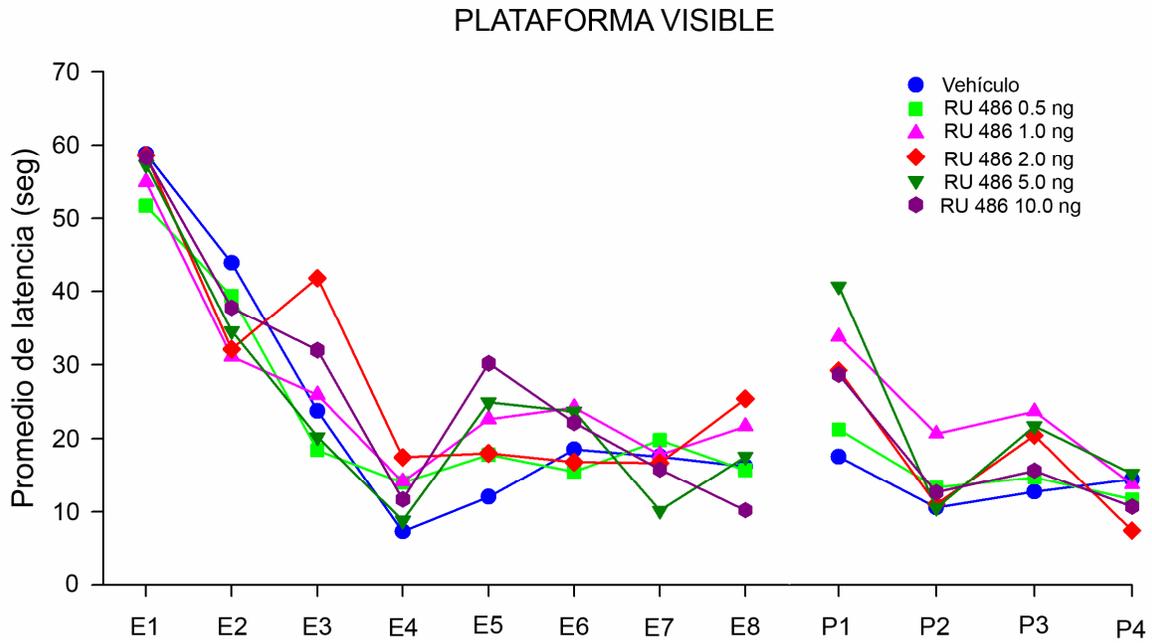


Figura 43. Promedio de las latencias de escape durante la sesión de entrenamiento y de prueba, de los diferentes grupos tratados con vehículo, 0.5 ng, 1 ng, 2 ng, 5 ng y 10 ng de RU 486.

## PRUEBA DE RETENCIÓN

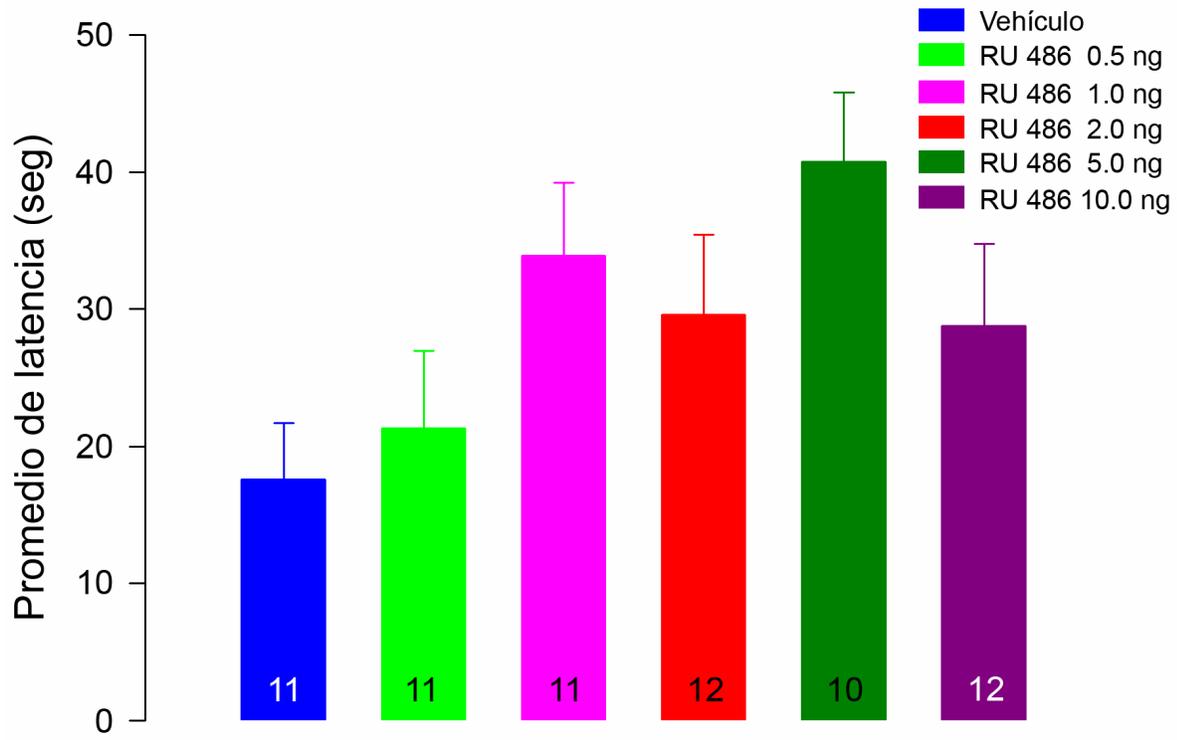


Figura 44. Promedio de las latencias de escape de los grupos tratados con diferentes dosis de RU 486, en el primer ensayo del día de prueba. El número dentro de la barra indica la n.

## VIII. DISCUSIÓN

Ya que en ciencia no basta con saber ¿que ocurre? sino el buscar el ¿por qué ocurre?, con nuestros datos podemos dilucidar varias ideas; en el Experimento 1 podemos decir que todas las ratas aprendieron tanto en plataforma oculta como en visible. Esto no concuerda con hallazgos en la literatura en donde los sujetos entrenados en el LAM con plataforma oculta aprenden aproximadamente en el segundo ensayo (Oitzl, Flutterm, Sutanto y de Kloet, 1998) y los de la plataforma visible aproximadamente en el tercer ensayo (Prusky, West y Douglas, 2000; Smith et al., 1998). Sin embargo dichas evidencias se refieren a trabajos realizados en laberintos diferentes.

El grupo de Sandi, Loscertales y Guaza encontró, en 1997, que un grupo de ratas entrenadas en el laberinto acuático con agua a una temperatura de 19° C, comparado con uno entrenado con agua a 25° C, tuvo una diferencia significativa en los niveles de CORT, y al inyectarse intraperitonealmente CORT encontraron una facilitación en el grupo de 25 °C y no así en el de 19 °C (Sandi, Loscertales y Guaza, 1997). Esto es fácil de explicar ya que los glucocorticoides tiene dosis-efectos que siguen un comportamiento de “U” invertida: si el grupo de 19 °C se encuentra con estrés elevado y por ende con niveles superiores de CORT se encontraría entonces estable o con deterioro pero no se podría encontrar mejoría; por otro lado el grupo de 25 °C se encontraría con niveles bajos de CORT y tendería por ende a la facilitación, como se muestra en la Figura 44. Por otro lado, observamos que la dispersión de nuestros datos a lo largo de todos los experimentos se puede dar debido a que, como se explica en artículos previos, una temperatura de 25 °C no es suficiente estímulo para obtener un aprendizaje homogéneo ya que no todos los sujetos aprenden de igual manera, como se observó en el artículo de Akirav y col. (2001) en donde se estudio la fosforilación de la proteína kinasa reguladora extracelular 2 (ERK2). Se sabe que ésta juega un papel importante en el aprendizaje y la memoria, y que con la temperatura de 25 °C no siempre se tenía la fosforilación de dicha proteína y que estos sujetos sin fosforilación de la proteína no aprendían o bien este aprendizaje era pobre (Akirav, Sandi y Richter-Levin, 2001).

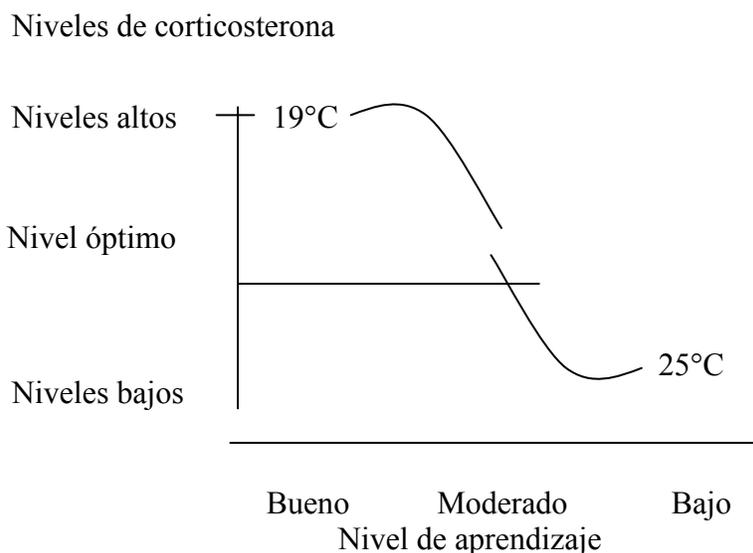


Figura 45. Comportamiento del aprendizaje en LAM, bajo diferentes temperaturas y niveles de CORT.

Otro descubrimiento en nuestro trabajo fue el hecho de encontrar facilitación en el grupo de CORT y no encontrar deterioro en el grupo de RU 486; esto podría deberse a acciones no genómicas de los glucocorticoides de los cuales se sabe que ejercen diferentes acciones, tales como alteraciones en la membrana lipídica (Carlson, Gruber y Thompson, 1983), interacción con receptores a neurotransmisores (Majewska, Harrison, Schwartz, Barker y Paul, 1986), entre otros, así como también induce cambios en la proteína G, en las conductancias iónicas, y en la traducción de señales moleculares. Asimismo, la activación de los GR origina que la formación de AMPc se eleve (de Kloet et al., 1993), ya que el antagonista RU 486 actúa bloqueando a los GR en sus acciones genómicas y suponemos que la facilitación de la memoria pudo no deberse a estas acciones ya que al bloquear los receptores a glucocorticoides no encontramos deterioro.

Así también podemos proponer la posibilidad de inducción de plasticidad cerebral, ya que este es un punto importante en la memoria de largo plazo. Recordemos que en las bases fisiológicas del aprendizaje y la memoria, tenemos a la teoría anatómica la cual se basa en cambios

estructurales que se suscitan en el sistema nervioso central (Prado-Alcalá, 1991). Se ha determinado que la síntesis de proteínas contribuye al crecimiento sináptico, a la remodelación de la sinapsis ya existentes o a la emergencia de nuevas (Dudai, 2002); por otro lado el fenómeno de la LTP ha sido el más estudiado, así como las moléculas que están involucradas en este fenómeno, entre las que se encuentran las proteínas kinasas como la PKA (proteína kinasa A), PKC, (proteína kinasa C), moléculas de adhesión celular (CAM, cell adhesión molecule), las moléculas de adhesión celular nerviosa (NCAM, nerve cell adhesión molecule), AMPc, CREB (cAMP response element binding protein), MAPK, uPA (activador plasmineno-urokinasa), tPA (activador de plasminogeno de tejido) (Matynia, Kushner y Silva, 2002; Roozendaal, Bohus y McGaugh, 1996a). Sabemos que los glucocorticoides pueden promover la plasticidad sináptica (Lupien y McEwen, 1997), ya que se ha visto que producen LTP y que este sigue el curso de la “U” invertida de los GR (de Kloet, Grootendorst, Karssen y Oitzl, 2002; Sandi, 1998). También se sabe que los GR afectan la expresión de las moléculas NCAM, y que incrementan la fosforilación de ERK2 (kinasa reguladora extracelular), la cual es considerada como crítica para la consolidación de la memoria y plasticidad neuronal (McGaugh y Roozendaal, 2002); además, es conocido que los GR estimulan la vía de señalización de AMPc / PKA y éstas parecen no ser acciones genómicas (Roozendaal, Quirarte y McGaugh, 2002).

En cuanto al laberinto acuático se sabe que la plasticidad también juega un papel importante como por ejemplo, las proteínas apoE inducen a las moléculas NCAM (Grootendorst et al., 2001), también se ha visto involucrado CREB en la memoria a largo plazo (Guzowski y McGaugh, 1997), así como la proteasa tPA (Matynia et al., 2002).

Por todo lo expuesto es razonable suponer que la plasticidad juega un papel importante en la mejoría de la memoria que observamos al administrar CORT, y que este fenómeno no fue debido a un efecto genómico de los GR, como lo vieron Roozendaal, Quirarte y McGaugh (2002) con la vía de AMPc y PKA; a este respecto, es relevante el hecho de que el estriado es capaz de presentar LTP (Packard y Knowlton, 2002) y de modular la memoria gracias a moléculas como las glicoproteínas, como lo demostraron Venero, Guaza y Sandi en 1996. Además se ha encontrado que la CORT administrada en el estriado y en el hipocampo modula glicoproteínas (se considera que se requieren para cambios de conectividad neuronal) en sujetos entrenados en el laberinto acuático (Venero, Guaza y Sandi, 1996).

Por otro lado Devan, McDonald y White (1999), al estudiar el laberinto acuático, encontraron que la parte dorsomedial del caudado, por sus conexiones con regiones límbicas cortico-prefrontales, puede mediar una respuesta de elección que integra información cognitiva, y señalan que si se lesiona la región dorsomedial incrementa el miedo y la ansiedad, por lo que sería un blanco para los GR (Devan, McDonald y White, 1999). Además, la región lateral del estriado, que recibe conexiones primariamente de la corteza sensoriomotora y conexiones dopaminérgicas de la sustancia nigra, pars compacta, puede estar especializada en la formación de asociaciones estímulo-respuesta (Devan y White, 1999). En resumen, podemos decir que probablemente algunas de estas vías fueron activadas por los GR, pero nos quedamos, sin embargo, con una gama de interrogantes ¿cuál de estas vías es utilizada por los glucocorticoides? ¿cuáles son los mecanismos íntimos de activación?, ¿qué pasaría si repitiéramos el experimento bloqueando selectivamente cada una de estas vías?

También sabemos que se ha encontrado una subpoblación de neuronas importante en el estriado, ellas responden a estímulos que sirven para el aprendizaje y el recuerdo de tareas motoras, y por lo tanto están implicados en procesos de aprendizaje en los que los ganglios basales se hayan involucrados. Se ha supuesto que estas neuronas son interneuronas colinérgicas que se hayan involucradas en la modulación dinámica del circuito de los ganglios basales y es rica en conexiones sinápticas con las neuronas medianas espinosas (Kitabatake et al., 2003). ¿Serían estas neuronas las responsables de la respuesta de los GR, ya que existen receptores GR en las neuronas medianas espinosas?

Son numerosas las preguntas que se requieren responder dentro del campo, por ahora basados en los hallazgos encontrados en la presente tesis podemos decir que el estriado es una estructura que participa en la memoria de una tarea de LAM en una versión de procedimiento y que los receptores a GR de esta estructura están participando.

## **IX. CONCLUSIONES**

### Experimento 1

Las ratas que fueron entrenadas en el laberinto con plataforma oculta aprendieron y recordaron la tarea de igual forma que las entrenadas con la plataforma visible.

### Experimento 2

Con nuestros resultados rechazamos la hipótesis 1 (la administración intraestriatal de CORT antes del entrenamiento en una tarea de laberinto acuático con plataforma visible, producirá facilitación en la adquisición), ya que encontramos que durante el entrenamiento los sujetos aprenden homogéneamente, independientemente del tratamiento administrado, no encontramos diferencias significativas entre los grupos.

En cambio la hipótesis 2 no fue rechazada (la administración intraestriatal de CORT antes del entrenamiento en una tarea de laberinto acuático con plataforma visible, producirá facilitación en la retención medida a las 48 horas), puesto que encontramos una diferencia significativa entre el grupo vehículo y el grupo CORT 5 ng, en donde la retención del grupo CORT 5 ng es mayor. Así también encontramos que a lo largo de los ensayos del día de prueba todos los grupos tuvieron diferencias entre el ensayo 1 y el resto de los ensayos, excepto el grupo de CORT 5 ng con lo que podemos deducir que muy probablemente esta facilitación sea la máxima posible.

### Experimento 3

Podemos rechazar nuestra hipótesis 3 (la administración intraestriatal de un antagonista glucocorticoide antes del entrenamiento en una tarea de laberinto acuático con plataforma visible, producirá deterioro en la adquisición) ya que los sujetos de todos los grupos aprendieron homogéneamente, sin encontrar ningún tipo de deterioro en el aprendizaje.

Así también rechazamos nuestra hipótesis 4 (la administración intraestriatal de un antagonista glucocorticoide antes del entrenamiento en una tarea de laberinto acuático con plataforma visible, producirá deterioro en la retención medida a las 48 horas) por que no encontramos

deterioro en ninguno de los grupos, ya que estadísticamente no hubo ninguna diferencia significativa.

## X. REFERENCIAS

- Aihara N, Mizukawa K, Koide K, Mabe H y Nishino H. 1994. Striatal grafts in infarct striatopallidum increase GABA release, reorganize GABAA receptor and improve water-maze learning in the rat. *Brain Res. Bull.* **33**: 483-488.
- Akirav I, Sandi C y Richter-Levin G. 2001. Differential activation of hippocampus and amygdala following spatial learning under stress. *Eur. J. Neurosci.* **14**: 719-725.
- Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K y Dwatson J. 1994. Molecular biology of the cell. Garland Press, New York, p 425.
- Atkinson RC y Shiffrin RM. 1968. Human memory: A proposed system and its control processes. En: K.W. Spence y J.T. Spence (eds) The psychology of learning and motivation: Advances in research and theory. Academic Press, New York, pp 89-105.
- Baldi E, Lorenzini CA y Bucherelli C. 2003. Task solving by procedural strategies in the Morris water maze. *Physiol. Behav.* **78**: 785-793.
- Bayer SA. 1984. Neurogenesis in the rat neostriatum. *Int. J. Dev. Neurosci.* **2**: 163-175.
- Berger-Sweeney J, Stearns NA, Murg SL, Floerke-Nashner LR, Lappi DA y Baxter MG. 2001. Selective immunolesions of cholinergic neurons in mice: Effects on neuroanatomy, neurochemistry, and behavior. *J. Neurosci.* **21**: 8164-8173.
- Bermúdez-Rattoni F, Introini-Collison IB y McGaugh JL. 1991. Reversible inactivation of the insular cortex by tetrodotoxin produces retrograde and anterograde amnesia for inhibitory avoidance and spatial learning. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **88**: 5379-5382.

- Bertrand F, Lehmann O, Lazarus C, Jeltsch H y Cassel JC. 2000. Intraseptal infusions of 8-OH-DPAT in the rat impairs water-maze performances: Effects on memory or anxiety? *Neurosci. Lett.* **279**: 45-48.
- Block F, Kunkel M y Schwarz M. 1993. Quinolinic acid lesion of the striatum induces impairment in spatial learning and motor performance in rats. *Neurosci. Lett.* **149**: 126-128.
- Buccafusco JJ. 2001. Methods of behavior analysis in neuroscience. CRC Press, Boca Raton, pp 154-166.
- Cahill L, Roozendaal B y McGaugh JL. 1997. The neurobiology of memory for aversive emotional events. En: M.E. Bouton y M.S. Fanselow (eds) Learning, motivation and cognition. American Psychological Association, Washington, pp 369-384.
- Carlson JC, Gruber MY y Thompson JE. 1983. A study of the interaction between progesterone and membrane lipids. *Endocrinology.* **113**: 190-194.
- Carlson NR. 1998. Fisiología de la conducta. Ariel, Barcelona, España, pp 557-564.
- Carpintero H. 1996. Historia de las ideas psicológicas. Ediciones Piramides, Madrid, pp 57-70.
- Clark LD y Boutros NN. 1999. The brain and behavior: An introduction to behavioral neuroanatomy. Blackwell Science, USA, pp 77-88.
- Cohen NJ y Squire LR. 1980. Preserved learning and retention of pattern-analyzing skill in amnesia: Dissociation of knowing how and knowing that. *Science.* **210**: 207-210.

- Cottrell GA y Nakajima S. 1977. Effect of corticosteroids in the hippocampus on passive avoidance behavior in the rat. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **7**: 277-280.
- Da Cunha C, Wietzikoski S, Wietzikoski EC, Miyoshi E, Ferro MM, Anselmo-Franci JA y Canteras NS. 2003. Evidence for the substantia nigra pars compacta as an essential component of a memory system independent of the hippocampal memory system. *Neurobiol. Learn. Mem.* **79**: 236-242.
- de Kloet ER, Oitzl MS y Jöels M. 1993. Functional implications of brain corticosteroid receptor diversity. *Cell. Mol. Neurobiol.* **13**: 433-455.
- de Kloet ER, Grootendorst J, Karssen AA y Oitzl MS. 2002. Gene x environment interaction and cognitive performance: Animal studies on the role of corticosterone. *Neurobiol. Learn. Mem.* **78**: 570-577.
- Devan BD y White NM. 1999. Parallel information processing in the dorsal striatum: Relation to hippocampal function. *J. Neurosci.* **19**: 2789-2798.
- Devan BD, McDonald RJ y White NM. 1999. Effects of medial and lateral caudate-putamen lesions on place- and cue-guided behaviors in the water maze: Relation to thigmotaxis. *Behav. Brain Res.* **100**: 5-14.
- D'Hooge R y de Deyn PP. 2001. Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. *Brain Res. Brain Res. Rev.* **36**: 60-90.
- Divac I. 1979. Patterns of subcortico-cortical projections as revealed by somatopetal horseradish peroxidase tracing. *Neuroscience.* **4**: 455-461.
- Dudai Y. 2002. Molecular bases of long-term memories: A question of persistence. *Curr. Opin. Neurobiol.* **12**: 211-216.

- Dunnett SB y Iversen SD. 1981. Learning impairments following selective kainic acid-induced lesions within the neostriatum of rats. *Behav. Brain Res.* **2**: 189-209.
- Emptage NJ y Carew TJ. 1993. Long-term synaptic facilitation in the absence of short-term facilitation in Aplysia neurons. *Science.* **262**: 253-256.
- Ferreira TL, Moreira KM, Ikeda DC, Bueno OFA, Gabriela M y Oliveira A. 2003. Effects of dorsal striatum lesions in tone fear conditioning and contextual fear conditioning. *Brain Res.* **987**: 17-24.
- Fibiger HC, Phillips AG y Zis AP. 1974. Deficits in instrumental responding after 6-hydroxydopamine lesions of the nigro-neostriatal dopaminergic projection. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **2**: 87-96.
- Fishell G y van der Kooy D. 1987. Pattern formation in the striatum: Developmental changes in the distribution of striatonigral neurons. *J. Neurosci.* **7**: 1969-1978.
- Giordano M y Prado-Alcalá RA. 1986. Retrograde amnesia induced by post-trial injection of atropine into the caudate-putamen. Protective effect of the negative reinforcer. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **24**: 905-909.
- Glick SD y Greenstein S. 1973. Comparative learning and memory deficits following hippocampal and caudate lesions in mice. *J. Comp. Physiol. Psychol.* **82**: 188-194.
- Gold PE y van Buskirk RB. 1976. Enhancement and impairment of memory processes with post-trial injections of adrenocorticotrophic hormone. *Behav. Biol.* **16**: 387-400.

Graf P, Squire LR y Mandler G. 1984. The information that amnesic patients do not forget. *J. Exp. Psychol. Learn. Mem. Cogn.* **10**: 164-178.

Greenspan FS. 1993. *Endocrinología básica y clínica*. Manual Moderno, México, DF.

Grootendorst J, Oitzl MS, Dalm S, Enthoven L, Schachner M, de Kloet ER y Sandi C. 2001. Stress alleviates reduced expression of cell adhesion molecules (NCAM, L1), and deficits in learning and corticosterone regulation of apolipoprotein E knockout mice. *Eur. J. Neurosci.* **14**: 1505-1514.

Guzowski JF y McGaugh JL. 1997. Antisense oligodeoxynucleotide-mediated disruption of hippocampal cAMP response element binding protein levels impairs consolidation of memory for water maze training. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **94**: 2693-2698.

Hatfield T y McGaugh JL. 1999. Norepinephrine infused into the basolateral amygdala posttraining enhances retention in a spatial water maze task. *Neurobiol. Learn. Mem.* **71**: 232-239.

Haycock JW y McGaugh JL. 1973. Retrograde amnesia gradients as a function of ECS-intensity. *Behav. Biol.* **9**: 123-127.

Haycock JW, Deadwyler SA, Sideroff SI y McGaugh JL. 1973. Retrograde amnesia and cholinergic systems in the caudate-putamen complex and dorsal hippocampus of the rat. *Exp. Neurol.* **41**: 201-213.

Husain M, Mannan S, Hodgson T, Wojciulik E, Driver J y Kennard C. 2001. Impaired spatial working memory across saccades contributes to abnormal search in parietal neglect. *Brain.* **124**: 941-952.

Izquierdo I, Medina JH, Vianna MRM, Izquierdo LA y Barros DM. 1999. Separate mechanisms for short- and long-term memory. *Behav. Brain Res.* **103**: 1-11.

Judy BM y Welshons WV. 1998. Cellular localization of receptors mediating the actions of steroid hormones. En: P.M. Conn y H.M. Goodman (eds) *Handbook of physiology: The endocrine system*. Oxford University Press, New York, pp 437-460.

Kalat JW. 1995. The biology of learning and memory. En: P. Gadbán y R. Flyer (eds) *Biological psychology*. Brooks/Cole, California, USA, pp 448-482.

Kandel ER y Castellucci VF. 1974. A quantal analysis of the synaptic depression underlying habituation of the gill-withdrawal reflex in aplysia. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **7**: 5004-5008.

Kawaguchi Y. 1993. Physiological, morphological, and histochemical characterization of three classes of interneurons in rat neostriatum. *J. Neurosci.* **13**: 4908-4923.

Kawaguchi Y, Wilson CJ, Augood SJ y Emson PC. 1995. Striatal interneurons: Chemical, physiological and morphological characterization. *Trends Neurosci.* **18**: 527-535.

Kikusui T, Tonohiro T y Kaneko T. 1999. Simultaneous evaluation of spatial working memory and motivation by the allocentric place discrimination task in the water maze in rats. *J. Vet. Med. Sci.* **61**: 673-681.

Kim HJ y Routtenberg A. 1976. Retention disruption following post-trial picrotoxin injection into the substantia nigra. *Brain Res.* **113**: 620-625.

Kirkby RJ y Kimble DP. 1968. Avoidance and escape behavior following striatal lesions in the rat. *Exp. Neurol.* **20**: 215-227.

- Kitabatake Y, Hikida T, Watanabe D, Pastan I y Nakanishi S. 2003. Impairment of reward-related learning by cholinergic cell ablation in the striatum. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **100**: 7965-7970.
- Kobayashi K y Kobayashi T. 2001. Genetic evidence for noradrenergic control of long-term memory consolidation. *Brain Dev.* **23 Suppl 1**: S16-23.
- Kovács GL, Telegdy G y Lissák K. 1977. Dose-dependent action of corticosteroids on brain serotonin content and passive avoidance behavior. *Horm. Behav.* **8**: 155-165.
- Lazaris A, Cassel S, Stemmelin J, Cassel JC y Kelche C. 2003. Intrastratial infusions of methoctramine improve memory in cognitively impaired aged rats. *Neurobiol. Aging.* **24**: 379-383.
- Lindner MD, Hodges DB, Hogan JB, Orié AF, Corsa JA, Barten DM, Polson C, Robertson BJ, Guss VL, Gillman KW, Starrett JE y Gribkoff VK. 2003. An assessment of the effects of serotonin 6 (5-HT<sub>6</sub>) receptor antagonists in rodent models of learning. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **307**: 682-691.
- Lupien SJ y McEwen BS. 1997. The acute effects of corticosteroids on cognition: Integration of animal and human model studies. *Brain Res. Brain Res. Rev.* **24**: 1-27.
- Majewska MD, Harrison NL, Schwartz RD, Barker JL y Paul SM. 1986. Steroid hormone metabolites are barbiturate-like modulators of the GABA receptor. *Science.* **232**: 1004-1007.
- Majlessi N y Naghdi N. 2002. Impaired spatial learning in the Morris water maze induced by serotonin reuptake inhibitors in rats. *Behav. Pharmacol.* **13**: 237-242.

- Marín O, Smeets WJ y Gonzalez A. 1998. Evolution of the basal ganglia in tetrapods: A new perspective based on recent studies in amphibians. *Trends Neurosci.* **21**: 487-494.
- Matynia A, Kushner SA y Silva AJ. 2002. Genetic approaches to molecular and cellular cognition: A focus on LTP and learning and memory. *Annu. Rev. Genet.* **36**: 687-720.
- McDonald RJ y White NM. 1993. A triple dissociation of memory systems: Hippocampus, amygdala, and dorsal striatum. *Behav. Neurosci.* **107**: 3-22.
- McDonnell DP. 2000. The mechanism of action of steroid hormone receptors. En: P.M. Conn y A.R. Means (eds) Principles of molecular regulation. Humana Press, Totawa, NJ, pp 351-361.
- McEwen BS, de Kloet ER y Rostene W. 1986. Adrenal steroid receptors and actions in the nervous system. *Physiol. Rev.* **66**: 1121-1188.
- McGaugh JL y Roozendaal B. 2002. Role of adrenal stress hormones in forming lasting memories in the brain. *Curr. Opin. Neurobiol.* **12**: 205-210.
- McNamara RK y Skelton RW. 1992. Pharmacological dissociation between the spatial learning deficits produced by morphine and diazepam. *Psychopharmacology.* **108**: 147-152.
- Medina AC, Sánchez-Resendis O, Galindo LE, Prado-Alcalá RA y Quirarte GL. 2002. Is striatal corticosterone involved in memory consolidation? In "32nd Annual Meeting", pp. 19. Society for Neuroscience, Orlando, Florida U.S.A.

- Mitcham JC y Thomas RK. 1972. Effects of substantia nigra and caudate nucleus lesions on avoidance learning in rats. *J. Comp. Physiol. Psychol.* **81**: 101-107.
- Miyoshi E, Wietzikoski S, Camplessei M, Silveira R, Takahashi RN y Da Cunha C. 2002. Impaired learning in a spatial working memory version and in a cued version of the water maze in rats with MPTP-induced mesencephalic dopaminergic lesions. *Brain Res. Bull.* **58**: 41-47.
- Mura A y Feldon J. 2003. Spatial learning in rats is impaired after degeneration of the nigrostriatal dopaminergic system. *Mov. Disord.* **18**: 860-871.
- Nakagawa Y, Ishibashi Y, Yoshii T y Tagashira E. 1995. Muscimol induces state-dependent learning in Morris water maze task in rats. *Brain Res.* **681**: 126-130.
- Neill DB y Grossman SP. 1970. Behavioral effects of lesions or cholinergic blockade of the dorsal and ventral caudate of rats. *J. Comp. Physiol. Psychol.* **71**: 311-317.
- Nelson RJ. 2000. An introduction to behavioral endocrinology. Sinauer Associates, Massachusetts, USA, p 594.
- Nerad L, Ramirez-Amaya V, Ormsby CE y Bermúdez-Rattoni F. 1996. Differential effects of anterior and posterior insular cortex lesions on the acquisition of conditioned taste aversion and spatial learning. *Neurobiol. Learn. Mem.* **66**: 44-50.
- Nieto-Escámez FA, Sanchez-Santed F y de Bruin JP. 2002. Cholinergic receptor blockade in prefrontal cortex and lesions of the nucleus basalis: Implications for allocentric and egocentric spatial memory in rats. *Behav. Brain Res.* **134**: 93-112.

- Nijssen M, Croiset G, Stam R, Bruijnzeel A, Diamant M, de Wied D y Wiegant VM. 2000. The role of the CRH type 1 receptor in autonomic responses to corticotropin-releasing hormone in the rat. *Neuropsychopharmacology*. **22**: 388-399.
- Nolte J. 1994. El cerebro humano: Introducción a la anatomía funcional. Diorki, Barcelona, España, pp (315-326).
- O'Connell AW, Fox GB, Barry T, Murphy KJ, Fichera G, Foley AG, Kelly J y Regan CM. 1997. Spatial learning activates neural cell adhesion molecule polysialylation in a corticohippocampal pathway within the medial temporal lobe. *J. Neurochem*. **68**: 2538-2546.
- O'Connell AW, Fox GB, Kjoller C, Gallagher HC, Murphy KJ, Kelly J y Regan CM. 2001. Anti-ischemic and cognition-enhancing properties of NNC-711, a gamma-aminobutyric acid reuptake inhibitor. *Eur. J. Pharmacol*. **424**: 37-44.
- O'Dell DM, Gibson CJ, Wilson MS, DeFord SM y Hamm RJ. 2000. Positive and negative modulation of the GABA(A) receptor and outcome after traumatic brain injury in rats. *Brain Res*. **861**: 325-332.
- Oitzl MS, Sutanto W y de Kloet ER. 1990. Mineralo and glucocorticoides receptor function in a spatial orientation task. *J. Steroid Biochem*. **26**: 72S.
- Oitzl MS y de Kloet ER. 1992. Selective corticosteroid antagonists modulate specific aspects of spatial orientation learning. *Behav. Neurosci*. **106**: 62-71.
- Oitzl MS, Fluttert M, Sutanto W y de Kloet ER. 1998. Continuous blockade of brain glucocorticoid receptors facilitates spatial learning and memory in rats. *Eur. J. Neurosci*. **10**: 3759-3766.

- O'Keefe J y Dostrovsky J. 1971. The hippocampus as a spatial map: Preliminary evidence from unit activity in the freely moving rat. *Brain Res.* **34**: 171-175.
- Olton DS y Samuelson RJ. 1976. Remembrance of places passed: Spatial memory in rats. *J. Exp. Psychol.-Anim. Behav. Process.* **2**: 97-116.
- Packard MG y McGaugh JL. 1992. Double dissociation of fornix and caudate nucleus lesions on acquisition of two water maze tasks: Further evidence for multiple memory systems. *Behav. Neurosci.* **106**: 439-446.
- Packard MG, Cahill L y McGaugh JL. 1994. Amygdala modulation of hippocampal-dependent and caudate nucleus-dependent memory processes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **91**: 8477-8481.
- Packard MG y Teather LA. 1998. Amygdala modulation of multiple memory systems: Hippocampus and caudate-putamen. *Neurobiol. Learn. Mem.* **69**: 163-203.
- Packard MG y Knowlton BJ. 2002. Learning and memory functions of the basal ganglia. *Annul. Rev. Neurosci.* **25**: 563-593.
- Parent A y Hazrati LN. 1995. Functional anatomy of the basal ganglia. I. The cortico-basal ganglia-thalamo-cortical loop. *Brain Res. Brain Res. Rev.* **20**: 91-127.
- Pavlov IP. 1927. *Conditioned reflexes: An investigation of the physiological activity of the cerebral cortex.* Oxford University Press, London.
- Ploeger GE, Spruijt BM y Cools AR. 1994. Spatial localization in the Morris water maze in rats: Acquisition is affected by intra-accumbens injections of the dopaminergic antagonist haloperidol. *Behav. Neurosci.* **108**: 927-934.

- Prado-Alcalá RA, Grinberg-Zylberbaum J, Alvarez-Leefmans J, Gomez A, Singer S y Brust-Carmona H. 1972. A possible caudate-cholinergic mechanism in two instrumental conditioned responses. *Psychopharmacologia*. **25**: 339-346.
- Prado-Alcalá RA, Kent EW y Reid LD. 1975. Intracranial self-stimulation effects along the route of the nigro-striatal bundle. *Brain Res*. **84**: 531-540.
- Prado-Alcalá RA, Kaufmann P y Moscona R. 1980. Scopolamine and KCl injections into the caudate nucleus. Overtraining-induced protection against deficits of learning. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **12**: 249-253.
- Prado-Alcalá RA, Signoret L y Figueroa M. 1981. Time-dependent retention deficits induced by post-training injections of atropine into the caudate nucleus. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **15**: 633-636.
- Prado-Alcalá RA. 1985. Is cholinergic activity of the caudate nucleus involved in memory? *Life Sci.* **37**: 2135-2142.
- Prado-Alcalá RA. 1991. Fisiología del aprendizaje y la memoria. En: G. Ninomiya (ed) Fisiología humana. I. Neurofisiología. Manuel Moderno, México, pp 492-508.
- Prado-Alcalá RA y Quirarte GL. 1993. La conducta y la mente. *Información Científica y Tecnológica*. 21-25.
- Prado-Alcalá RA, Solana-Figueroa R, Galindo LE, Medina AC y Quirarte GL. 2003a. Blockade of striatal 5-HT<sub>2</sub> receptors produces retrograde amnesia in rats. *Life Sci.* **74**: 481-488.

- Prado-Alcalá RA, Ruiloba MI, Rubio L, Solana-Figueroa R, Medina C, Salado-Castillo R y Quirarte GL. 2003b. Regional infusions of serotonin into the striatum and memory consolidation. *Synapse*. **47**: 169-175.
- Prusky GT, West PWR y Douglas RM. 2000. Reduced visual acuity impairs place but not cued learning in the Morris water task. *Behav. Brain Res.* **116**: 135-140.
- Quirk GJ, Muller RU, Kubie JL y Ranck JB. 1992. The positional firing properties of medial entorhinal neurons: Description and comparison with hippocampal place cells. *J. Neurosci.* **12**: 1945-1963.
- Reul JM, Gesing A, Droste S, Stec IS, Weber A, Bachmann C, Bilang-Bleuel A, Holsboer F y Linthorst AC. 2000. The brain mineralocorticoid receptor: Greedy for ligand, mysterious in function. *Eur. J. Pharmacol.* **405**: 235-249.
- Rogers DC y Hagan JJ. 2001. 5-HT<sub>6</sub> receptor antagonists enhance retention of a water maze task in the rat. *Psychopharmacology (Berl)*. **158**: 114-119.
- Roosendaal B, Bohus B y McGaugh JL. 1996a. Dose-dependent suppression of adrenocortical activity with metyrapone: Effects on emotion and memory. *Psychoneuroendocrinology*. **21**: 681-693.
- Roosendaal B, Portillo-Marquez G y McGaugh JL. 1996b. Basolateral amygdala lesions block glucocorticoid-induced modulation of memory for spatial learning. *Behav. Neurosci.* **110**: 1074-1083.
- Roosendaal B y McGaugh JL. 1997a. Glucocorticoid receptor agonist and antagonist administration into the basolateral but not central amygdala modulates memory storage. *Neurobiol. Learn. Mem.* **67**: 176-179.

- Roozendaal B y McGaugh JL. 1997b. Basolateral amygdala lesions block the memory-enhancing effect of glucocorticoid administration in the dorsal hippocampus of rats. *Eur. J. Neurosci.* **9**: 76-83.
- Roozendaal B, Quirarte GL y McGaugh JL. 2002. Glucocorticoids interact with the basolateral amygdala beta-adrenoceptor-cAMP/cAMP/PKA system in influencing memory consolidation. *Eur. J. Neurosci.* **15**: 553-560.
- Roozendaal B, McReynolds JR y McGaugh JL. 2004. The basolateral amygdala interacts with the medial prefrontal cortex in regulating glucocorticoid effects on working memory impairment. *J. Neurosci.* **24**: 1385-1392.
- Russell MG y Dias R. 2002. Memories are made of this (perhaps): A review of serotonin 5-HT(6) receptor ligands and their biological functions. *Curr. Top. Med. Chem.* **2**: 643-654.
- Sahgal A. 1993. Behavioural neuroscience: A practical approach. En. Oxford University Press, New York, pp 107-122.
- Salado-Castillo R, Diaz del Guante MA, Alvarado R, Quirarte GL y Prado-Alcalá RA. 1996. Effects of regional GABAergic blockade of the striatum on memory consolidation. *Neurobiol. Learn. Mem.* **66**: 102-108.
- Sandberg K, Sanberg PR y Coyle JT. 1984. Effects of intrastriatal injections of the cholinergic neurotoxin AF64A on spontaneous nocturnal locomotor behavior in the rat. *Brain Res.* **299**: 339-343.
- Sandi C y Rose SP. 1994. Corticosterone enhances long-term retention in one-day-old chicks trained in a weak passive avoidance learning paradigm. *Brain Res.* **647**: 106-112.

- Sandi C, Loscertales M y Guaza C. 1997. Experience-dependent facilitating effect of corticosterone on spatial memory formation in the water maze. *Eur. J. Neurosci.* **9**: 637-642.
- Sandi C. 1998. The role and mechanisms of action of glucocorticoid involvement in memory storage. *Neural Plast.* **6**: 41-52.
- Sapolsky RM, Romero LM y Munck AU. 2000. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocrine Rev.* **21**: 55-89.
- Selden NR, Cole BJ, Everitt BJ y Robbins TW. 1990. Damage to ceruleo-cortical noradrenergic projections impairs locally cued but enhances spatially cued water maze acquisition. *Behav. Brain Res.* **39**: 29-51.
- Setlow B y McGaugh JL. 1999. Differential effects of immediate posttraining sulpiride microinfusions into the nucleus accumbens shell and core on Morris water maze retention. *Psychobiology.* **27**: 248-255.
- Shimamura AP. 1986. Priming effects of amnesia: Evidence for a dissociable memory function. *Q J Exp Psychol A.* **38**: 619-644.
- Sirvio J, Lahtinen H, Riekkinen P y Riekkinen PJ. 1994. Spatial learning and noradrenaline content in the brain and periphery of young and aged rats. *Exp. Neurol.* **125**: 312-315.
- Skarsfeldt T. 1996. Differential effect of antipsychotics on place navigation of rats in the Morris water maze. A comparative study between novel and reference antipsychotics. *Psychopharmacology (Berl).* **124**: 126-133.

- Smith DR, Striplin CD, Geller AM, Mailman RB, Drago J, Lawler CP y Gallagher M. 1998. Behavioural assessment of mice lacking D-1A dopamine receptors. *Neuroscience*. **86**: 135-146.
- Solana-Figueroa R, Salado-Castillo R, Quirarte GL, Galindo LE y Prado-Alcalá RA. 2002. Enhanced inhibitory avoidance training protects against the amnesic effect of p-chloroamphetamine. *Life Sci*. **71**: 391-399.
- Squire LR. 1997. Memory systems of the brain. *Brain Cogn*. **35**: 297-298.
- Squire LR y Kandel ER. 1999. A synaptic storage mechanism for declarative memory. En: *Memory from mind to molecules*. Scientific American Library, New York, pp 109-127.
- Staubli U y Huston JP. 1978. Effects of post-trial reinforcing vs. subreinforcing stimulation of the substantia nigra on passive avoidance learning. *Brain Res. Bull*. **3**: 519-524.
- Steckler T y Holsboer F. 2001. Interaction between the cholinergic system and CRH in the modulation of spatial discrimination learning in mice. *Brain Res*. **906**: 46-59.
- Terry AV, Hill WD, Parikh V, Waller JL, Evans DR y Mahadik SP. 2003. Differential effects of haloperidol, risperidone, and clozapine exposure on cholinergic markers and spatial learning performance in rats. *Neuropsychopharmacology*. **28**: 300-309.
- Thompson RF y Kim JJ. 1996. Memory systems in the brain and localization of a memory. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A*. **93**: 13438-13444.
- Thorndike EL. 1911. *Animal intelligence*. MacMillan, New York.

Venero C, Guaza C y Sandi C. 1996. Regional and temporal modulation of brain glycoprotein synthesis by corticosterone. *Neuroreport*. **7**: 2819-2822.

Waugh NC y Norman DA. 1965. Primary memory. *Psychol. Rev.* **72**: 89-104.

Wenk GL. 1997. Assessment of spatial memory using the T-maze. En: J.N. Crawley, C.R. Gerfen, R. McKay, M.A. Rogawski, D.R. Sibley y P. Skolnick (eds) *Current protocols in neuroscience*. Jonh Wiley and Sons, New York, pp 8.5B.1 - 8.5B.7.

Whishaw IQ y Dunnett SB. 1985. Dopamine depletion, stimulation or blockade in the rat disrupts spatial navigation and locomotion dependent upon beacon or distal cues. *Behav. Brain Res.* **18**: 11-29.

Whishaw IQ y Petrie BF. 1988. Cholinergic blockade in the rat impairs strategy selection but not learning and retention of nonspatial visual discrimination problems in a swimming pool. *Behav. Neurosci.* **102**: 662-677.

Winocur G. 1974. Functional dissociation within the caudate nucleus of rats. *J. Comp. Physiol. Psychol.* **86**: 432-439.

Woolley ML, Bentley JC, Sleight AJ, Marsden CA y Fone KC. 2001. A role for 5-HT<sub>6</sub> receptors in retention of spatial learning in the Morris water maze. *Neuropharmacology*. **41**: 210-219.

Wyers EJ, Deadwyler SA, Hirasuna N y Montgomery D. 1973. Passive avoidance retention and caudate stimulation. *Physiol. Behav.* **11**: 809-819.



## XI . ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

	Página
Figura 1. Esquema del condicionamiento clásico	4
Figura 2. Esquema del condicionamiento instrumental	5
Figura 3. Sistema de almacenamiento de memoria	8
Figura 4. Clasificación de la memoria	10
Figura 5. Laberinto radial de 8 brazos	11
Figura 6. Laberinto acuático	13
Figura 7. Laberinto acuático de plataforma oculta	16
Figura 8. Laberinto acuático de plataforma visible	18
Figura 9. Anatomía humana del estriado y el putamen	19
Figura 10. Localización del caudado putamen en la rata	19
Figura 11. Topografía de ganglios basales en el humano	21
Figura 12. Biosíntesis de glucocorticoides	25
Figura 13 Mecanismo de acción de la ACTH	27
Figura 14. Modelo matemático de la respuesta al estrés	33
Figura 15. Esquema del receptor glucocorticoide	34
Figura 16. Mecanismos de los glucocorticoides	34
Figura 17. Transcripción generada por los GR	35
Figura 18. Dominios de los receptores GR y sus interacciones	36
Figura 19. Mecanismos represores de los GR	36
Figura 20. Estructura química del RU 486 y Dexametasona	38
Figura 21. Aparato estereotáxico	46
Figura 22. Manipulación de la rata	47
Figura 23. Rata sobre la plataforma del LAM	47
Figura 24. Laberinto acuático entrenamiento plataforma visible	49
Figura 25. Laberinto acuático prueba plataforma visible	50
Figura 26. Laberinto acuático entrenamiento plataforma oculta	51
Figura 27. Laberinto acuático prueba plataforma oculta	52
Figura 28. Localización de cánulas de grupo vehículo de corticosterona	55

Figura 29. Localización de cánulas de grupo 2 ng de corticosterona	56
Figura 30. Localización de cánulas de grupo 5 ng de corticosterona	56
Figura 31. Localización de cánulas de grupo 10 ng de corticosterona	57
Figura 32. Localización de cánulas de grupo vehículo de RU 486	57
Figura 33. Localización de cánulas de grupo 0.5 ng de RU 486	58
Figura 34. Localización de cánulas de grupo 1 ng de RU 486	58
Figura 35. Localización de cánulas de grupo 2 ng de RU 486	59
Figura 36. Localización de cánulas de grupo 5 ng de RU 486	59
Figura 37. Localización de cánulas de grupo 10 ng de RU 486	60
Figura 38. Cortes histológicos representativos	61
Figura 39. Gráfica de entrenamiento y prueba (ratas intactas)	63
Figura 40. Gráfica de retención (ratas intactas)	64
Figura 41. Gráfica de entrenamiento y prueba (corticosterona)	66
Figura 42. Gráfica de retención (corticosterona)	67
Figura 43. Gráfica de entrenamiento y prueba (RU 486)	69
Figura 44. Gráfica de retención (RU 486)	70
Figura 45. Niveles de CORT en LAM	72
Tabla 1. División de los ganglios basales	20
Tabla 2. Proteínas coactivadoras y corepresoras de los GR	37