



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

ESCUELA DE BIOLOGÍA

**EFFECTO DEL ENTRENAMIENTO INCREMENTADO SOBRE LA
ACTIVACIÓN DEL RECEPTOR A GLUCOCORTICOIDES EN EL
CAUDADO-PUTAMEN DE RATA**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE

BIÓLOGO

PRESENTA:

ROGELIO PEGUEROS MALDONADO

TUTOR: DRA. GINA LORENA QUIRARTE

JUNIO 2015



Agradecimientos

A mi tutora, la Dra. Gina Lorena Quirarte y al Dr. Roberto Agustín Prado Alcalá, por otorgarme un lugar en su laboratorio y permitirme desenvolverme en un magnifico ambiente de trabajo y aprendizaje que siempre quedará grabado en mí.

A los M. en C. Alexander Gonzalez Franco y Paola Bello Medina, por enseñarme con mucha paciencia y orden, además de brindarme su amistad.

A todos mis compañeros de laboratorio, con quienes pude entablar una muy buena relación y amistad. Gracias por aceptarme en el grupo y compartir conmigo algunas risas.

Al Sr. Ángel Méndez Olalde, encargado del cuidado de los animales del bioterio, por su arduo trabajo, sus consejos y la buena actitud hacia mí en todo momento.

A la M. V. Z. Norma Serafín López, por su siempre amable apoyo técnico durante la realización de los experimentos, la búsqueda bibliográfica y la edición de la bibliografía.

Al personal del bioterio, particularmente al M. V. Z José Martín García Servín y a la Dra. Gloria Alejandra Castillo León por facilitar los sujetos experimentales para el desarrollo de este trabajo.

A la M. en C. Leonor Casanova Rico, por su aclaración y asesoría en los trámites pertinentes.

A Elsa Nydia Hernández Ríos, encargada de la Unidad de Microscopía, por el constante apoyo y disponibilidad durante el proceso de análisis de imágenes del presente trabajo.

A la Dra. Cristina Medina Fragoso por su amable apoyo en la disposición del material de laboratorio necesario.

A los Ing. Ramón Martínez Olvera y Omar González Hernández, responsables de la unidad de cómputo.

A Francisco J. Valles y Soledad Medina encargados de la biblioteca.

A la Dirección General de Apoyo al Personal Académico de la UNAM, por el apoyo otorgado con el proyecto PAPIIT IN202414.

Al Instituto de Neurobiología, por abrirme las puertas al mundo de las neurociencias y al trabajo científico que este conlleva.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por su calidad y apertura, que me han permitido extender mi experiencia y formarme como un mejor profesional y ser humano.

Finalmente, quisiera hacer un agradecimiento especial a la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, mi hogar y sitio de máxima formación. Gracias por brindarme las facilidades y la calidad de enseñanza que me ha permitido construir a lo largo de estos años a la persona que soy el día de hoy, siempre me sentiré orgulloso de formar parte de esta institución y de todo lo que representa.

Extiendo el agradecimiento para mis sinodales. La Dra. Berenice Silva Gómez y el M. en C. Ubaldo Quiroz López, por sus sugerencias y atinadas revisiones, además de su siempre amable atención hacia mi persona.

“PENSAR BIEN, PARA VIVIR MEJOR”

La duda es uno de los nombres de la inteligencia.

Jorge Luis Borges

ÍNDICE

Resumen.....	1
1. Introducción.....	2
1.1 El aprendizaje y la memoria	
1.1.1 Aprendizaje.....	3
1.1.2 Memoria.....	5
1.2 Entrenamiento incrementado.....	7
1.3 El estriado (caudado-putamen)	
1.3.1 Ubicación.....	10
1.3.2 Neuroquímica.....	11
1.3.3 Anatomía.....	12
1.3.4 Conectividad.....	13
1.3.5 Funciones.....	13
1.4 El estrés y el aprendizaje.....	14
1.5 Liberación de los glucocorticoides.....	17
1.6 Receptor a glucocorticoides.....	20
1.6.1 Fosforilación del receptor a glucocorticoides (GR).....	22
1. Justificación.....	25
2. Hipótesis.....	25
3. Objetivos.....	25
4. Materiales y método	
5.1 Sujetos.....	26
5.2 Tarea de evitación inhibitoria	
5.2.1 Manipulación.....	27
5.2.2 Aparato.....	27
5.2.3 Entrenamiento.....	28
5.2.4 Prueba de retención.....	28
5.3 Obtención y procesamiento de tejidos	
5.3.1 Sacrificio y obtención de tejidos cerebrales.....	28
5.3.2 Bloqueo.....	29
5.3.3 Crio-sección.....	29
5.4 Inmunohistoquímica de fluorescencia.....	29

5.5 Análisis de imágenes.....	30
5.6 Análisis estadístico	
5.6.1. Análisis conductual.....	30
5.6.2. Análisis histológico.....	30
5.7 Diseño experimental.....	30
5. Resultados	
6.1 Resultados conductuales	
6.1.1. Entrenamiento en la tarea de evitación inhibitoria.....	33
6.1.2. Prueba de retención en la tarea de evitación inhibitoria...	34
6.2 Resultados histológicos	
6.2.1. Proporción de células que presentan pGR en el estriado (caudado-putamen).....	35
6.2.2. Proporción de células que presentan pGR en el estriado (caudado-putamen) dorsal.....	37
6.2.3. Proporción de células que presentan pGR en el estriado (caudado-putamen) ventral.....	38
6. Discusión.....	39
7. Conclusiones.....	50
8. Referencias.....	51
9. Índice de tablas y figuras.....	62

Resumen

El aprendizaje y la memoria son procesos indispensables para la supervivencia de las especies animales. Se sabe que la interferencia con la actividad de estructuras o sistemas neuroquímicos del cerebro no permite la formación de la memoria. Sin embargo numerosas evidencias han demostrado que el aprendizaje incrementado produce un efecto protector en contra de tratamientos que producen amnesia, ya sea administrado de manera sistémica o en estructuras específicas tales como la amígdala, el hipocampo y el estriado. También se conoce que como consecuencia del aprendizaje incrementado en ratas, existe un aumento en la liberación de las hormonas del estrés, los glucocorticoides. Los mecanismos que provocan este fenómeno aún son poco claros. El presente trabajo tuvo como objetivo estudiar la activación del receptor a glucocorticoides fosforilado en la serina 211 (pGR) en el caudado-putamen, producida por el entrenamiento con diferentes intensidades de choque eléctrico. Se entrenaron grupos independientes de ratas en la tarea de evitación inhibitoria con un choque eléctrico bajo, moderado o alto (0.5, 1.0 o 2.0 mA). Además se estudiaron, un grupo intacto, un grupo que fue entrenado pero no recibió choque eléctrico (0.0 mA) y uno al que se le administró choque eléctrico pero que no fue entrenado (2.0 mA). Sesenta minutos después del entrenamiento se extrajeron los cerebros, y se cuantificaron las células pGR positivas utilizando la técnica de inmunohistoquímica de fluorescencia y de imagenología con un microscopio semi-confocal Apotome. Los resultados indican que el grupo de ratas que fue sometido al nivel de aprendizaje más alto (2.0 mA), mostró un aumento en el número de células que presentan pGR en el caudado-putamen. Cuando se analizaron las regiones dorsal y ventral, el aumento sólo fue observado en la región ventral. Podemos concluir que una experiencia incrementada de aprendizaje está relacionada con un aumento en el número de células que presentan el receptor a glucocorticoides fosforilado en la serina 211.

1. Introducción

Los procesos de memoria y aprendizaje representan una influencia esencial para los organismos animales, ya que les permite responder de una manera distinta a consecuencia de una vivencia pasada. Conceptualmente, el aprendizaje se define como un cambio en la conducta como resultado de la experiencia, mientras que la memoria se refiere al proceso de almacenamiento de información. Estos son procesos indisolubles y están presentes desde los organismos con un sistema nervioso relativamente simple como algunos invertebrados hasta la complejidad de los mamíferos.

Existen diversas clasificaciones de los tipos de memoria, una de las más utilizadas es la que se divide en memoria de corto plazo (MCP) y memoria de largo plazo (MLP) en función a su temporalidad. Se ha propuesto que para que una memoria de corto plazo pase a ser una memoria de largo plazo se requiere de un proceso llamado *consolidación* (Dudai, 2004), en el cuál, se establecen en el cerebro, los cambios plásticos necesarios (expresión de receptores, número de espinas dendríticas, conexiones sinápticas, etc.) para el almacenamiento de la información.

Existen diversos sistemas de neurotransmisión que modulan la memoria, como la acetilcolina (ACh) y la serotonina (5-HT). Se sabe que al bloquear estos sistemas farmacológicamente se produce amnesia, sin embargo, se ha encontrado una protección en la memoria inducida por un alto nivel de entrenamiento. (Prado-Alcalá et al., 2006). Un mecanismo que puede influir en este fenómeno, es el estrés, ya que tiene una función como modulador de la memoria y el aprendizaje. Se ha descrito que la presencia de un evento estresante induce la activación del receptor a glucocorticoides (GR) como resultado de la liberación de glucocorticoides (cortisol en humanos y corticosterona en ratas) por el eje HPA (hipotálamo-pituitario-adrenal). En cuanto a la activación del receptor, se trata de un proceso de fosforilación, una adhesión de un grupo fosfato en distintos residuos de serina en la estructura del receptor, siendo particularmente la serina 211 uno de los sitios más estudiados en cuanto a la unión receptor-ligando se refiere (Pocuca, Ruzdijic, Demonacos, Kanazir, & Krstic-Demonacos, 1998).

1.1 El aprendizaje y la memoria

1.1.1 Aprendizaje

Los procesos de aprendizaje y memoria juegan un papel esencial en la supervivencia de las especies, ya que permiten modificar el comportamiento conforme a la experiencia, estos son procesos indisociables y están presentes desde los organismos con un sistema nervioso relativamente simple como algunos invertebrados hasta la complejidad de los mamíferos. Por esta razón los estudios sobre sus bases neurobiológicas han causado especial interés en la ciencia a lo largo de los años (Ninomiya, 1991).

El aprendizaje puede definirse como un cambio relativamente permanente en la conducta, derivado de la experiencia y que no es resultado de la maduración, habituación, fatiga o algún efecto producido por drogas (Hilgard & Bower, 1987). Existen dos tipos fundamentales de aprendizaje. El aprendizaje *no asociativo* y el aprendizaje *asociativo*. El primero se considera la forma más simple del aprendizaje, ejemplos claros son la habituación, la sensibilización y la deshabituación, todos haciendo referencia a la dinámica de respuesta ante la presencia, ausencia o repetición de un estímulo.

El aprendizaje asociativo a su vez, representa un proceso de mayor complejidad, ya que es necesario el establecimiento de una asociación entre un estímulo y una respuesta, ejemplo de esto, el condicionamiento clásico e instrumental.

En el *condicionamiento clásico*, primero se presenta una respuesta natural. En presencia de un estímulo fisiológicamente relevante (estímulo incondicionado) se observa una respuesta fisiológica (respuesta incondicionada). Mientras que en presencia de un estímulo neutro, sólo se observa una reacción de orientación. Sin embargo, al aparear ambos estímulos, se observa que el estímulo neutro puede inducir la respuesta asociada con el estímulo incondicionado. En ese momento el estímulo neutro se considera un estímulo condicionado y la respuesta inducida una respuesta condicionada (Domjan, 2005).

Por su parte el *condicionamiento instrumental* (también conocido como condicionamiento operante) no requiere de una conexión preestablecida entre un estímulo y la respuesta típica que éste produce. En su lugar es observado en animales que operan libremente en su ambiente (Goshen-Gottstein, 2003). Si una conducta particular es reforzada después de ser realizada, con una respuesta que

es placentera o aversiva para el animal, éste asociará esta experiencia a la repetición o evitación de la misma respuesta, esto se conoce como el principio de Thorndike, que establece que las conductas que son seguidas por consecuencias favorables se repetirán con mayor probabilidad y las conductas que son seguidas por consecuencias desfavorables tendrán una menor probabilidad de ocurrencia (Thorndike, 1932).

Los reforzadores, tienen como objetivo el incrementar la probabilidad de que una conducta se repita, y pueden dividirse en primarios y secundarios. Los reforzadores primarios (incondicionados) son aquellos estímulos que no requieren ser asociados con otro estímulo para funcionar como reforzador. Mientras que los reforzadores secundarios (condicionados) son estímulos o situaciones que adquieren la cualidad de reforzador después de ser apareados con un reforzador primario (Mills, 1978).

El entendimiento de estos aspectos ha hecho posible la manipulación experimental del reforzamiento, pudiendo clasificarse en positivo y negativo. El reforzamiento positivo es aquel en que se administra un estímulo gratificante al sujeto cuando éste emite una conducta. El reforzamiento negativo por su parte, es un procedimiento en el cual un estímulo aversivo deja de aplicarse al momento que el sujeto muestra la conducta deseada (Skinner, 1938).

Otra manipulación experimental relevante es el castigo, la cual tiene como objetivo, el disminuir la probabilidad de repetición de una conducta, éste a su vez puede dividirse en castigo positivo y castigo negativo. El castigo positivo se refiere a la aplicación de un estímulo aversivo después de una respuesta, disminuyendo la frecuencia de la misma. Mientras que, en el castigo negativo se retira o deja de aplicarse un estímulo gratificante de forma contingente a una respuesta (Pérez-Fernández, Gutiérrez-Domínguez, García-García, & Gómez-Bujedo, 2005).

Un paradigma conductual de castigo positivo que se ha usado ampliamente, es la tarea de evitación inhibitoria (EI), la cual se divide en dos fases, una de entrenamiento y una de prueba; en la primera es posible lograr una asociación entre dos estímulos, en este caso, el contexto y un choque eléctrico en las patas de la rata, dando como resultado una respuesta de evitación en la segunda fase, o fase de prueba en la que se somete al sujeto a las mismas condiciones experimentales. Esta tarea representa un buen modelo de estudio, ya que permite disociar los elementos de un aprendizaje, y el establecimiento de la memoria.

1.1.2 Memoria

La memoria constituye un proceso de almacenamiento de la información, es decir, la persistencia del aprendizaje en un estado en el que puede ser recuperada un tiempo después (Squire, 1987).

El estudio de la memoria tanto en pacientes amnésicos (pacientes con un deterioro en la capacidad de almacenar información) como en modelos animales, ha demostrado que ésta no se trata de una sola entidad, sino que se compone de sistemas múltiples (Schacter & Tulving, 1994). Afirmación que implicó una diferenciación basada en el tipo de información que se almacena, dividiéndose en memoria declarativa (explícita) y la memoria no declarativa (implícita) (Figura 1). La memoria declarativa se refiere a la memoria de hechos o eventos, mientras que la memoria no declarativa se refiere a la generación de habilidades o asociaciones que pueden derivar en un aprendizaje. Una diferencia en esta clasificación es la flexibilidad de cada tipo de memoria, siendo la memoria declarativa mayormente flexible, al poder ser rápidamente moldeada a contextos novedosos, mientras la memoria no declarativa muestra una menor flexibilidad, al ser totalmente inherente a la situación del aprendizaje, además de tener la característica de adquirirse gradualmente a través de múltiples ensayos (Squire & Knowlton, 1995).

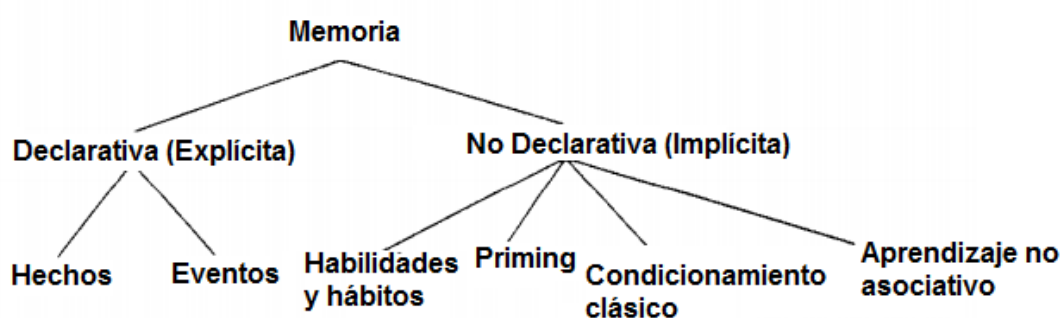


Figura 1. Clasificación de los sistemas múltiples de memoria. Dividida de manera general en memoria declarativa (explícita) y no declarativa (implícita). Modificado de Squire y Zola-Morgan (1991).

Otra clasificación importante de la memoria se expresa en relación al tiempo, dividiéndose en memoria de corto plazo (MCP) y memoria de largo plazo (MLP). La MCP nos permite almacenar una cantidad limitada de información durante un corto período de tiempo, se considera una memoria relativamente frágil y

vulnerable a cualquier tipo de interferencia. Por el contrario, la MLP nos permite almacenar una gran cantidad de información durante un tiempo ilimitado, siendo una memoria más estable y duradera (Redolar-Ripoll, 2012)

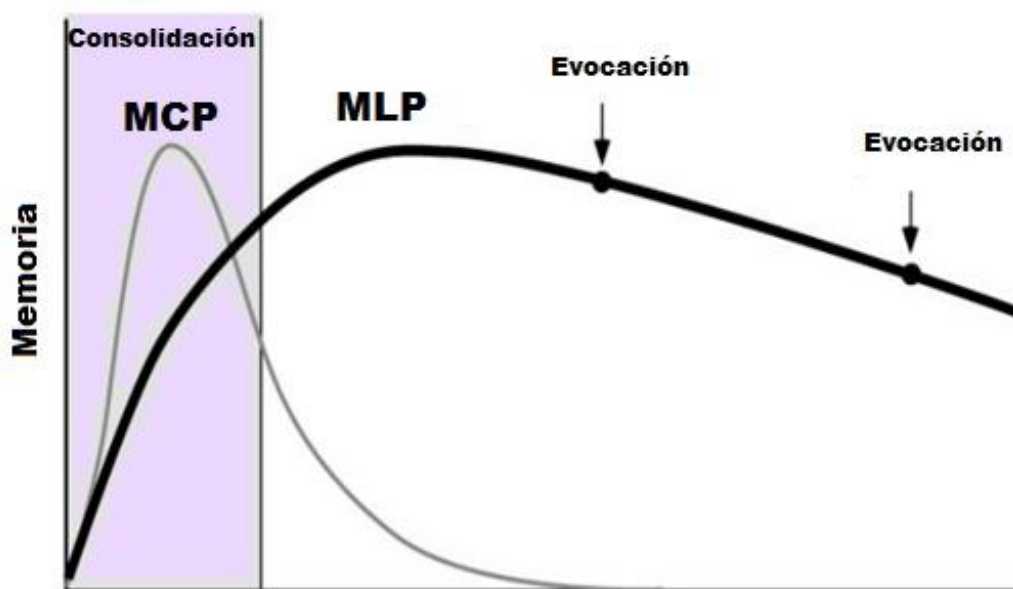


Figura 2. Etapas de la memoria. Una memoria de corto plazo (MCP) se convierte en memoria de largo plazo (MLP) por un proceso de consolidación, para poder ser después evocada. Modificado de Dudai (2004).

En este contexto, se ha descrito que los procesos de memoria pueden fraccionarse en fases (Figura 2). En las cuales, el paso inicial se define como adquisición, momento en que se codifica el estímulo percibido o la memoria de un evento. La siguiente fase se conoce como consolidación, concepto que hace referencia a la estabilización progresiva de la memoria (Dudai, 2002), es decir, el período de transición desde un estado fisiológico inicial lábil hasta el establecimiento de una memoria duradera (Izquierdo et al., 1998), en el cual, se establecen los cambios plásticos necesarios (expresión de receptores, número de espinas dendríticas, conexiones sinápticas, etc.) así como el desencadenamiento de cascadas moleculares que permiten que dichos cambios morfológicos se vuelvan gradualmente estables (Squire & Alvarez, 1995) lo que en conjunto posibilita el almacenamiento de información, permitiendo así, que estas memorias puedan recuperarse, fase que se conoce como evocación.

El concepto de consolidación conllevó a la instauración de un área importante de experimentación, en la que se ha demostrado la importancia de distintos factores durante este periodo de tiempo; tanto aquellos que producen un deterioro en la formación de la memoria, producido por lesiones en estructuras específicas o la administración de antagonistas a los sistemas de neuromodulación (McDonald & White, 1993) , así como la mejoría o facilitación lograda con la administración de agonistas, la repetición o el entrenamiento de paradigmas conductuales y el descubrimiento de la gran trascendencia de la carga emocional de un estímulo durante el aprendizaje para la formación de una memoria duradera (de Kloet, Oitzl, & Joëls, 1999).

1.2 Entrenamiento incrementado

El entrenamiento incrementado es un fenómeno en el cual la influencia de niveles altos de entrenamiento (un número relativamente elevado de repeticiones en una tarea de memoria o la presentación de un estímulo de gran magnitud) en una tarea de aprendizaje induce un efecto protector contra la acción de agentes amnésicos, como lesiones permanentes, inactivación reversible de estructuras así como bloqueadores de receptores a neurotransmisores (Prado-Alcalá et al., 2006).

Existen diferentes estructuras cerebrales que participan en los procesos de memoria. Como el hipocampo, esencial para la formación de memorias contextuales (Reul, 2014), la amígdala, fundamental en la atención e interpretación de la carga emocional de un estímulo (Pitkanen, Savander, & LeDoux, 1997), y el estriado, ampliamente relacionado con memoria de procedimiento y asociación estímulo-respuesta (Packard & Knowlton, 2002).

A su vez, estas regiones se encuentran influenciadas por la interacción de múltiples sistemas de neurotransmisión, necesarios para el establecimiento de la memoria de largo plazo. Dos sistemas ampliamente estudiados en regiones como el sistema límbico y los ganglios basales, cuya participación en la consolidación de memorias emotivas ha podido ser demostrada por estudios farmacológicos, son la acetilcolina (ACh) y la serotonina (5-HT) (Quirarte & Prado-Alcalá, 2004).

Dicha participación ha sido descrita con la ayuda de paradigmas conductuales como la tarea de evitación inhibitoria. En la que se ha demostrado que la administración sistémica o local de tratamientos que estimulen la liberación de

acetilcolina como la administración de fisostigmina, mejora la ejecución en la tarea, mientras que la administración de tratamientos que bloqueen la actividad colinérgica, interfieren con la formación de la memoria, al observarse un fuerte cuadro amnésico, medido por una disminución considerable de la capacidad de ejecución en tareas de memoria. En el caso de la serotonina, al administrar fármacos que causen una depleción en su liberación, se observa el mismo efecto amnésico (Gold, 2003; Prado-Alcalá, Solana-Figueroa, Galindo, Medina, & Quirarte, 2003).

Dentro de estos estudios, Duran-Arevalo, Cruz-Morales, y Prado-Alcalá, (1990) (Figura 3), estudiaron el efecto amnésico producido por la administración intraperitoneal de diferentes concentraciones de escopolamina (antagonista a los receptores muscarínicos de acetilcolina) una hora después del entrenamiento en la tarea de evitación inhibitoria.

Los animales fueron entrenados con una intensidad de choque eléctrico de 3.0 mA, encontrándose el efecto amnésico con las concentraciones más altas de escopolamina (6, 8 y 12 mg/kg). Sin embargo, cuando las ratas fueron entrenadas con una mayor magnitud del choque eléctrico (6.0 y 9.0 mA), el tratamiento anticolinérgico no produjo deficiencia en la memoria. Se estipula que este aumento en la intensidad o sobrerreforzamiento produce un efecto protector de la memoria contra agentes amnésicos (Prado-Alcalá et al., 2006), y se describe como entrenamiento incrementado.

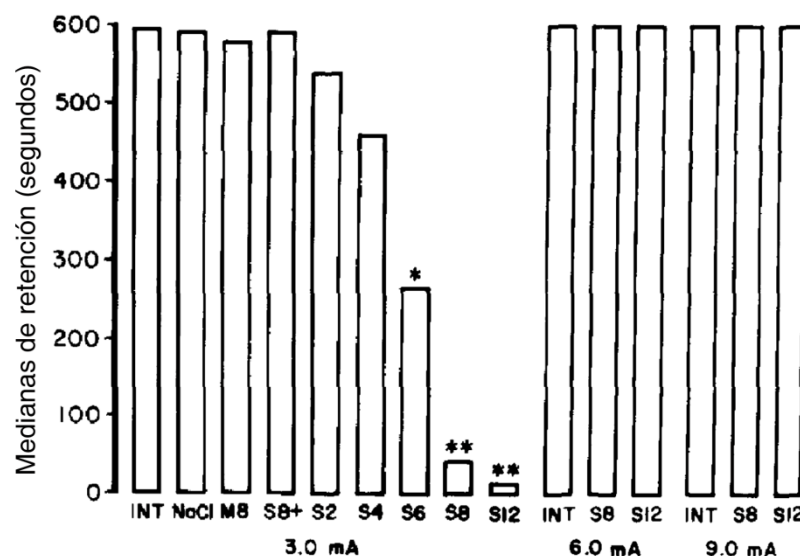


Figura 3. Medianas de retención de los grupos, intacto, vehículo (SAL) y a los que se les administró escopolamina (S) en diferentes concentraciones, todos entrenados en la tarea de evitación inhibitoria. Las ratas que fueron entrenadas con una intensidad alta de choque eléctrico (6.0 y 9.0 mA) no se vieron influenciadas por el tratamiento amnésico. Modificado de Duran-Arevalo et al. (1990).

Siguiendo esta línea de trabajo, Solana-Figueroa, Salado-Castillo, Quirarte, Galindo, y Prado-Alcalá (2002), administraron sistémicamente p-cloranfetamina, (fármaco que lesiona las neuronas y axones que contienen y liberan serotonina), a ratas que fueron entrenadas en la tarea de evitación inhibitoria con dos intensidades de choque eléctrico, una baja y un alta. En esta situación, como era de esperarse, se produjo un efecto amnésico en los animales entrenados con las intensidades bajas, caso contrario a las intensidades más altas, en las cuales no hubo efecto alguno del fármaco (Figura 4).

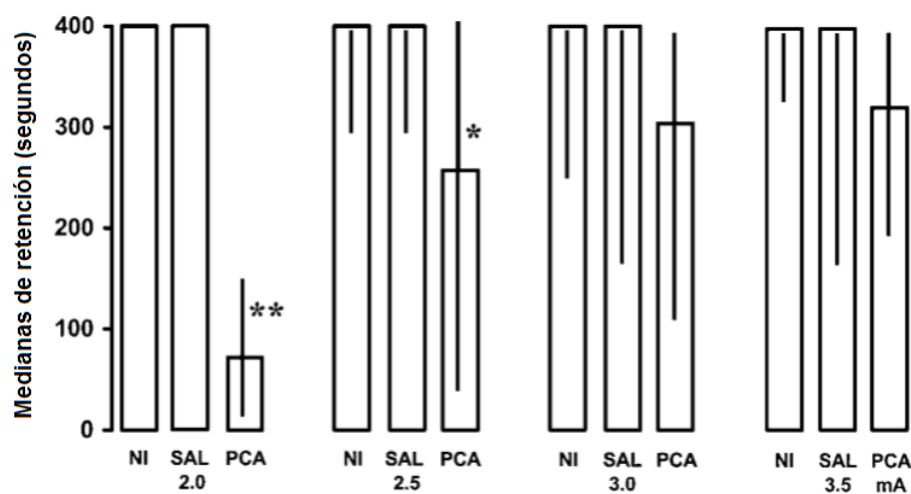


Figura 4. Medianas de retención de los grupos intacto (NI), vehículo (SAL) y a los que se les administró p-cloranfetamina (PCA), todos entrenados en la tarea de evitación inhibitoria con choques de 2.0, 2.5, 3.0 y 3.5 mA. Las ratas que fueron entrenadas con intensidades de choque más altas (3.0 y 3.5 mA) no se vieron influenciadas por el tratamiento amnésico. Modificado de Solana-Figueroa et al. (2002).

Sin duda, estos resultados dieron lugar a una gran cantidad de interrogantes. Una de ellas, eran los sustratos anatómicos que se encargaban del procesamiento de este efecto protector. Bajo estas preguntas, se ha resuelto que existen diversas estructuras que se encuentran fuertemente relacionadas con el efecto protector del entrenamiento incrementado, como el hipocampo, la amígdala y el estriado (Parent, Tomaz, & McGaugh, 1992). Misma conclusión a la que llegaron Quiroz et al. (2003) al administrar localmente tetradoxina en la amígdala y en el hipocampo, encontrando el clásico efecto amnésico, sin embargo, cuando se exponía a los animales a un alto nivel de aprendizaje (un estímulo sobrerreforzado), se expresaba el efecto protector contra la amnesia del entrenamiento incrementado en la memoria.

Salado-Castillo, Sanchez-Alavez, Quirarte, Martinez Garcia, y Prado-Alcala (2011), usando la tarea de evitación inhibitoria, reportaron una importante influencia de la amígdala, la sustancia nigra y el estriado, al administrar localmente lidocaína (anestésico local que bloquea los canales de sodio, inhibiendo los potenciales de acción, y por tanto la comunicación interneuronal) inmediatamente después del entrenamiento. Se encontró un efecto protector en la sustancia nigra en grupos entrenados con un choque de 2.0 mA., sin embargo dicho efecto no fue evidente en amígdala y estriado. Por ello, se entrenaron animales con las mismas condiciones, pero con un choque 3.0 mA, en los cuales no se encontraron diferencias en la latencia de retención entre los grupos control y los de tratamiento con lidocaína, para ninguna de las tres estructuras (Figura 5).

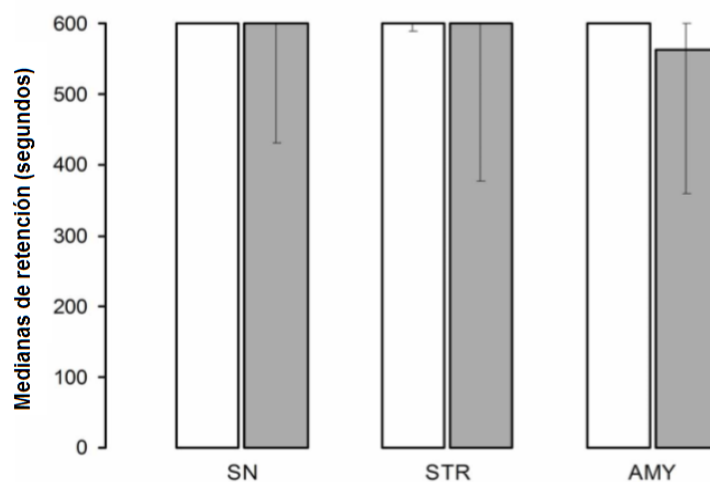


Figura 5. Medianas de retención de los grupos a los que se les administró vehículo o lidocaína en sustancia nigra (SN), estriado (STR) y amígdala (AMY). Al ser entrenados con un choque eléctrico de 3.0 mA. Se logró un efecto protector ante la administración de lidocaína tanto en estriado como en amígdala. Modificado de Salado-Castillo, Sanchez-Alavez, Quirarte, Martinez Garcia, y Prado-Alcala (2011).

1.3 El estriado (caudado-putamen)

1.3.1 Ubicación

El estriado, (también conocido como caudado-putamen) (Paxinos & Watson, 2005), es una estructura cerebral (Figura 6) que junto a la sustancia nigra, el área ventral tegmental y el núcleo subtalámico conforman a los ganglios basales (Rye et al., 1996).

Los ganglios basales son una región evolutivamente conservada en el prosencéfalo, que consisten en núcleos motores que forman circuitos recurrentes,

críticos para las funciones de motivación y planeación motora (Kreitzer, 2009). Se caracterizan por recibir entradas de prácticamente todas las regiones de la corteza, para formar vías corticoestriatales (McGeorge & Faull, 1989), siendo el estriado la entrada principal y un sustrato neural clave para el aprendizaje y la memoria de procedimiento (Kreitzer, 2009), memoria implícita que hace referencia a la información de habilidades o destrezas.

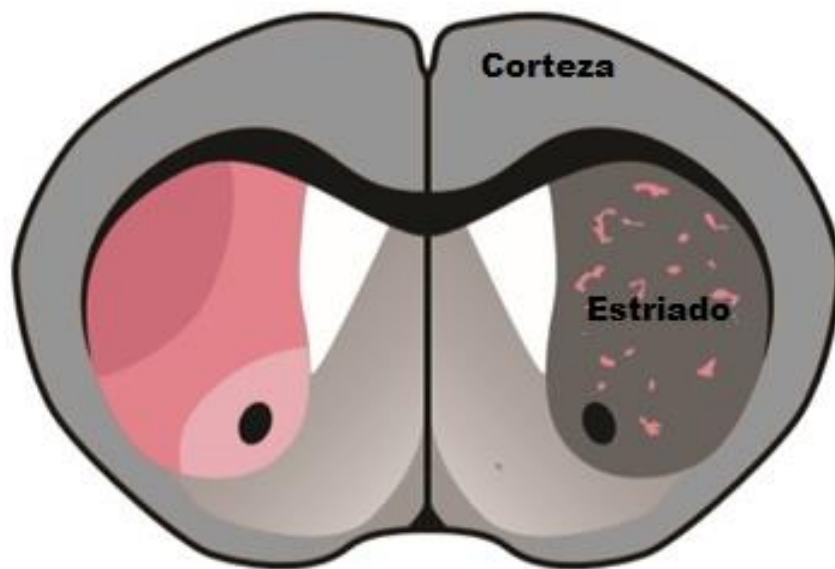


Figura 6. Esquematización de un corte coronal en la región del prosencéfalo para representar la ubicación del estriado (caudado-putamen). En el hemisferio derecho se muestran los parches estriatales mientras que en el hemisferio izquierdo se ilustran a color y en orden descendente las divisiones dorsolateral, dorsomedial y ventral. Modificado de Kreitzer (2009).

1.3.2 Neuroquímica

A pesar de parecer estructuralmente homogéneo, el estriado no es uniforme, sino que se organiza distintivamente por sus marcadores neuroquímicos, ya que ciertos marcadores hacen visibles parches diferenciados, mientras que otros marcadores expresan una matriz que se encuentra rodeando a los parches (Herkenham & Pert, 1981) (Figura 6).

Los parches también denominados estriatosomas, representan el ~10% del volumen estriatal, y se distinguen por una unión densa del receptor μ -opioide, una

actividad resaltante para marcadores de sustancia P y una actividad escasa para marcadores colinérgicos como acetilcolinesterasa (Bolam, Izzo, & Graybiel, 1988; Graybiel & Ragsdale, 1978; Herkenham & Pert, 1981).

Por su parte, la matriz es relativamente abundante en marcadores colinérgicos, particularmente, acetilcolinesterasa y colina acetiltransferasa (ChAT), así como la presencia de una alta inmunoreactividad para calbindina y somatostatina (Gerfen, 1984, 1985; Graybiel, Baughman, & Eckenstein, 1986; Graybiel & Ragsdale, 1978).

En cuanto a su neuromodulación se sabe de la participación de los sistemas de neurotransmisión de dopamina y acetilcolina, ambos asociados primariamente con la función normal de los ganglios basales, la actividad motora, los procesos emotivos y la memoria (Schultz, 2007; Zhou, Wilson, & Dani, 2002).

1.3.3 Anatomía

En cuanto a su anatomía, las células estriatales pueden dividirse en dos tipos principales: las neuronas medianas espinosas (MSNs por sus siglas en inglés) y las interneuronas sin espinas (Kreitzer, 2009). Las MSNs representan la vasta mayoría de las células estriatales, son GABAérgicas y se pueden diferenciar en dos tipos: estriatonigrales (vía directa) y estriatopalidales (vía indirecta) (Smith, Bevan, Shink, & Bolam, 1998).

Por su parte las interneuronas sin espinas se distribuyen en una cantidad mucho menor y pueden clasificarse en células medianas GABAérgicas y células colinérgicas (Kawaguchi, Wilson, Augood, & Emson, 1995).

Las células medianas GABAérgicas pueden diferenciarse histoquímicamente en tres subtipos: parvalbumina-positivas, somatostatina-positivas, Neuropéptido Y y sintetasa de óxido nítrico-positivas, y calretinina-positivas.

En una categoría fisiológica, estos tipos de células también pueden clasificarse en cuanto a sus patrones de disparo de potenciales de acción. Las células parvalbumina-positivas presentan tasas de disparo rápido de manera sostenida, por lo que también pueden ser nombradas como interneuronas de pico rápido (FS, por sus siglas en inglés). Mientras que las somatostatina-positivas y las calretinina-positivas, tienen tasas menores de disparo, por lo que son conocidas como interneuronas de umbral bajo (LTS) (Tepper & Bolam, 2004).

1.3.4 Conectividad

El estriado es un punto de convergencia para entradas glutamatérgicas de la corteza y el tálamo así como para aferencias dopaminérgicas del tallo cerebral (Bolam, Hanley, Booth, & Bevan, 2000).

Las MSNs del parche reciben entradas principalmente de las regiones frontal y límbica, mientras que las MSNs de la matriz reciben entradas de la corteza y el tálamo (Fujiyama, Unzai, Nakamura, Nomura, & Kaneko, 2006; Kincaid & Wilson, 1996)

Por su parte, las interneuronas también reciben aferencias glutamatérgicas de la corteza y el tálamo, sin embargo sus salidas son únicamente hacia las MSNs y otras interneuronas, lo que les permite formar microcircuitos que se encargan de modular las salidas estriatales (Tepper & Bolam, 2004).

El estriado puede también dividirse en regiones funcionalmente diferenciadas por las regiones que conecta: el estriado dorsomedial que recibe las entradas de las cortezas asociativas, el estriado dorsolateral que recibe entradas de la corteza sensitivo-motora, y el estriado, ventral que recibe entradas glutamatérgicas de la corteza frontal y las regiones límbicas (Brog, Salyapongse, Deutch, & Zahm, 1993; Nicola, 2007).

1.3.5 Funciones

El estriado está implicado en las funciones motoras y motivacionales. Por lo que se asocia comúnmente con los tipos de memoria que requieren la adquisición de una respuesta motora o la capacidad de constituir asociaciones entre una respuesta instrumental y una recompensa (Balleine, Delgado, & Hikosaka, 2007). Se ha reportado además, que esta estructura representa un sistema de memoria independiente, que se encarga de procesar el aprendizaje de hábitos estímulo-respuesta (E-R) (Packard & McGaugh, 1992; White, 1989). Esta afirmación ha podido ser corroborada mediante herramientas farmacológicas y de registro in vivo de la actividad neuronal. En los cuales, se ha reportado que la administración local de un antagonista al receptor NMDA inhibe el aprendizaje dirigido a un objetivo, mientras que lesiones excitotóxicas logran deteriorar el aprendizaje de hábitos (Hilario, Clouse, Yin, & Costa, 2007; Yin, Knowlton, & Balleine, 2004). A

su vez, se han observado cambios en los patrones de disparo neuronal en ratas, durante el aprendizaje relacionado a una tarea dirigida a un objetivo y en tareas de condicionamiento clásico (Day et al., 2006; Tan et al., 2007).

Además, se ha demostrado el papel del estriado en formas complejas de aprendizaje, así como en la memoria que requiere del uso flexible de la información. En experimentos en los que se ha manipulado esta estructura, se ha demostrado un deterioro importante en las tareas de memoria que requieren el procesamiento de la información espacial (Yin & Knowlton, 2004). Mediante el uso de herramientas farmacológicas, se han reportado deterioros en la ejecución de tareas como el laberinto de Morris y el laberinto radial (Ploeger, Spruijt, & Cools, 1994; Roullet, Sargolini, Oliverio, & Mele, 2001).

Existe también evidencia de una diferenciación funcional de las propias regiones del estriado. Se ha propuesto que el estriado dorsal desempeña un papel importante en la consolidación de la memoria espacial (De Leonibus, Oliverio, & Mele, 2005). A su vez, se ha descrito que las lesiones en el estriado dorsolateral y dorsomedial deterioran la adquisición de hábitos y el aprendizaje dirigido a un objetivo, respectivamente (Yin et al., 2004; Yin, Knowlton, & Balleine, 2005). Mientras que el estriado ventral participa en el procesamiento del aprendizaje asociativo de condicionamiento clásico (Day, Roitman, Wightman, & Carelli, 2007). Establecido su amplio alcance e influencia en los sistemas de aprendizaje asociativo, puede entenderse su participación activa en los procesos de memoria, por lo que, el estriado representa una estructura relevante en el estudio del entrenamiento incrementado.

1.4 El estrés y el aprendizaje

El estrés se define como un estado en el cuál un estímulo representa una alteración en la homeostasis, lo que conlleva una cascada de eventos fisiológicos (Chrousos & Gold, 1992) influyentes en procesos cognitivos, como el aprendizaje y la memoria. Existen evidencias experimentales que indican que las experiencias emocionales suelen recordarse con una viveza e intensidad particular y que pueden mantenerse en la memoria por largos periodos (McGaugh & Roozendaal, 2002).

En estudios en los cuales se han empleado herramientas farmacológicas para generar un cambio en los sistemas moduladores de estrés, se ha encontrado un efecto de facilitación en la memoria (Lupien et al., 2002). Sin embargo también se ha relacionado con un deterioro en las funciones cognitivas, haciendo que un evento estresante no pueda ser evocado (Christianson, 1992).

Los efectos de facilitación o deterioro, dependen del tiempo de exposición a los estresores. Un estresor es un evento o estímulo externo que altera al organismo, al punto de causar una respuesta de lucha o huida. Cuando un evento estresante dura poco tiempo o es aplicado en una sola sesión mientras se entrena a los sujetos experimentales a una tarea de memoria, éste contribuye al almacenaje de información del evento (Joëls, Pu, Wiegert, Oitzl, & Krugers, 2006). Por su parte, exposiciones crónicas ante un evento estresante, tienen un efecto negativo en el cerebro asociado a atrofas dendríticas, reducción de neurogénesis y deterioro de plasticidad sináptica (McEwen, 2004).

Estos cambios tanto positivos como negativos, pueden deberse a una gran cantidad de mecanismos internos. McGaugh (1983) propone que los procesos endógenos activados por experiencia pueden servir para regular la consolidación de las mismas, influenciado por hormonas liberadas desde la corteza adrenal (catecolaminas y glucocorticoides) (Roozendaal & McGaugh, 2011; Sandi, 2003), reportadas además como uno de los moduladores esenciales en la consolidación de la memoria (Oitzl & de Kloet, 1992).

Su influencia ha sido demostrada en diversos estudios, entre los que se ha descrito que la administración post-entrenamiento de glucocorticoides, en específico la corticosterona produce una facilitación dependiente de la dosis y el tiempo (Zorawski & Killcross, 2002).

Prueba de esto obtuvieron Jefferys, Copolov, Irby, y Funder (1983) quienes describieron un papel primordial de los glucocorticoides en la tarea de nado forzado al remover las glándulas adrenales. Los resultados, mostraron un deterioro en la conducta de inmovilidad característica de esta tarea en las ratas que carecían de corteza adrenal. Interesantemente, esta conducta podía ser recuperada con la administración de agonistas a glucocorticoides como la dexametasona o la misma corticosterona.

El estudio del efecto de los niveles de corticosterona, ha demostrado cierta relevancia en los experimentos que buscan relaciones entre el estrés y el

aprendizaje. Cordero, Merino, y Sandi (1998) realizaron una serie de experimentos, utilizando la prueba del condicionamiento del miedo al contexto. Grupos independientes de ratas se entrenaron con diversas intensidades de choque eléctrico en un intervalo entre 0.2 y 1 mA. Encontrándose una relación directa entre la intensidad del estresor en el entrenamiento y el nivel de inmovilización (respuesta indicativa de 'miedo' condicionado, propia de la tarea). Reportándose así mismo, una correlación positiva entre los niveles circulantes de corticosterona con las intensidades bajo las cuales se mostró una mejor consolidación de la memoria.

Los efectos moduladores del estrés han sido también descritos en distintas regiones del cerebro como el hipocampo y la amígdala, en los que, la administración de corticosterona o agonistas al receptor a glucocorticoides (GR) como RU 28362 facilitan la consolidación de la memoria en la tareas con un fuerte componente contextual (Roozendaal & McGaugh, 1997).

Otra estructura ampliamente relacionada con en este proceso es el estriado, al ser una de las estructuras diana de los glucocorticoides durante la modulación de la memoria (Medina et al., 2007), además de tener influencia en la consolidación de distintos tipos de memoria.

En este contexto de trabajo, Lozano, Serafín, Prado-Alcalá, Roozendaal, y Quirarte (2013) utilizaron la tarea de laberinto de Morris en su versión espacial y de procedimiento para estudiar el efecto de diferentes concentraciones de corticosterona (5, 10, 20 ng/kg) administrada localmente en el estriado dorsomedial inmediatamente después del entrenamiento. Reportando un efecto de facilitación en los animales que fueron entrenados con la administración de las tres dosis de corticosterona, los cuales, mostraron una mejor retención de la tarea. Sanchez-Resendis et al. (2012) a su vez, estudiaron la interacción entre el sistema colinérgico y los glucocorticoides en el estriado dorsal.

Utilizando la tarea de evitación inhibitoria, encontraron que, al administrar localmente RU 38486 (10 ng) (antagonista del receptor a glucocorticoides) 15 minutos antes del entrenamiento y oxotremorina (agonista a receptores colinérgicos) inmediatamente después del entrenamiento, se bloquea el efecto facilitador en la consolidación reportado con la administración de oxotremorina (Figura 7).

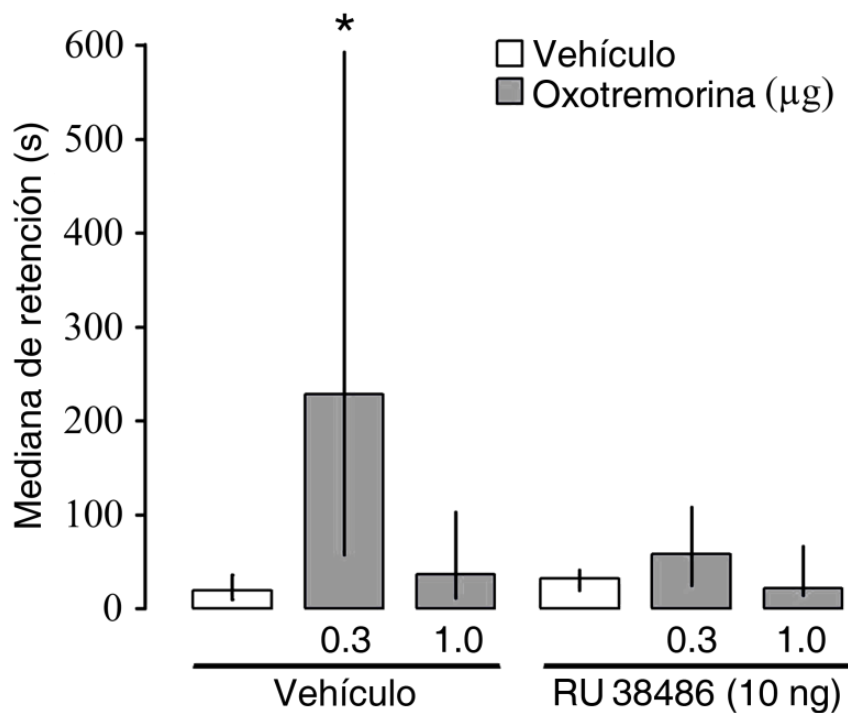


Figura 7. Medianas de retención de los grupos a los que se les administró localmente oxotremorina inmediatamente después del entrenamiento en las dosis de 0.3 y 1.0 μg . Encontrando una inhibición del efecto facilitador propio de este fármaco a los grupos a los que les fue administrado el antagonista del receptor a glucocorticoides RU 38486. Modificado de Sanchez-Resendis et al. (2012)

Ambos estudios, indican una participación importante de los glucocorticoides en la consolidación de la memoria, así como el papel del estriado como un sustrato anatómico trascendental para la formación de memorias.

1.5 Liberación de los glucocorticoides

La exposición ante un evento estresante activa un circuito neuroendocrino altamente conservado en los animales, el eje hipotálamo-pituitario-adrenal (HPA) (de Kloet, Joels, & Holsboer, 2005) (Figura 8).

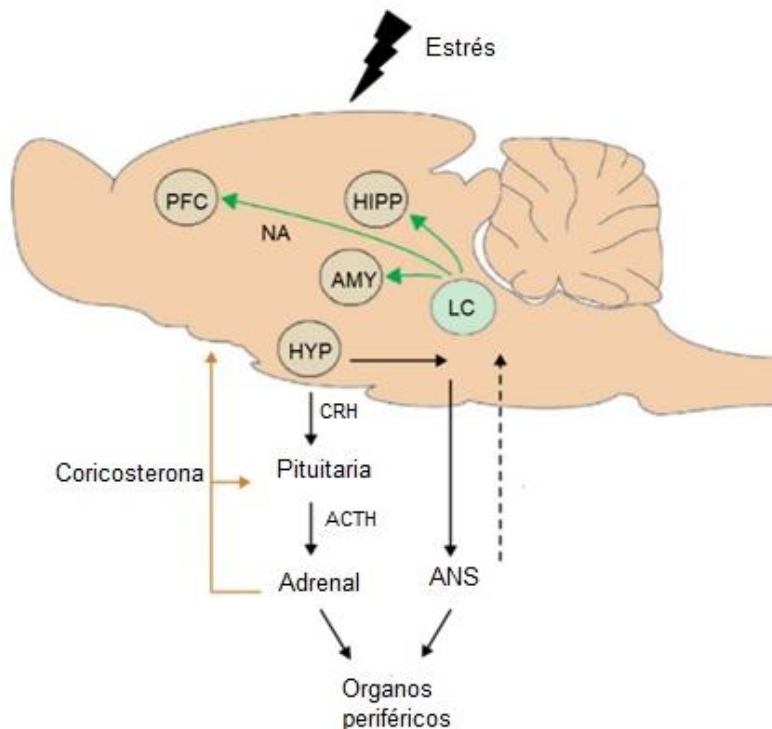


Figura 8. Eje hipotálamo- pituitaria-adrenal de rata. El sistema comienza con la liberación de la hormona liberadora de corticotropina (CRH) del hipotálamo, que dará lugar a la liberación corticotropina (ACTH) en la pituitaria, asimismo ACTH provocará la liberación de glucocorticoides en la corteza de las glándula adrenal. Por sus siglas en inglés: PFC (corteza prefrontal), HIPP (hipocampo), AMY (amígdala), HYP (hipotálamo), LC (locus coeruleus), ANS (sistema nervioso autónomo). Modificado de Joëls et al. (2006).

Este sistema se compone de tres regiones cerebrales bien definidas. El hipotálamo, específicamente el núcleo paraventricular, cuyas neuronas constituyen un centro de integración de influencias procedentes de diversos sistemas de neurotransmisión provenientes de diversas áreas cerebrales como la corteza prefrontal y el hipocampo se encarga de producir la hormona liberadora de corticotropina (CRH) cuya función será estimular la región de la pituitaria anterior (Sandi, 2003). Ante esta influencia, la pituitaria anterior libera la hormona adrenocorticotropina (ACTH), que es transportada en la circulación general hacia la corteza de las glándulas adrenales, la cual rápidamente sintetiza y libera a los glucocorticoides en la sangre, donde participan en la respuesta ante el estrés y la conservación de la homeostasis, mediante respuestas internas como la regulación de niveles de glucosa, presión sanguínea, respuesta inmunológica, y la inducción de un gran cantidad de respuestas moduladoras en el cerebro (Olson, Marc, Grude, McManus, & Kellermann, 2011; Sandi, 2003).

Los actores principales de este sistema son entonces los glucocorticoides (cortisol en humanos, corticosterona en ratas) ya que tienen propiedades que les permiten ser una influencia central en la consolidación de las experiencias estresantes. Una de las características que hacen posible esta influencia es su naturaleza altamente lipofílica, que les permite difundirse a todo el cerebro al atravesar fácilmente la barrera hematoencefálica (Kroll et al., 2009). Además del desencadenamiento de diversos mecanismos genómicos, dada su capacidad de atravesar fácilmente por la membrana plasmática de las células. Cabe destacar que sólo cumplen estas funciones en las regiones cerebrales que presenten los receptores afines. Los glucocorticoides se unen particularmente a dos tipos de receptores: los receptores mineralocorticoides (MRs) y los receptores a glucocorticoides (GRs) (de Kloet, 1991).

Los MR y los GR disciernen en su afinidad para unirse a diferentes ligandos. Siendo la afinidad para unir a la corticosterona de los MR aproximadamente 10 veces más alta que los GR. Esta diferencia causa que los MR se encuentren ocupados o saturados (entre 70 y 80%) por los glucocorticoides liberados bajo condiciones basales, mientras que la ocupación de los GR no suele pasar del 10%. Sin embargo, al elevarse la concentración de corticosteroides, la activación del GR aumenta considerablemente (Sandi, 2003).

La activación selectiva de GR parece ser entonces la más notoria, al ser los receptores más relacionados con los efectos moduladores de la memoria (Lupien & McEwen, 1997).

Con respecto a su distribución, el GR presenta una clara diferenciación. Así se mostró en el trabajo realizado por Morimoto, Morita, Ozawa, Yokoyama, y Kawata (1996) en el cuál, por medio de técnicas inmunohistoquímicas y de hibridación in situ, caracterizaron la presencia del receptor del GR en las estructuras cerebrales de mayor importancia. Regiones como CA1, CA2 y el giro dentado del hipocampo, el núcleo paraventricular del hipotálamo y el núcleo central de la amígdala, destacaron por una distribución considerablemente abundante del receptor. Por su parte, el estriado mostró una densidad moderada pero constante en sus distintas regiones.

1.6 Receptor a glucocorticoides

El receptor a glucocorticoides (GR) pertenece a la superfamilia de los factores de transcripción intracelular activados por hormonas, los receptores hormonales nucleares (NRHs) (Kumar & Calhoun, 2008).

Es una fosfoproteína de la cual dependen la mayoría de los efectos biológicos de la liberación de glucocorticoides, ya que regula una amplia variedad de procesos metabólicos, mediante efectos no genómicos, al activar cascadas de señalización o modificando la acción de otros neuromoduladores como el glutamato (Popoli, Yan, McEwen, & Sanacora, 2012) y por medio de efectos genómicos, al unirse directamente al DNA o con interacciones proteína-proteína con otros factores de transcripción (Heck et al., 1994; Yamamoto, 1985).

El GR consta de un arreglo estructural de dominio común en los NRHs, el cual consiste en la división de la secuencia primaria en un dominio N- terminal (NTD), un dominio central dedos de zinc de unión a DNA (DBD) y un dominio C-terminal de unión a ligando (LBD), que contiene un subdominio de función de activación (AF2) que se encarga de regular la transcripción (Bledsoe et al., 2002).

La unión de un ligando al dominio LBD resulta en un arreglo conformacional del subdominio AF2 (regularmente en la hélice 12) que tiene como resultado, que la superficie de la proteína quede expuesta para interactuar con otras proteínas de correulación a través de los motivos LXXLL.

El GR se encuentra en su forma inactiva en el citoplasma, unido a un complejo heteromérico formado por una gran cantidad de proteínas como HSP90, HSP70, FKBP, entre otras (Davies, Ning, & Sanchez, 2002). La unión de la hormona provoca un arreglo conformacional del receptor, que tendrá como resultado un desensamble del complejo.

El receptor entonces puede internalizarse en el núcleo, donde formará un dímero e interactuará con puntos críticos de regulación de la transcripción conocidos como elementos de respuesta a glucocorticoides (GREs) (Figura 9), reclutando maquinarias transcripcionales así como co-activadores y co-represores para modular positiva o negativamente la transcripción de genes de gran relevancia, como la proteína kinasa serina/treonina (sgk1), el receptor adrenérgico $\beta 2$ y el receptor neuronal de serotonina (5-HT1A) (Cornett, Hiller, Jacobi, Cao, & McGraw,

1998; Itani, Liu, Cornish, Campbell, & Thomas, 2002; Nakabayashi et al., 2001; Rogatsky et al., 2003).

Cómo se mencionó anteriormente, el GR también puede inducir o reprimir la transcripción de genes mediante interacciones proteína-proteína con factores de transcripción presentes en el núcleo, como p65 (Subunidad NF- κ B) y C-Jun/C-Fos (AP-1), factor de transcripción IID (TFIID), y el transductor de señal y activador de transcripción 5 (STAT5) (Heck et al., 1994; Kassel & Herrlich, 2007; Sandi, 2004). La capacidad del GR para asociarse con diversos factores internos del núcleo es dependiente del tipo de célula y del contexto del promotor, lo cual probablemente contribuye a la salida transcripcional de la célula y una posterior respuesta a la influencia de los glucocorticoides (Necela & Cidlowski, 2003). Hecho corroborado en los estudios de memoria y aprendizaje por trabajos en los cuales, la administración post-entrenamiento de un agonista o un antagonista al GR, facilitan y deterioran respectivamente, la ejecución de los sujetos en diferentes tareas de memoria como el condicionamiento del miedo al contexto, el reconocimiento de objetos y la evitación inhibitoria (Cordero, Kruyt, Merino, & Sandi, 2002; Pugh, Fleshner, & Rudy, 1997; Roozendaal, Bohus, & McGaugh, 1996).

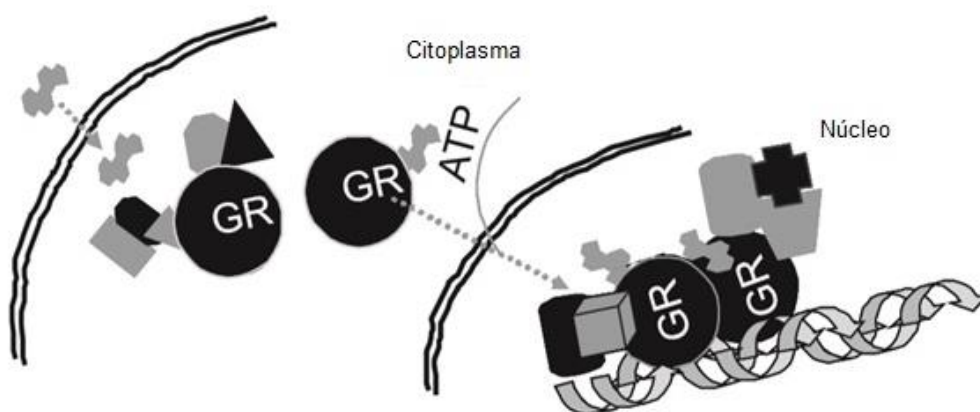


Figura 9. Proceso de activación del receptor a glucocorticoides (GR). Al unirse los glucocorticoides, el complejo heteromérico en el cual se encuentra el receptor en el citoplasma se desensambla. Entonces el receptor se internaliza en el núcleo y tiene un efecto en la modulación de la transcripción. Modificado de Kumar y Calhoun (2008).

En estudios posteriores, el GR ha mostrado tener un papel trascendental en el proceso de consolidación de la memoria tanto por su influencia no genómica como genómica. Se ha descrito que, después de un aprendizaje, el GR regula varias

vías de señalización intracelulares conocidas como requerimientos para la consolidación. Entre estas, se incluyen las vías activadas por la proteína de unión al elemento de respuesta cAMP (CREB, por sus siglas en inglés), la proteína quinasa activada por mitógeno (MAPK), la proteína quinasa dependiente de calcio/calmodulina II (CaMK II) y el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) (Chen, Bambah-Mukku, Pollonini, & Alberini, 2012). Por su parte, estudios en diferentes estructuras cerebrales, particularmente el hipocampo, demuestran que la activación del GR conlleva a la transcripción de una variedad de genes, entre los que se incluyen, aquellos que transcriben proteínas de unión a calcio, proteínas asociadas a sinaptosoma (SNAPs), moléculas neuronales de adhesión celular (NCAMs), dineína, neurofilamentos, actina- β , kinasa 1 de dominio LIM y profilina, que son en conjunto, elementos clave en las funciones de transducción de señales intracelulares, metabolismo, estructura neuronal y plasticidad sináptica, lo que sugiere su acción como efectores primordiales durante el periodo de consolidación de la memoria (Datson, Morsink, Meijer, & de Kloet, 2008; Datson, van der Perk, de Kloet, & Vreugdenhil, 2001; Morsink et al., 2006).

1.6.1 Fosforilación del receptor a glucocorticoides (GR)

Los mecanismos de activación del receptor a glucocorticoides dependen también de modificaciones post-traduccionales, que son generalmente fenómenos importantes en la regulación de la función de proteínas en células eucariotas y casi siempre están asociadas al paso de la actividad celular de un estado a otro (Kuiper & Brinkmann, 1994) o dicho en otras palabras, la activación o represión de ciertos mecanismos moleculares. Un cambio asociado con el GR es la fosforilación de sitio-específico (Wang, Frederick, & Garabedian, 2002).

Los sitios de fosforilación del GR están localizados en el dominio N-terminal (NTD) que suele ser largo y contiene un dominio mayor de transactivación (AF1), sujeto a la actividad de una gran variedad de kinasas, que pueden fosforilar al receptor en múltiples sitios (Blind & Garabedian, 2004). Las kinasas que han sido ampliamente reportadas en la regulación de la actividad del GR son las proteínas kinasas activada por mitógeno (MAPK por sus siglas en inglés), las kinasas dependientes de ciclina (CDK) (Krstic et al., 1997), las kinasas glucógeno

sintetasas-3 (GSK-3), las kinasas N-terminal c-Jun (JNK) y las kinasas reguladas por señales extracelulares (ERK) (Krstic, Rogatsky, Yamamoto, & Garabedian, 1997; Rogatsky, Waase, & Garabedian, 1998).

El dominio AF1 consta de varios residuos de aminoácidos en los cuales se puede agregar el grupo fosfato durante la fosforilación, estos residuos son las serinas 113, 141, 203, 211, 226 para humanos y las serinas 224, 232, 246, así como las treoninas 8 y 171 en humano y ratas, respectivamente. (Ismaili & Garabedian, 2004; Krstic et al., 1997) (Figura 10).

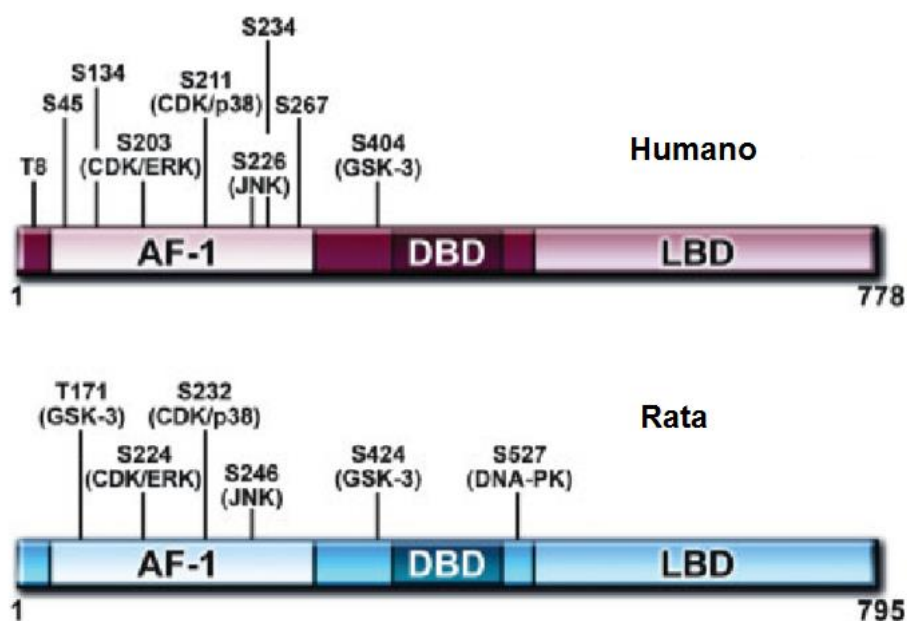


Figura 10. Sitios de fosforilación del subdominio AF- 1, en el dominio N-terminal (NTD) del receptor a glucocorticoides de humano y rata. Por sus siglas en inglés, DBD (dominio de unión a DNA), LBD (dominio de unión al ligando), S (serina), T (treonina). Modificado de Galliher-Beckley y Cidlowski (2009).

Es importante señalar, que dependiendo del nivel de activación del GR, el receptor se puede encontrar tanto en su estado fosforilado, como en un estado desfosforilado dentro de la célula. Esta afirmación condujo hacia el estudio del papel de las fosfatasa en las funciones del GR, lo que llevó a la conclusión de que las fosfatasa se asocian con el dominio C-terminal de unión a ligando (LBD), lo cual se postula, funciona como un modulador de restricción de la fosforilación del dominio N-terminal (Wang, Chen, Kono, Dang, & Garabedian, 2007). Éste hallazgo argumenta que la fosforilación del GR es un proceso dinámico entre fosforilación y desfosforilación, lo que permite la posibilidad de diferentes patrones

de activación, lo que podría llevar a una alteración diferenciada en la actividad transcripcional del GR.

En cuanto a la actividad de los sitios de fosforilación, se ha demostrado que la serina 211 (serina 232 en la rata) es uno de los sitios con mayor fosforilación en presencia de los glucocorticoides (Pocuca et al., 1998). En coincidencia con el estudio realizado por Wang et al. (2002), quienes encontraron un incremento en la fosforilación del GR en la serina 211, al administrar dexametasona (agonista del receptor a glucocorticoides). En el mismo trabajo, también se caracterizó la temporalidad de la fosforilación del GR al administrar también dexametasona, encontrando que a 1 hora de la aplicación, se observaba la mayor activación del GR por medio de fosforilación en la serina 211.

Se ha descrito que la fosforilación del GR en este sitio está mediada por complejos de CDK, particularmente, ciclina A-CDK2, A-CDC2, B-CDK2, B-CDC2 y E-CDK2, las cuales promueven la actividad transcripcional mediada por el GR, mientras la fosforilación por ERK atenúa de manera directa esta función (Krstic et al., 1997). Esto hace notar que la fosforilación en la serina 211 puede dar a lugar, tanto a la activación de las funciones del receptor a glucocorticoides (GR) como la represión de las mismas y es un sitio importante para el estudio de las funciones del GR, y los mecanismos genéticos y moleculares que desencadena.

2. Justificación

El aumento en la intensidad del choque eléctrico (sobrerreforzamiento) en la tarea de evitación inhibitoria, genera un efecto protector en la memoria contra la amnesia causada por tratamientos farmacológicos administrados directamente estriado (caudado-putamen). Por otro lado, se ha reportado que hay una relación directamente proporcional entre la concentración de corticosterona liberada y la intensidad del choque eléctrico administrado en la tarea del condicionamiento al miedo (Cordero et al., 1998). Es por ello, que es importante cuantificar el número de células que presenten la activación del receptor a glucocorticoides (GR) fosforilado en la serina 211 (pGR), en animales entrenados en la tarea de evitación inhibitoria con diferentes intensidades de choque eléctrico. Lo que lleva a la siguiente pregunta de investigación:

¿La tarea de evitación inhibitoria entrenada con diferentes intensidades de choque eléctrico modifica el número de células que presentan el pGR (GR fosforilado en la serina 211) en el estriado (caudado-putamen)?

3. Hipótesis

H₁: El entrenamiento incrementado (2.0 mA) en la tarea de evitación inhibitoria aumentará el número de células que presenten pGR (fosforilación en la serina 211) en el caudado-putamen dorsal de ratas.

H₁: El entrenamiento incrementado (2.0 mA) en la tarea de evitación inhibitoria aumentará el número de células que presenten pGR (fosforilación en la serina 211) en el caudado-putamen ventral de ratas.

4. Objetivos

Objetivo general

- Estudiar la posible relación de las diferentes intensidades del choque eléctrico administrado a ratas entrenadas en la tarea de evitación inhibitoria

con el número de células que presentan el pGR (fosforilación en la serina 211) en el caudado-putamen, dorsal y ventral.

Objetivos particulares

1. Cuantificar el número de células que presenten pGR (Fosforilación en la serina 211) en el caudado-putamen dorsal de ratas entrenadas en la tarea de evitación inhibitoria con un choque eléctrico de 0.0, 0.5, 1.0, 2.0 mA y Sch 2.0 mA.
2. Cuantificar el número de células que presenten pGR (Fosforilación en la serina 211) en el caudado-putamen ventral de ratas entrenadas en la tarea de evitación inhibitoria con un choque eléctrico de 0.0, 0.5, 1.0, 2.0 mA y Sch 2.0 mA.

5. Materiales y método

5.1 Sujetos

Todos los procedimientos se llevaron a cabo de acuerdo a los lineamientos bioéticos del Instituto de Neurobiología de la Universidad Autónoma de México para el uso de animales experimentales y está acorde con la NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 2001 y a las normas estipuladas en la “Guide for the care and use of Laboratory Animals” (National Research Council 2011).

Se utilizaron 64 ratas macho de la cepa Wistar con un peso entre 230 y 300 g. Se alojaron en cajas individuales con acceso a agua y comida *ad libitum* con un ciclo de luz-oscuridad de 12 horas (inicio a las 7am.) y con temperatura de 21 ± 1 °C.

5.2 Tarea de evitación inhibitoria

5.2.1 Manipulación

Las ratas fueron sometidas a 3 sesiones de manipulación en días consecutivos. Cada sesión consistió en tomar y acariciar a cada rata durante 5 minutos, para que se adaptaran a las manos del experimentador y así, reducir el estrés durante los experimentos.

5.2.2 Aparato

La caja de evitación inhibitoria (Figura 11) consiste en dos compartimentos de 30x30x30 cm. separados por una puerta tipo guillotina. Uno de estos se encuentra iluminado por un foco de 10 watts (de seguridad) mientras que el otro compartimento (de castigo) es oscuro y consta de placas laterales de acero inoxidable en forma de V separadas por una distancia de 1.5 cm. Estas placas pueden electrificarse por medio de un estimulador de pulsos cuadrados (Grass Instruments Co., modelo S48G) acoplado a una unidad de corriente constante (Grass Instruments Co., modelo CCU-1).



Figura 11. A la izquierda, la cámara de evitación inhibitoria, que consiste en dos compartimentos de 30x30x30 separados por una puerta tipo guillotina. Uno de los compartimentos está iluminado (de seguridad) y el otro es oscuro (de castigo) con placas laterales de acero inoxidable que pueden electrificarse. A la derecha, estimulador de pulsos cuadrados, aparato con el cual se electrifican las placas del compartimento oscuro.

5.2.3 Entrenamiento

En el entrenamiento de la tarea de evitación inhibitoria, la rata es colocada en el compartimento iluminado durante 10 segundos, una vez cumplidos, la puerta tipo guillotina se abre, cronometrando el tiempo que demoran en cruzar al compartimento oscuro (Latencia de entrada). Cuando la rata ha pasado, la puerta se cierra y se administra un choque eléctrico con duración de 10 segundos; al transcurrir 5 segundos, la puerta se abre, momento en que se cronometra el tiempo en que la rata regresa al compartimento iluminado (Latencia de escape). Pasados 30 segundos, es retirada del compartimento y se regresa a su caja-habitación.

5.2.4 Prueba de retención

La prueba de la tarea de evitación inhibitoria se llevó a cabo 48 horas después del entrenamiento. En la cual, la rata se coloca nuevamente en el compartimento iluminado, al cumplirse 10 segundos, la puerta tipo guillotina se abre, se cronometra entonces el tiempo que la rata tarda en pasar al compartimento iluminado (Latencia de retención), si esto no ocurre se retira al animal una vez cumplidos 600 segundos.

5.3 Obtención y procesamiento de tejidos

5.3.1 Sacrificio y obtención de tejidos cerebrales

Los sujetos fueron sacrificados por decapitación una hora después del entrenamiento (durante el periodo de consolidación). Los cerebros se extrajeron para ser conservados, mediante un proceso de congelación se sumergieron en un recipiente con isopentano (C_5H_{12}) que a su vez se encuentra dentro de un recipiente que contiene hielo seco (CO_2) y etanol (C_2H_6O). En seguida, los cerebros congelados se almacenaron a una temperatura de $-20^{\circ}C$ para su posterior uso.

5.3.2 Bloqueo

Se armaron dos bloques de 12 hemiserebros, cada uno con el estriado (caudado-putamen) de dos animales por grupo experimental, en los que se incluye un grupo intacto como control estereológico. Para ello, se removieron las regiones de cerebelo y bulbos olfatorios de los cerebros congelados, retirando asimismo el hemisferio derecho.

Los hemiserebros fueron distribuidos en un molde de plástico, siguiendo una representación guía organizada aleatoriamente. Se finalizó este procedimiento cubriendo por completo el molde con el crioprotector de tejido tissue freezing medium.

5.3.3 Criocción

Los bloques fueron seccionados a 20 μm en un criostato (Leica CM 1850 UV), estos cortes se colectaron en portaobjetos silanizados con 3-aminopropil trietoxisilano, para permitir la adhesión correcta del tejido cerebral.

5.4 Inmunohistoquímica de fluorescencia

Para realizar la técnica de inmunohistoquímica de fluorescencia para el receptor a glucocorticoides fosforilado (pGR), se eligieron de seis a diez secciones del estriado (caudado-putamen) para ambos bloques (1.68 y 0.48 mm. con respecto a Bregma). El tejido fue fijado en formalina al 2% durante 8 minutos a temperatura ambiente, haciendo los lavados con TBS y TBS-Tween. Las secciones fueron bloqueadas con TSA+Tritón+NGS por 30 minutos. Se incubaron con anticuerpo primario Anti-pGR (1:400). Posteriormente, se incubaron con el anticuerpo secundario Anti-rabbit biotinilado (1:400). Se amplificó el Anti-pGR biotinilado usando el kit de amplificación avidina-biotina A+B (Vector laboratorios, Burlingame CA). Se utilizó el fluroforo Cy3 (1:75) por 45 minutos para la detección del pGR. Por último se incubó con Sytox green (1:2000) por 1 hora para marcar los núcleos celulares.

5.5 Análisis de imágenes

Se utilizó un microscopio de fluorescencia semiconfocal (ApoTome Zeiss) para el análisis de los resultados de la técnica de inmunohistoquímica. Se tomaron 6 muestras en total, 3 para el estriado dorsal y 3 para el estriado ventral, en los planos X, Y y Z con un objetivo de 40x (AN 1.3), empleando un rango de aproximadamente 30 planos focales por fotografía.

5.6 Análisis estadístico

5.6.1 Análisis conductual

Los datos de latencia de entrada, latencia de escape y latencia de retención no presentan una distribución normal, por lo cual se analizaron con una prueba de Kruskal-Wallis. Se aplicó posteriormente una prueba post-hoc de U de Mann-Whitney para la comparación entre grupos. Se utilizó el software “Graphpad Prism 5”.

5.6.2 Análisis histológico

Las fotografías se analizaron con el software Image J. Se realizaron conteos que se expresaron como una proporción entre las células que presenten el pGR (fosforilado en la serina 211) sobre el número de células totales. Los datos se analizaron con una prueba de ANOVA de una vía y una post-hoc de comparaciones múltiples de Tukey con el software “Graphpad Prism 5”.

5.7 Diseño experimental

Para estudiar la relación de las distintas intensidades de choque con el número de células que presenten el receptor a glucocorticoides (fosforilación en la serina 211), se establecieron grupos independientes entrenados en la tarea de evitación inhibitoria con intensidades de choque eléctrico de 0.0, 0.5, 1.0 y 2.0 mA. Además se estudiaron un grupo intacto y un grupo de sólo choque al cuál solo se le

administra el choque eléctrico más alto (2.0mA) por 6.6 segundos. De los sujetos entrenados se escogieron 4 cerebros de las ratas con las latencias más cercanas a la mediana para el posterior análisis histológico (Tabla 1).

Grupos	Intacto	0.0 mA	0.5 mA	1.0 mA	2.0 mA	SCh 2.0 mA
n conductual	-	10	10	10	10	-
n histológica	4	4	4	4	4	4

Tabla 1. Grupos experimentales. Se formaron grupos independientes entrenados en la tarea de evitación inhibitoria con intensidades de choque eléctrico de 0.0, 0.5, 1.0 y 2.0 mA. Además un grupo intacto y un grupo al que solamente se le administró el choque eléctrico más alto (2.0 mA) por 5 segundos. De cada grupo se eligieron cuatro cerebros para el análisis histológico.

En la Figura 12 se muestra la temporalidad del experimento, las ratas de los grupos experimentales fueron manipulados 5 minutos en tres sesiones que se lleavraon a cabo en días consecutivos. Posteriormente se entrenaron en la tarea de evitación inhibitoria, en la cual se midieron las latencias de entrada y escape. Una hora después fueron sacrificados por decapitación para obtener los cerebros, que se congelan para su posterior uso. Se dispusieron entonces en bloques de 12 hemiserebros que fueron seccionados a 20 μ m. en un criostato. Se escogieron de 6 a 10 secciones para la técnica de inmunohistoquímica para la detección del receptor a glucocorticoides fosforilado (pGR). Se usó un microscopio de fluorescencia semiconfocal (ApoTome Zeiss) para la toma fotografías de profundidad (40x / AN 1.3). Estas fotografías se analizaron en el software ImageJ.

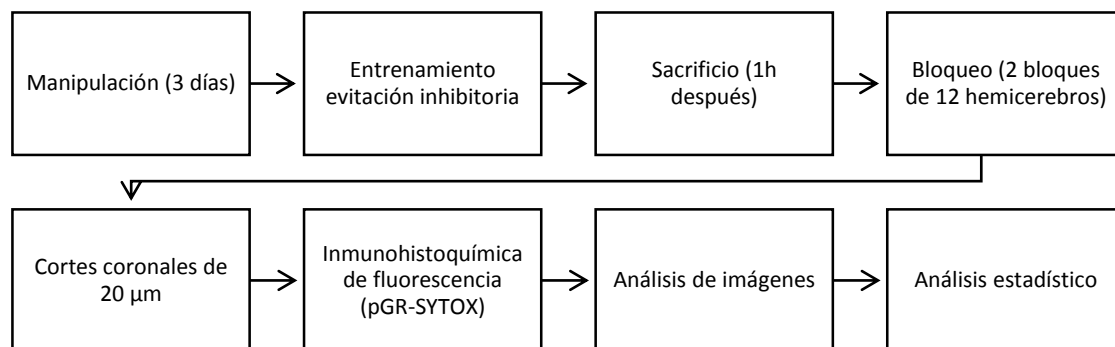


Figura 12. Desarrollo temporal del experimento.

En cuanto al diseño de los animales que fueron entrenados y probados en la tarea de evitación inhibitoria, se manipularon a las ratas por 5 minutos en tres sesiones que se llevaron a cabo en días consecutivos. Los grupos fueron entrenados con las mismas intensidades de choque eléctrico (0.0, 0.5, 1.0 o 2.0 mA) que los que se utilizaron para realizar el análisis de imágenes. La prueba de retención se llevó a cabo 48 horas después, sacrificando a los animales una vez concluida (Figura 13).

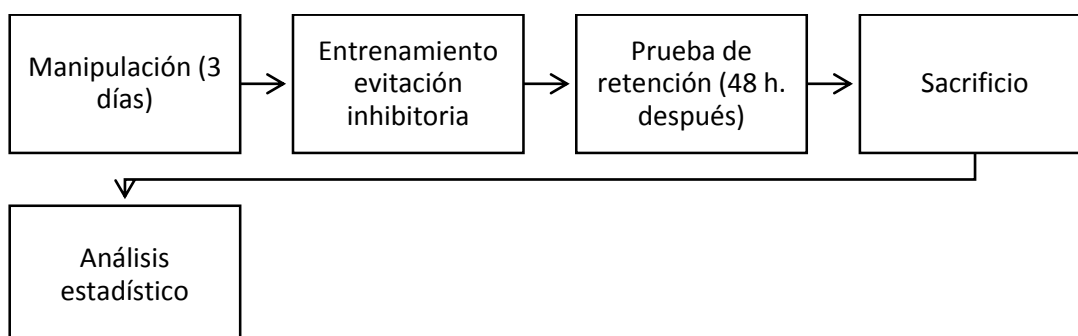


Figura 13. Desarrollo temporal de la prueba de evitación inhibitoria.

6. Resultados

6.1 Resultados conductuales

6.1.1 Entrenamiento en la tarea de evitación inhibitoria

Las latencias de entrada no mostraron diferencias significativas entre los grupos experimentales ($H [3] = 3.816$ $p = 0.2820$) (Figura 14) Lo que indica que los sujetos experimentales tuvieron la misma capacidad motora y motivacional para cruzar al compartimento oscuro durante el entrenamiento.

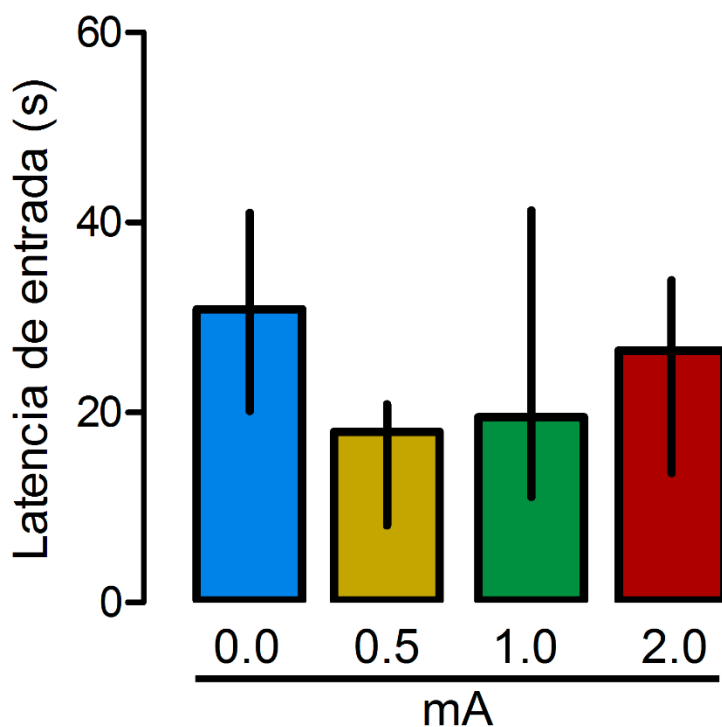


Figura 14. Latencias de entrada en segundos. Se muestran las medianas con rangos intercuantiles. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos.

En cuanto a las latencias de escape se encontraron diferencias significativas ($H [3] = 25.83$, $p < 0.0001$). Las diferencias se encontraron entre los grupos que se entrenaron con el choque de 0.0 mA y 0.5 mA ($U = 3.000$, $p < 0.0001$), 0.0 mA y 1.0 mA ($U = 0.0000$, $p < 0.0001$), 0.0 mA y 2.0 mA ($U = 0.0000$, $p < 0.0001$) así como 0.5 mA y 2.0 mA ($U = 12.00$, $p = 0.0045$). Siendo el choque más alto (2.0 mA) el que mostró mayores diferencias con respecto al resto de los grupos, lo que indica que

las ratas entrenadas con este choque eléctrico regresaron al compartimento iluminado (de seguridad) con mayor rapidez dada la magnitud del estímulo aversivo que el choque representa lo que permitiría una mejor retención de la tarea de evitación inhibitoria (Fig. 15).

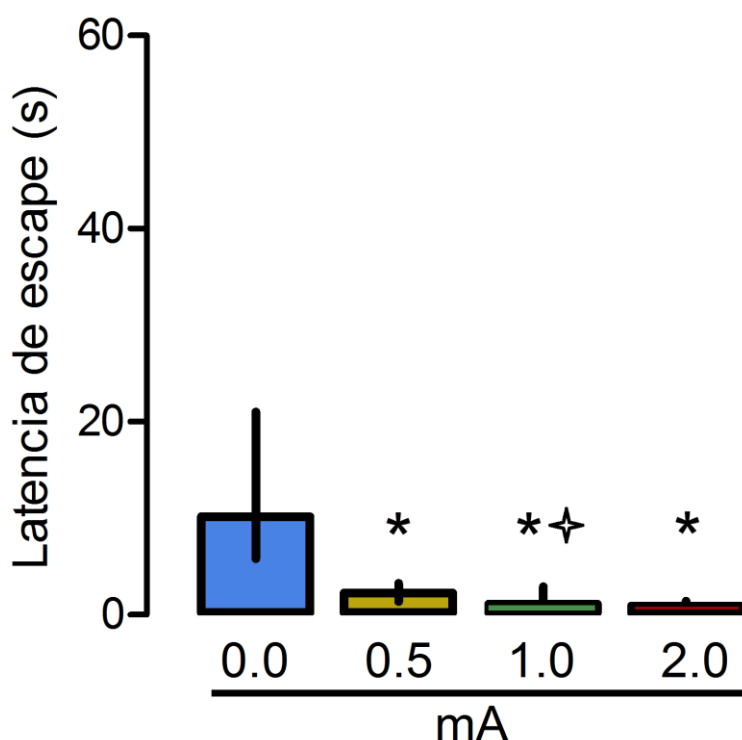


Figura 15. Latencias de escape en segundos. Se muestran las medianas con rangos intercuartiles. Se comparan los grupos que fueron entrenadas en la tarea de evitación inhibitoria con el choque eléctrico de 0.0, 0.5, 1.0 y 2.0 mA. El símbolo (*) indica diferencias significativas con el grupo de 0.0 mA ($p < 0.0001$) así como (✦) con el grupo de 0.5 mA ($p < 0.01$).

6.1.2 Prueba de retención en la tarea de evitación inhibitoria

Con respecto a las latencias de retención se encontraron diferencias significativas entre los grupos ($H [3] = 28.54$, $p < 0.0001$) (Figura 16). Las diferencias se encontraron en los grupos que se entrenaron con el choque de 0.0 mA y 1.0 mA ($U = 0.0000$, $p < 0.0001$), 0.0 mA y 2.0 mA ($U = 0.0000$, $p < 0.0001$), 0.5 mA y 1.0 mA ($U = 3.000$, $p = 0.0002$), así como 0.5 mA y 2.0 mA ($U = 0.0000$, $p = 0.0002$). Las ratas entrenadas bajo los choques eléctricos de 1.0 y 2.0 mA mostraron los valores más significativos, lo que indica una buena retención de la tarea y por tanto un aprendizaje.

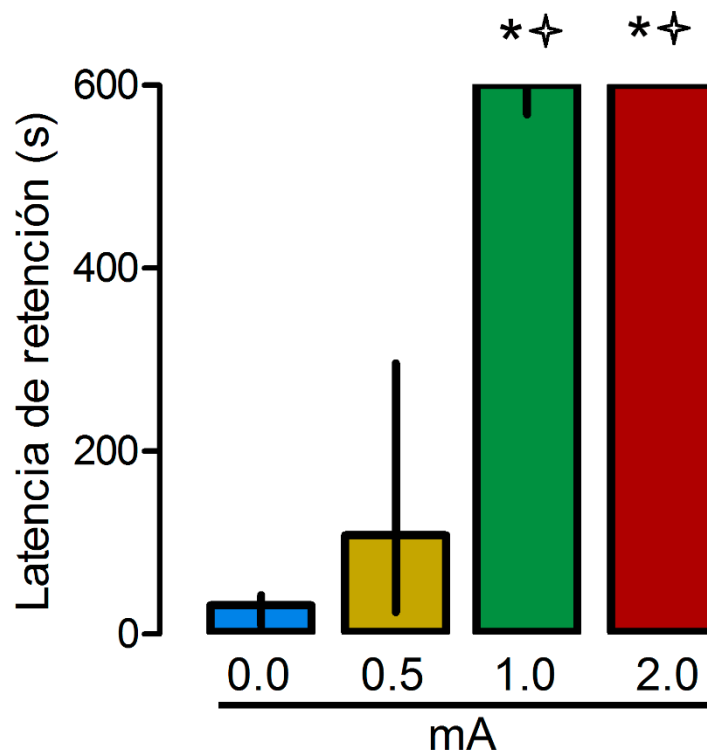


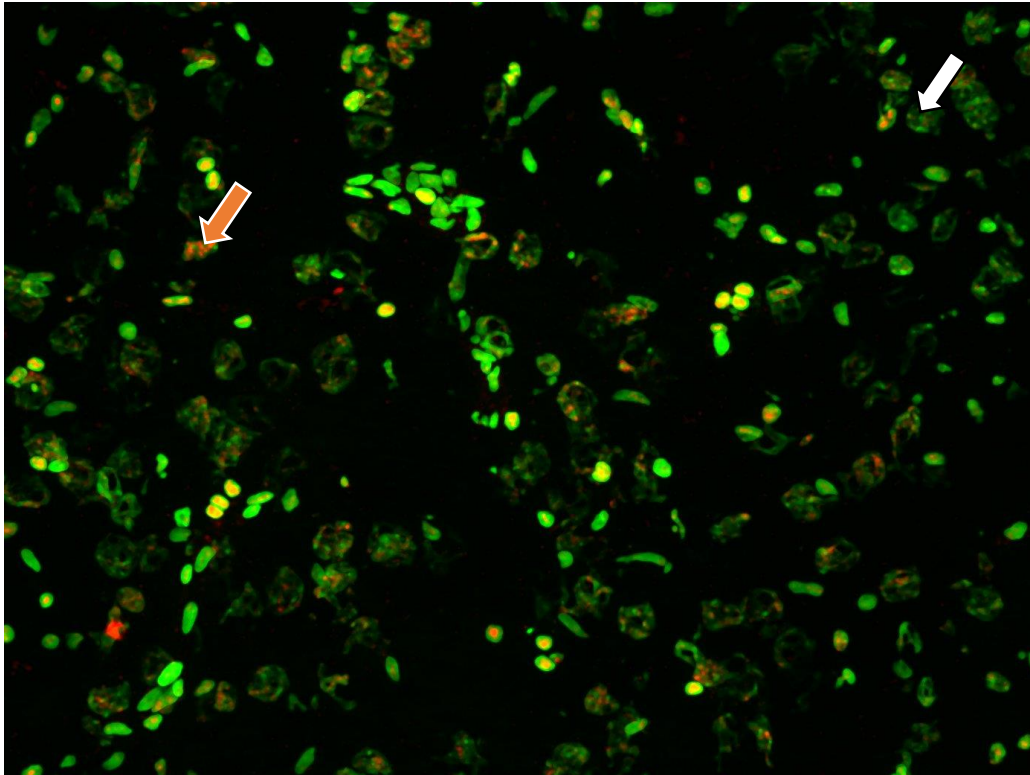
Figura 16. Latencias de retención en segundos. Se muestran las medianas con rangos intercuartiles. Se comparan los grupos que fueron entrenados en la tarea de evitación inhibitoria con el choque eléctrico de 0.0, 0.5, 1.0 y 2.0 mA. El símbolo (*) indica que se encontraron diferencias significativas con el grupo de 0.0 mA ($p < 0.0001$), y (♦) con el grupo de 0.5 mA ($p < 0.05$).

6.2 Resultados histológicos

6.2.1. Proporción de células que presentan pGR en el estriado (caudado-putamen)

Los conteos celulares para los grupos entrenados en la tarea de evitación inhibitoria con los choques 0.0, 0.5, 1.0 y 2.0 mA. Además del grupo control intacto y el grupo de solo choque presentaron células con el receptor a glucocorticoides fosforilado en la serina 211 (pGR). En lo que respecta a la prueba estadística de ANOVA de una vía, se encontraron diferencias significativas ($F(5,18) = 4.944$, $p = 0.0051$) (Figura 17). Por su parte, la prueba post-hoc de Tukey mostró diferencias significativas entre los grupos Intacto y 2.0 mA ($p < 0.05$), 0.5 mA y 2.0 mA ($p < 0.05$) y entre los grupos 2.0 mA y Sch 2.0 mA ($p < 0.01$).

(a)



(b)

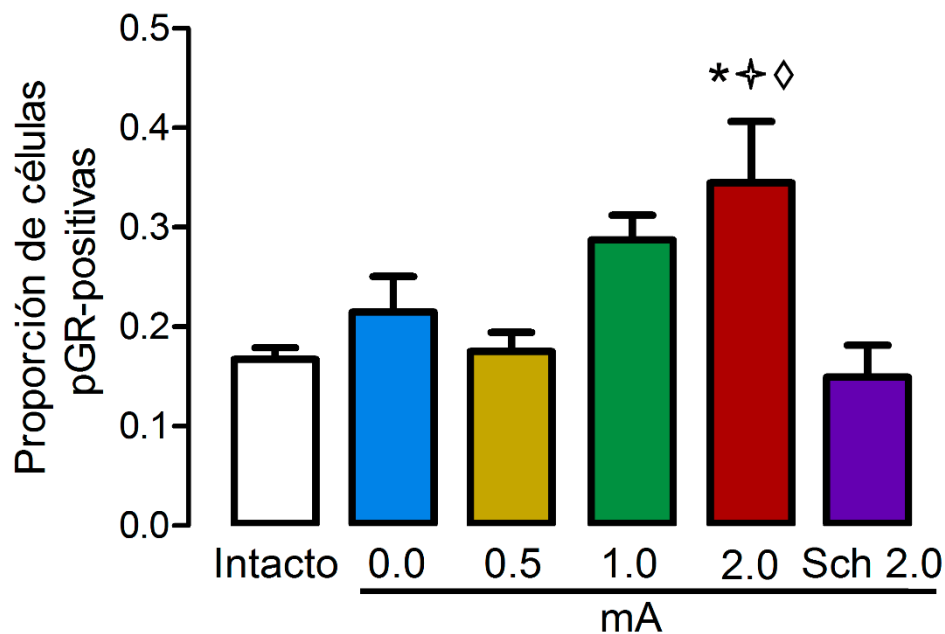


Figura 17. (a) Proyección en Z de 28 planos focales ($0.7 \mu\text{m}$ de profundidad, $40\times$ / AN 1.3) de una microfotografía de células del estriado (caudado-putamen) marcadas por inmunohistoquímica de fluorescencia. La flecha de color blanco indica el núcleo de una célula, la flecha anaranjada indica un núcleo de una célula que presenta pGR (fosforilado en la serina 211) (b) Células que presentan pGR (fosforilación en la serina 211) en proporción a las células totales, para los grupos entrenados en la tarea de evitación inhibitoria con los choques eléctricos de 0.0, 0.5, 1.0 y 2.0 mA, además de un grupo control intacto y un grupo al que solamente se le administró el choque más alto (2.0mA). El símbolo (*) Indica que se encontraron diferencias significativas con el grupo Intacto ($p<0.05$): (†) con el grupo de 0.5 mA ($p<0.05$), así como (◇) con el grupo de Sch 2.0mA ($p<0.01$).

El análisis de los conteos celulares dio lugar a una división entre estriado dorsal y estriado ventral para el número de células que presentan pGR (fosforilado en la serina 211).

6.2.2. Proporción de células que presentan pGR en el estriado (caudado-putamen) dorsal

Los conteos celulares restringidos para la región del estriado dorsal de los grupos entrenados en la tarea de evitación inhibitoria (Figura 18), presentaron diferencias significativas ($F(5, 18)=3.614$, $p=0.0194$). A su vez la prueba post hoc de Tukey mostró diferencias significativas solamente entre los grupos 2.0 mA y Sch 2mA ($p<0.05$).

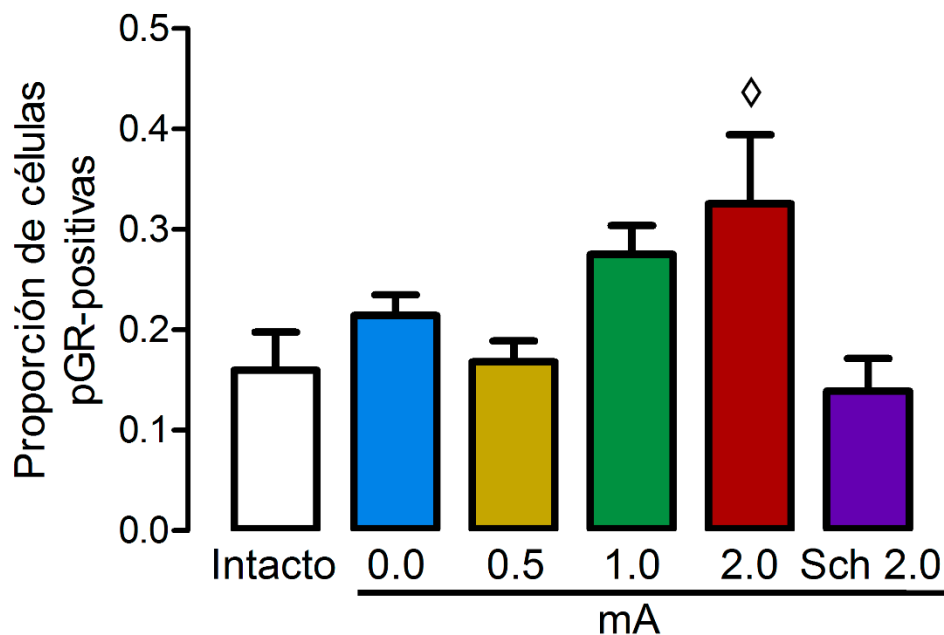


Figura 18. Células que presentan pGR (fosforilación en la serina 211) en el estriado dorsal en proporción a las células totales, para los grupos entrenados en la tarea de evitación inhibitoria con los choques eléctricos de 0.0, 0.5, 1.0 y 2.0 mA, además de un grupo control intacto y un grupo al que solamente se le administró el choque más alto (2.0mA). El símbolo ($\diamond$) indica diferencias significativas con el grupo de Sch 2.0mA ($p<0.05$).

6.2.3. Proporción de células que presentan pGR en el estriado (caudado-putamen) ventral

La comparación de los conteos celulares del estriado ventral (Figura 19), arrojó diferencias significativas ($F [5] = 4.513$, $p = 0.0077$) entre los grupos Intacto y 2.0 mA ($p < 0.05$), 0.5 mA y 2.0 mA ($p < 0.05$) así como 2.0 mA y Sch 2mA. ($p < 0.05$).

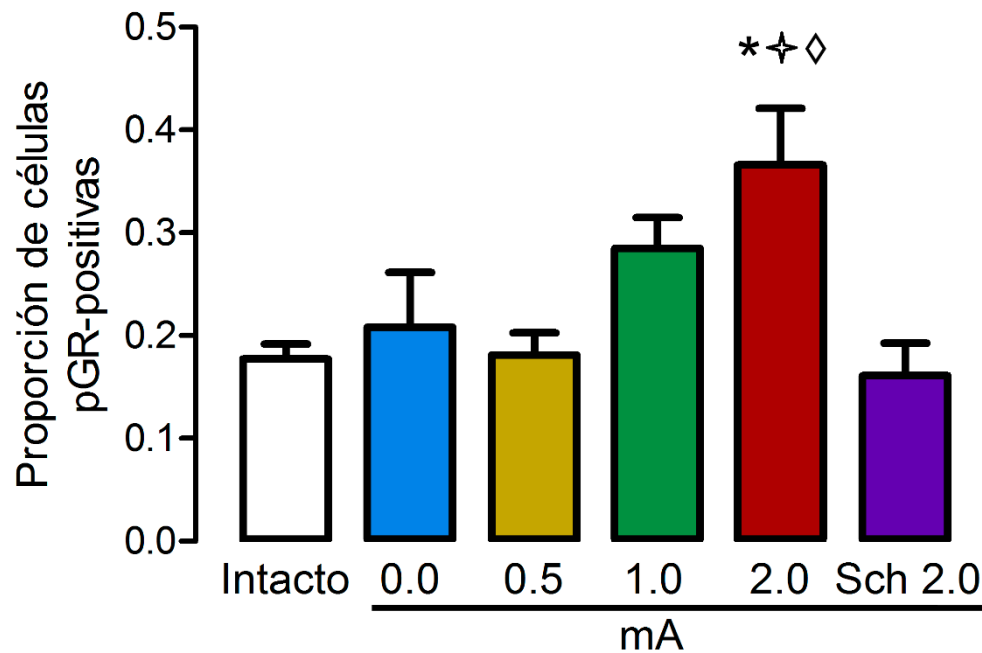


Figura 19. Células que presentan pGR (fosforilación en la serina 211) en el estriado ventral en proporción a las células totales, para los grupos entrenados en la tarea de evitación inhibitoria con los choques eléctricos de 0.0, 0.5, 1.0 y 2.0 mA, además de un grupo control intacto y un grupo al que solamente se le administró el choque más alto (2.0mA). El símbolo (*) indica diferencias significativas con el grupo Intacto ($p < 0.05$), (†) con el grupo de 0.5 mA ($p < 0.05$) y (◇) con el grupo de Sch 2.0mA ($p < 0.05$).

7. Discusión

Los resultados conductuales muestran que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos cuando se compararon las latencias de entrada, por lo que el aprendizaje de la tarea de evitación inhibitoria no se vio afectado por factores relacionados con la conducta motora. En cuanto a las latencias de escape, los grupos entrenados con los choques eléctricos moderado (1.0 mA) y alto (2.0 mA) fueron estadísticamente diferentes en comparación al grupo control sin choque eléctrico (0.0 mA), lo que indica que estos estímulos fueron más aversivos, por lo que podrían representar una experiencia con mayor carga emocional, las cuales tienden a ser mejor recordadas (McGaugh & Roozendaal, 2002; Sandi, Loscertales, & Guaza, 1997). Esto se debe a que las hormonas y neurotransmisores liberados en este tipo de eventos con estrés juegan un papel fundamental para inducir los cambios plásticos necesarios para la consolidación de la memoria (Roozendaal, 2000). Sus efectos, sin embargo, dependen de la intensidad, de la duración, de la cronicidad y de la predictibilidad que acompañen al estresor (Lupien, Maheu, Tu, Fiocco, & Schramek, 2007), en este caso, el choque eléctrico como un estímulo aversivo, constituye un evento adecuado para el estudio de la formación de la memoria bajo condiciones de estrés (LeDoux, 1995; Sandi, 2003).

Para comprobar estas afirmaciones, los grupos experimentales pasaron por la fase de prueba de la tarea de evitación inhibitoria, y cuarenta y ocho horas después fueron expuestos al mismo contexto. La latencia de retención que se mide en este proceso experimental se refiere al tiempo en que el animal vuelve a pasar al compartimento oscuro. Se encontró que, los grupos entrenados con los choques eléctricos moderado y alto, muestran una mejor memoria de la tarea.

Una buena retención de la tarea puede entonces estar asociada, propiamente a la liberación de las hormonas del estrés, particularmente a los glucocorticoides. Roozendaal y McGaugh (2011) y de Kloet et al. (2005), afirman que el estrés induce la acción de glucocorticoides en el cerebro, produciendo las modificaciones plásticas que se requieren por la consolidación de la memoria, en las cuales, la activación del receptor a glucocorticoides (GR), juega un papel muy importante. Además, la acción en conjunto con otros neuromoduladores como noradrenalina,

glutamato, GABA, vasopresina, y acetilcolina, influyen en el almacenamiento de información, preparando al organismo para una situación desafiante similar en el futuro (McGaugh, 2003).

En lo concerniente a los resultados histológicos reportados, la hipótesis que se planteó, abordó la posibilidad de encontrar una relación entre las células positivas al pGR (receptor a glucocorticoides fosforilado en la serina 211) y el entrenamiento incrementado. Aceptándose que las ratas entrenadas en la tarea de evitación inhibitoria con el choque eléctrico alto (2.0 mA.) aumentarían el número de células que presenten pGR en el caudado-putamen (estriado), tanto en la región dorsal como en la ventral.

Debe hacerse especial énfasis en las implicaciones de las diferencias estadísticas encontradas, ya que la comparación del grupo entrenado con alto choque con respecto al grupo al que solamente se le administró el choque eléctrico (Sch 2.0mA) indica que la activación del receptor a glucocorticoides en la serina 211 puede no sólo deberse al estímulo aversivo del choque eléctrico, sino que está relacionada con una experiencia de aprendizaje. Aquí es importante señalar la importancia del contexto, una representación abstracta compuesta de diversos estímulos percibidos en el ambiente; se aprende incidentalmente (sólo con la exposición al contexto) (Maren, Phan, & Liberzon, 2013). Una vez que esa información ha sido codificada ya puede asociarse con otros eventos, como un choque eléctrico. Fanselow (1990), afirma que los animales a los que se les administra el choque eléctrico inmediatamente después de colocarlos en un compartimento, no presentan un aprendizaje del contexto de la tarea de memoria. Esto se relaciona con la actividad del GR, ya que se ha descrito que altos niveles de glucocorticoides en la sangre producen altos niveles de actividad en las áreas límbicas y en el tronco encefálico, estas neuronas producen altos niveles de excitación, lo que conlleva a un enfoque de la atención y a una facilitación en la codificación de la información relevante (Joels, Karst, Krugers, & Lucassen, 2007), por lo que suele concluirse que el estrés facilita el aprendizaje, particularmente cuando el estresor está íntimamente relacionado con el contexto en el cual ocurrió el aprendizaje, es decir, cuando la asociación de estímulos ocurre simultáneamente en espacio y tiempo (Joëls et al., 2006).

Con respecto a los resultados histológicos, la región dorsal del caudado-putamen, mostró diferencias estadísticamente significativas entre el grupo entrenado con

el choque eléctrico alto (2.0 mA) en comparación con el grupo al que solamente se le administró el choque eléctrico alto (Sch 2.0mA), sin embargo no presentó diferencias con los otros dos grupos control, el grupo intacto y el grupo entrenado sin choque eléctrico (0.0 mA.), en cambio cuando se compararon los grupos en la región ventral se observaron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo intacto y el que fue entrenado sin choque (0.0 mA), así como el de sólo choque. Podría señalarse entonces que la región ventral estaría más implicada en el procesamiento de consolidación de la tarea de evitación inhibitoria. Esto podría explicarse por la conectividad que presenta el caudado-putamen con respecto a otras estructuras cerebrales. Sus conexiones no son homogéneas, incluso podría hablarse de un gradiente de proyecciones provenientes de regiones corticales y talámicas a lo largo de la estructura (Voorn, Vanderschuren, Groenewegen, Robbins, & Pennartz, 2004), mientras que la región dorsal del caudado putamen recibe información mayormente desde las estructuras de la corteza frontal y sensoriomotora (Brown, Smith, & Goldbloom, 1998) una porción de la región ventral recibe información de áreas corticales teniendo un papel importante en procesos asociativos, entre las que se encuentran regiones del hipocampo y la amígdala (Berendse, Galis-de Graaf, & Groenewegen, 1992; McGeorge & Faull, 1989), regiones relacionadas con el estrés y la consolidación de la memoria (Cahill, Babinsky, Markowitsch, & McGaugh, 1995; Eichenbaum, Stewart, & Morris, 1990). Los resultados histológicos son también relevantes en su método de análisis, ya que se realizaron con una técnica novedosa de conteos de células marcadas por inmunohistoquímica de fluorescencia, lo que permitió de cierto modo, constatar lo encontrado por Morimoto et al. (1996) que ya habían reportado la presencia del GR en el caudado-putamen. Además, se logra aportar evidencia sobre el efecto del estrés en el sistema nervioso; ha sido reportado anteriormente que la intensidad o magnitud de un estímulo aversivo o estresante que representa el choque eléctrico es directamente proporcional a la cantidad de glucocorticoides (corticosterona) liberados (Cordero et al., 1998), a la vez, este trabajo agrega evidencia sobre un aumento en la activación del receptor a glucocorticoides (GR) producido por una intensidad alta del choque eléctrico usado durante el entrenamiento de una tarea de memoria, esta relación coincide con el trabajo de Joëls y de Kloet (1994) quienes reportaron que la activación del receptor a glucocorticoides se define por los niveles de corticosterona circundante, aspecto

importante para la discusión de estos resultados, ya que se midió el número de células que presentaron el GR con una fosforilación en la serina 211 (serina 232 en la rata), justamente el sitio que ha demostrado un incremento en su fosforilación en presencia de su ligando, los glucocorticoides (Pocuca et al., 1998).

Ahora bien, la información que relaciona a los glucocorticoides con las intensidades de un estímulo aversivo y la consolidación de la memoria (Jefferys et al., 1983; Lozano et al., 2013; McEwen & Sapolsky, 1995; Medina et al., 2007; Oitzl & de Kloet, 1992; Roozendaal, 2000; Roozendaal & McGaugh, 2011; Sanchez-Resendis et al., 2012; Sandi & Pinelo-Nava, 2007; Zorawski & Killcross, 2002) demuestra con suficiente claridad la relación entre la magnitud de un estímulo y la retención de un aprendizaje, así como la literatura que apoya el papel esencial del receptor a glucocorticoides mediante acciones genómicas y no genómicas en el desencadenamiento de elementos celulares y moleculares claves para la formación de la memoria de largo plazo, como lo son los elementos que modifican la señalización y la arquitectura celular (Datson et al., 2008; Datson et al., 2001; Morsink et al., 2006; Popoli et al., 2012), permitiendo discutir la posibilidad de la influencia del estrés y el GR en el entrenamiento incrementado. Es importante recalcar, que en los grupos entrenados con la intensidad más alta del choque eléctrico (2.0 mA.) se encontraron diferencias significativas tanto en la retención de la tarea de evitación inhibitoria, como en el número de células que presentaron pGR, aspecto notablemente relevante, ya que representa un estímulo sobrerreforzado, elemento importante en el estudio del entrenamiento incrementado (Prado-Alcalá et al., 2006). Si bien en este trabajo no se administró un agente amnésico y su análisis se restringió solamente al caudado-putamen, vale la pena considerar la amplia evidencia existente de que el estrés y los glucocorticoides interactúan con otras estructuras cerebrales y los sistemas de neurotransmisión en los que se ha estudiado el efecto protector contra la amnesia. En este contexto, el primer punto en el que debe hacerse hincapié, es que los procesos de aprendizaje y memoria no comprenden estructuras individuales que participan en el almacenamiento de cierto tipo de información, sino que comprenden sistemas de memoria diferenciados anatómicamente y funcionalmente (Schwabe, 2013; Squire, 2004). Estos sistemas procesan información de manera paralela y simultánea (White & McDonald, 2002). Sin embargo pueden llegar a interactuar de manera cooperativa o competitiva (Schroeder, Wingard, & Packard,

2002; Voermans et al., 2004), dependiendo del cómo, su acción es modulada para optimizar el comportamiento y la ejecución de una respuesta.

Durante el estrés, se ha reportado la interacción dinámica de tres sistemas de memoria alterados por acción de los glucocorticoides: amígdala, hipocampo y estriado (caudado-putamen) (Schwabe, 2013). Estructuras que procesan los componentes, aversivo (amígdala), espacial (hipocampo) y de procedimiento (caudado-putamen), necesarios para el aprendizaje de la tarea de evitación inhibitoria y en las que además, se ha estudiado una influencia en el fenómeno de entrenamiento incrementado (Giordano & Prado-Alcalá, 1986; Martínez, Quirarte, Díaz-Cintra, Quiroz, & Prado-Alcalá, 2002; Salado-Castillo et al., 2011).

Esta relación es compleja y aún queda mucha información por develar, sin embargo, existe evidencia de que la amígdala es capaz de modular a otros sistemas de memoria (McGaugh, 2002; Packard & Teather, 1998).

Evidencia farmacológica parece prueba la influencia tanto del estriado como del hipocampo, ya que las inactivaciones por medio de la administración del antagonista a receptores adrenérgicos 79948 en la amígdala, evitan por completo el efecto del estrés en ambas estructuras (Packard & Gabriele, 2009; Roozendaal et al., 2006; Wingard & Packard, 2008).

Por su parte, el estriado y el hipocampo representan una conjunción de mayor controversia, comenzando por su sensibilidad ante los glucocorticoides. En el caso del hipocampo se ha aceptado que el estrés favorece los procesos de memoria cuando el estresor es parte de la experiencia de aprendizaje u ocurre en un tiempo cercano (Diamond, Campbell, Park, Halonen, & Zoladz, 2007; Roozendaal & McGaugh, 1997) y que cualquier situación de estrés fuera de contexto deteriora la plasticidad sináptica hipocampal (Wiegert, Joëls, & Krugers, 2006); a su vez, el estriado fue considerado por muchos años como una estructura poco afectada por el estrés, sin embargo, en años recientes, se ha publicado literatura que apoya la participación del estriado durante una situación de estrés en paradigmas de memoria como el laberinto de Morris o la evitación inhibitoria (Lozano et al., 2013; Medina et al., 2007; Quirarte et al., 2009; Roozendaal & McGaugh, 2011; Sanchez-Resendis et al., 2012).

En lo que respecta a la interacción entre el hipocampo y el estriado, se ha demostrado que la inactivación del hipocampo favorece el aprendizaje dependiente del estriado dorsal (Schroeder et al., 2002) y a su vez, la inactivación

del estriado dorsal fortalece el aprendizaje dependiente del hipocampo (Mitchell & Hall, 1988). Los deterioros inducidos por estrés en el hipocampo reducirían su influencia inhibitoria en el estriado, a la vez, fortalecimientos inducidos por estrés en el estriado incrementarían su efecto inhibitorio en el hipocampo.

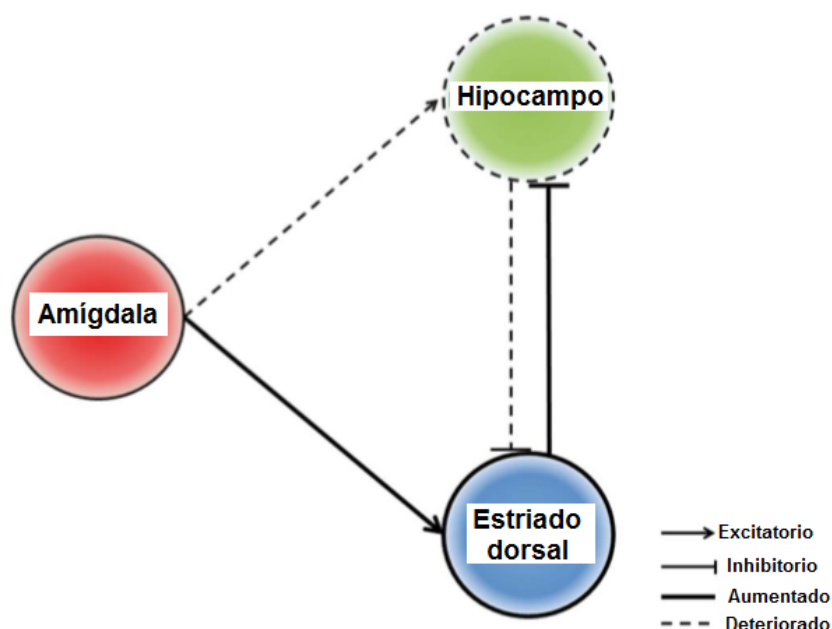


Figura 20. Interacción de los sistemas de memoria durante el estrés. La amígdala funciona como un modulador de las interacciones del hipocampo con el estriado dorsal. Modificado de Schwabe (2013).

Es de señalarse que también existe evidencia sobre una relación de cambio de memoria cuya información es procesada por el hipocampo a memoria dependiente del estriado, debido a la repetición del entrenamiento (Poldrack et al., 2001), tomando en cuenta que la práctica es un factor crítico para la participación de múltiples sistemas de memoria (Packard & Gabriele, 2009), si bien la tarea de evitación inhibitoria no comprende una repetición del entrenamiento, debe mencionarse que la relación entre el hipocampo y el estriado podría ser mediado por las condiciones del entrenamiento, como el nivel de choque eléctrico utilizado. (Prado-Alcalá et al., 2006).

Podría decirse que, dentro de esta relación múltiple, la amígdala interviene como un modulador para las interacciones entre el estriado y el hipocampo, que parecen tener interacciones distintas dependientes del estrés inherente a la experiencia de aprendizaje así como del tiempo y la cantidad de ocasiones en las que se exponga

al organismo ante la misma. Lo cual sugiere que el choque alto (2.0 mA), utilizado en la tarea de evitación inhibitoria podría estimular la participación del caudado-putamen así como de la amígdala y el hipocampo. Considerando que fue el grupo entrenado con choque alto el que presentó diferencias significativas en cuanto al número de células con pGR, podría sugerirse que la activación del receptor ante un estímulo sobrerreforzado estaría contribuyendo en la interacción funcional del estriado (caudado-putamen) con otros sistemas de memoria durante el estrés.

Otro aspecto que debe recalcar, es la influencia de los glucocorticoides liberados en una situación de estrés sobre otros sistemas de neurotransmisión como el glutamato y la acetilcolina (Popoli et al., 2012), los cuales se encuentran íntimamente relacionados con los procesos de memoria y aprendizaje (McGaugh, 2004).

En el caso del glutamato, si bien no se ha reportado evidencia de una participación en la modulación del estriado, debido en gran parte a la naturaleza de sus conexiones, al sólo presentar entradas glutamatérgicas y tener en su mayoría salidas GABAérgicas y dopaminérgicas; es de mencionarse la acción de este neurotransmisor en otros sistemas de memoria.

En relación a los glucocorticoides, existe información de una vía de activación cruzada intracelular entre los glucocorticoides y el glutamato en la consolidación de memorias estresantes (Reul, 2014), además, se ha reportado que las acciones no genómicas del receptor a glucocorticoides pueden controlar rápidamente la liberación de glutamato y modular la transmisión y plasticidad sináptica (Groeneweg, Karst, de Kloet, & Joels, 2011; Haller, Mikics, & Makara, 2008), así como la regulación del tráfico de subunidades del receptor AMPA (Krugers, Hoogenraad, & Groc, 2010).

En cuanto a los sistemas de memoria relacionados con estrés, se ha demostrado que la exposición ante un estresor o la administración de glucocorticoides incrementa rápidamente la liberación de glutamato en estructuras como la amígdala y el hipocampo (Reznikov et al., 2007; Venero & Borrell, 1999), lo que tiene una gran importancia para la actividad cerebral que participa en la memoria, ya que la neurotransmisión de glutamato incrementa la frecuencia de las corrientes postsinápticas excitatorias miniatura tanto en el hipocampo como en la amígdala, lo que permite la apertura transitoria de canales de calcio y por tanto la transmisión de señales en las neuronas (Meldrum, 2000).

Por su parte, la neurotransmisión de acetilcolina representa un aspecto de gran interés, ya que es un factor de gran importancia en la modulación de estructuras como el estriado (caudado-putamen) (Zhou et al., 2002), y en la modulación de los procesos de aprendizaje y memoria, ya que se ha demostrado farmacológicamente que antagonistas de la acetilcolina, administrados sistémica o directamente en estructuras cerebrales como el hipocampo o el caudado-putamen, producen un deterioro en la retención de una gran variedad de conductas aprendidas, cómo las tareas de condicionamiento de preferencia de lugar, condicionamiento al miedo y evitación inhibitoria; asimismo, la administración de agonistas o precursores de la acetilcolina facilitan la formación de la memoria (Fibiger, 1991; Gold, 2003; Prado-Alcalá, 1985).

También se ha estudiado la influencia del sistema colinérgico en el fenómeno de entrenamiento incrementado (Cruz-Morales, Duran-Arevalo, Díaz del Guante, Quirarte, & Prado-Alcalá, 1992; Quirarte, Cruz-Morales, Díaz del Guante, García, & Prado-Alcalá, 1993). Duran-Arevalo et al. (1990) demostraron que el efecto amnésico provocado por la administración sistémica de escopolamina (antagonista a los receptores muscarínicos de acetilcolina) podría ser impedido en los animales entrenados con un choque alto. Ahora bien, considerando que fue justamente en el grupo entrenado con choque alto en el que se encontraron diferencias significativas en los datos conductuales e histológicos del presente trabajo. Sanchez-Resendis et al. (2012), reportaron una relación entre el sistema colinérgico y los glucocorticoides en el estriado dorsal. Al administrar localmente RU 38486 (antagonista al GR) antes del entrenamiento y oxotremorina (agonista a los receptores colinérgicos) después del entrenamiento, se observó que la administración de RU 38486 bloquea el efecto facilitador de la oxotremorina en la consolidación de la memoria en la tarea de evitación inhibitoria. Esto sugiere que existe una relación entre el estrés y la modulación de acetilcolina en los procesos de aprendizaje y memoria, en específico, la acción del GR pareciera estar teniendo un papel fundamental para esta interacción.

Regresando a la relación de cambio entre el hipocampo y el estriado, Chang y Gold (2003) demostraron que la liberación de acetilcolina en el hipocampo y en el estriado, es importante para el cambio de hipocampo a estriado en tareas en las que se pasa de una estrategia de “lugar” a una estrategia de “respuesta”, la evidencia muestra además que un incremento en la liberación de acetilcolina en

el hipocampo precede a un incremento en la liberación de acetilcolina en el estriado durante el entrenamiento.

Trabajos clásicos han reportado un efecto anti-amnésico con la administración de corticosterona (Nakajima, 1975; Nakajima, 1976). Entre estos experimentos, lo encontrado por Flood et al. (1978) es de destacarse, ya que, al usar la tarea de evitación inhibitoria para medir el efecto amnésico de la anisomicina (inhibidor de la síntesis de proteínas, la cual se encuentra relacionada con la consolidación de la memoria), encontraron el efecto amnésico deseado, sin embargo, este efecto pudo ser revertido con la administración de corticosterona. Lo que prueba que al menos farmacológicamente, los glucocorticoides podrían tener un efecto en contra de los agentes amnésicos y por tanto en el fenómeno de entrenamiento incrementado.

Se ha descrito que el GR regula varias vías de señalización intracelulares, entre las que se incluyen las vías activadas por la proteína de unión al elemento de respuesta cAMP (CREB, por sus siglas en inglés), la proteína quinasa activada por mitógeno (MAPK), la proteína quinasa dependiente de calcio/calmodulina II (CaMK II) y el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) (Chen et al., 2012). Por su parte, diversos estudios situados particularmente en el hipocampo, demuestran que la activación del GR conlleva a la transcripción de una variedad de genes, entre los que se incluyen, aquellos que transcriben proteínas de unión a calcio, proteínas asociadas a sinaptosoma (SNAPs), moléculas neuronales de adhesión celular (NCAMs), dineína, neurofilamentos, actina- β , quinasa 1 de dominio LIM y profilina, así como la proteína quinasa serina/treonina (sgk1), el receptor adrenérgico β 2 y el receptor neuronal de serotonina (5-HT1A) (Cornett et al., 1998; Itani et al., 2002; Nakabayashi et al., 2001; Rogatsky et al., 2003), también cabe señalar su influencia sobre la transcripción de los genes p65 (Subunidad NF- κ B) y C-Jun/CFos (AP-1), factor de transcripción IID (TFIID), y el transductor de señal y activador de transcripción 5 (STAT5) (Heck et al., 1994; Kassel & Herrlich, 2007; Sandi, 2004). Todos estos elementos son considerados clave en las funciones de transducción de señales intracelulares, metabolismo, estructura neuronal y plasticidad sináptica (Datson et al., 2008; Datson et al., 2001; Morsink et al., 2006). Esta información apoya la afirmación de que el estrés, en específico la actividad del GR es primordial durante el periodo de consolidación de la memoria.

Finalmente, es importante señalar algunos aspectos del proceso de fosforilación del receptor a glucocorticoides y cómo este proceso afecta su actividad en el cerebro. Como ya se ha señalado anteriormente, las acciones del GR dependen de la fosforilación en los residuos de su estructura (Wang et al., 2002) y existen diversos sitios de fosforilación que muestran distintas funciones de respuesta en cuanto a la actividad transcripcional se refiere.

En este trabajo se estudió la activación del GR por una fosforilación en la serina 211, cuyo ortólogo en el GR de rata es la serina 232 (Chrousos & Kino, 2005). El proceso de fosforilación en este sitio ha sido reportado como un requerimiento para la influencia del GR en la transcripción de genes (Krstic et al., 1997), el hecho de haber encontrado un mayor número de células positivas al GR fosforilado en la serina 211, en los cerebros de las ratas entrenadas con un choque alto (2.0 mA) estaría implicando a este residuo, como uno de los factores clave para la influencia del GR en la consolidación de memorias inducidas por estrés. Esto posiblemente se deba a que la fosforilación del receptor facilite o inhiba la atracción de cofactores transcripcionales co-activadores como CBP/p300 y p160, o cofactores transcripcionales co-represores como AP-1 y COUP-TFII hacia el GR unido a un promotor (Chrousos & Kino, 2005), lo que influiría fuertemente en la expresión de genes y por tanto en la respuesta celular ante el estrés.

Los procesos de fosforilación en el sistema nervioso suelen ser llevados a cabo por diversas proteínas kinasas, entre las que se encuentran las kinasas c-jun N-terminal (JNK), kinasas activadas por mitógeno (MAPK) y las kinasas dependientes de ciclina (CDK) (Ismaili & Garabedian, 2004). Dentro de la familia de las CDKs se ha reportado que la proteína Cdk 5, tiene un papel fundamental en la regulación del sistema nervioso por medio de mecanismos dependientes del GR al fosforilar las serinas 203, 211 y 226 (Kino et al., 2007). Además, la actividad de Cdk 5 ha sido relacionada con el desarrollo cerebral, morfogénesis y supervivencia neuronal (Kesavapany, Li, & Pant, 2003). Sus acciones se restringen del sistema nervioso debido a la expresión neurona-específica de sus moléculas de activación p35 y p39 (Tsai, Delalle, Caviness, Chae, & Harlow, 1994). Además, es de señalarse la importancia de esta proteína, ya que puede modular tanto positivamente como negativamente la actividad del receptor a glucocorticoides (Figura 21), alterando su función al inhibir o mejorar la asociación con cofactores en el promotor de genes específicos (Kino et al., 2007). Esto puede

estar implicado en la interacción de las células del caudado-putamen con otras estructuras como la amígdala y el hipocampo y con otros sistemas de neurotransmisión como el glutamato y la acetilcolina, al inhibir o inducir la respuesta neuronal ante al estrés.

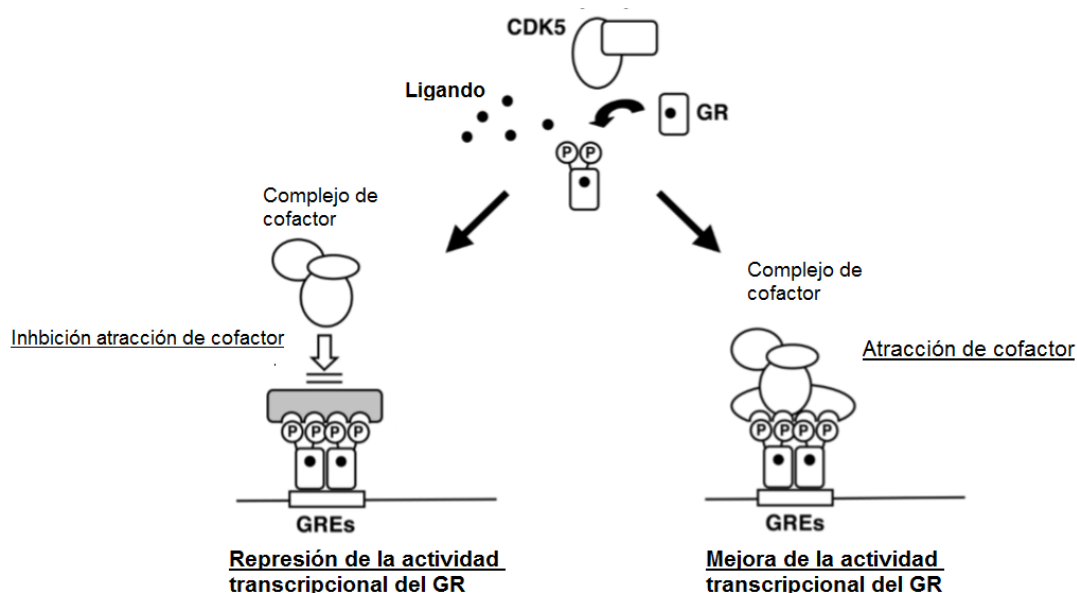


Figura 21. La proteína quinasa CDK5 fosforila al receptor a glucocorticoides, alterando su función, al inhibir o inducir la atracción de cofactores y por tanto su actividad transcripcional. Modificado de Chrousos y Kino (2005).

Ya se han mencionado entonces algunas de las acciones genómicas y no genómicas del GR en la dinámica celular y en los procesos de memoria, así como el papel de la fosforilación en la serina 211 como un sitio esencial para la actividad transcripcional del GR. Es notable que el receptor a glucocorticoides tiene una gran influencia sobre los procesos neuronales inmiscuidos en la consolidación, por lo tanto, se puede aseverar que una mayor cantidad de células que presenten la activación del GR en una estructura en particular, en este caso en el caudado-putamen, estaría estimulando la actividad de maquinarias celulares y modificaciones plásticas, lo que implicaría una memoria mucho más fuerte y estable, así como podría favorecer la interacción con diversos sistemas de memoria y sistemas de neurotransmisión, lo cual, si se visualiza como un conjunto

simultaneo de respuestas en el cerebro, podría llegar a explicar la poca o nula susceptibilidad de algunas estructuras ante agentes amnésicos.

Se sugiere entonces la realización de experimentos que puedan comprobar la actividad del receptor a glucocorticoides en el efecto protector en contra de agentes amnésicos, además de estudios que permitan disociar su relación con otros sistemas de memoria relacionados con el estrés y analizar la expresión de genes y cambios plásticos relacionados en la consolidación de la memoria en el caudado-putamen. En conjunto, esto ayudaría a develar de una manera más clara, una función del estrés en el entrenamiento incrementado.

8. Conclusiones

- El entrenamiento incrementado en la tarea de evitación inhibitoria induce un aumento en el número de células que presentan la activación del receptor a glucocorticoides (fosforilación en la serina 211), en el caudado-putamen de ratas.
- El análisis por regiones del caudado-putamen mostró que el entrenamiento incrementado en la tarea de evitación inhibitoria induce un aumento en el número de células que presentan la activación del receptor a glucocorticoides (fosforilación en la serina 211) en la región ventral pero no en la región dorsal del caudado-putamen de ratas.

9. Referencias

- Balleine, B. W., Delgado, M. R., & Hikosaka, O. (2007). The role of the dorsal striatum in reward and decision-making. *The Journal of Neuroscience*, 27(31), 8161-8165.
- Berendse, H. W., Galis-de Graaf, Y., & Groenewegen, H. J. (1992). Topographical organization and relationship with ventral striatal compartments of prefrontal corticostriatal projections in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 316(3), 314-347.
- Bledsoe, R. K., Montana, V. G., Stanley, T. B., Delves, C. J., Apolito, C. J., McKee, D. D., . . . Xu, H. E. (2002). Crystal structure of the glucocorticoid receptor ligand binding domain reveals a novel mode of receptor dimerization and coactivator recognition. *Cell*, 110(1), 93-105.
- Blind, R. D., & Garabedian, M. J. (2004). *Regulation of glucocorticoid receptor-mediated transcriptional activation: The role of receptor phosphorylation and cofactor recruitment*. Resumen presentado en el Key Stone Symposia on Nuclear Receptors, Colorado USA.
- Bolam, J. P., Hanley, J. J., Booth, P. A., & Bevan, M. D. (2000). Synaptic organisation of the basal ganglia. *Journal of Anatomy*, 196 (Pt 4), 527-542.
- Bolam, J. P., Izzo, P. N., & Graybiel, A. M. (1988). Cellular substrate of the histochemically defined striosome/matrix system of the caudate nucleus: a combined Golgi and immunocytochemical study in cat and ferret. *Neuroscience*, 24(3), 853-875.
- Brog, J. S., Salyapongse, A., Deutch, A. Y., & Zahm, D. S. (1993). The patterns of afferent innervation of the core and shell in the "accumbens" part of the rat ventral striatum: immunohistochemical detection of retrogradely transported fluoro-gold. *The Journal of Comparative Neurology*, 338(2), 255-278.
- Brown, L. L., Smith, D. M., & Goldbloom, L. M. (1998). Organizing principles of cortical integration in the rat neostriatum: corticostriate map of the body surface is an ordered lattice of curved laminae and radial points. *The Journal of Comparative Neurology*, 392(4), 468-488.
- Cahill, L., Babinsky, R., Markowitsch, H. J., & McGaugh, J. L. (1995). The amygdala and emotional memory. *Nature*, 377(6547), 295-296.
- Cordero, M. I., Kruyt, N. D., Merino, J. J., & Sandi, C. (2002). Glucocorticoid involvement in memory formation in a rat model for traumatic memory. *Stress*, 5(1), 73-79.
- Cordero, M. I., Merino, J. J., & Sandi, C. (1998). Correlational relationship between shock intensity and corticosterone secretion on the establishment and subsequent expression of contextual fear conditioning. *Behavioral Neuroscience*, 112(4), 885-891.
- Cornett, L. E., Hiller, F. C., Jacobi, S. E., Cao, W., & McGraw, D. W. (1998). Identification of a glucocorticoid response element in the rat beta2-adrenergic receptor gene. *Molecular Pharmacology*, 54(6), 1016-1023.
- Cruz-Morales, S. E., Duran-Arevalo, M., Díaz del Guante, M. A., Quirarte, G., & Prado-Alcalá, R. A. (1992). A threshold for the protective effect of over-reinforced passive avoidance against scopolamine-induced amnesia. *Behavioral and Neural Biology*, 57(3), 256-259.

- Chang, Q., & Gold, P. E. (2003). Switching memory systems during learning: changes in patterns of brain acetylcholine release in the hippocampus and striatum in rats. *The Journal of Neuroscience*, 23(7), 3001-3005.
- Chen, D. Y., Bambah-Mukku, D., Pollonini, G., & Alberini, C. M. (2012). Glucocorticoid receptors recruit the CaMKIIalpha-BDNF-CREB pathways to mediate memory consolidation. *Nature Neuroscience*, 15(12), 1707-1714.
- Christianson, S.-Å. (1992). Emotional Stress and Eyewitness Memory: A Critical Review. *Psychological Bulletin*, 112(2), 284-309.
- Chrousos, G. P., & Gold, P. W. (1992). The concepts of stress and stress system disorders. Overview of physical and behavioral homeostasis. *The Journal of the American Medical Association*, 267(9), 1244-1252.
- Chrousos, G. P., & Kino, T. (2005). Intracellular glucocorticoid signaling: a formerly simple system turns stochastic. *Science's STKE : Signal Transduction Knowledge Environment*, 2005(304), pe48.
- Datson, N. A., Morsink, M. C., Meijer, O. C., & de Kloet, E. R. (2008). Central corticosteroid actions: Search for gene targets. *European Journal of Pharmacology*, 583(2-3), 272-289.
- Datson, N. A., van der Perk, J., de Kloet, E. R., & Vreugdenhil, E. (2001). Identification of corticosteroid-responsive genes in rat hippocampus using serial analysis of gene expression. *European Journal of Neuroscience*, 14(4), 675-689.
- Davies, T. H., Ning, Y. M., & Sanchez, E. R. (2002). A new first step in activation of steroid receptors: hormone-induced switching of FKBP51 and FKBP52 immunophilins. *The Journal of Biological Chemistry*, 277(7), 4597-4600.
- Day, J. J., Roitman, M. F., Wightman, R. M., & Carelli, R. M. (2007). Associative learning mediates dynamic shifts in dopamine signaling in the nucleus accumbens. *Nature Neuroscience*, 10(8), 1020-1028.
- Day, M., Wang, Z., Ding, J., An, X., Ingham, C. A., Shering, A. F., . . . Surmeier, D. J. (2006). Selective elimination of glutamatergic synapses on striatopallidal neurons in Parkinson disease models. *Nature Neuroscience*, 9(2), 251-259.
- de Kloet, E. R. (1991). *Brain Corticosteroid Receptor Balance and Homeostatic Control*: Raven Press.
- de Kloet, E. R., Joels, M., & Holsboer, F. (2005). Stress and the brain: from adaptation to disease. *Nature Reviews Neuroscience*, 6(6), 463-475.
- de Kloet, E. R., Oitzl, M. S., & Joëls, M. (1999). Stress and cognition: Are corticosteroids good or bad guys? *Trends in Neurosciences*, 22(10), 422-426.
- De Leonibus, E., Oliverio, A., & Mele, A. (2005). A study on the role of the dorsal striatum and the nucleus accumbens in allocentric and egocentric spatial memory consolidation. *Learning & Memory*, 12(5), 491-503.
- Diamond, D. M., Campbell, A. M., Park, C. R., Halonen, J., & Zoladz, P. R. (2007). The temporal dynamics model of emotional memory processing: a synthesis on the neurobiological basis of stress-induced amnesia, flashback and traumatic memories, and the Yerkes-Dodson law. *Neural Plasticity*, 2007, 60803.
- Domjan, M. (2005). Pavlovian conditioning: a functional perspective. *Annual Review of Psychology*, 56, 179-206.
- Dudai, Y. (2002). *Memory from A to Z: keywords, concepts and beyond* Oxford: Oxford University Press.

- Dudai, Y. (2004). The neurobiology of consolidations, or, how stable is the engram? *Annual Review of Psychology*, 55, 51-86.
- Duran-Arevalo, M., Cruz-Morales, S. E., & Prado-Alcalá, R. A. (1990). Is acetylcholine involved in memory consolidation of over-reinforced learning? *Brain Research Bulletin*, 24(6), 725-727.
- Eichenbaum, H., Stewart, C., & Morris, R. G. (1990). Hippocampal representation in place learning. *The Journal of Neuroscience*, 10(11), 3531-3542.
- Fanselow, M. (1990). Factors governing one-trial contextual conditioning. *Animal Learning & Behavior*, 18(3), 264-270.
- Fibiger, H. C. (1991). Cholinergic mechanisms in learning, memory and dementia: A review of recent evidence. *Trends in Neurosciences*, 14(6), 220-223.
- Flood, J. F., Vidal, D. I., Bennett, E. L., Orme, A. E., Vasquez, S., & Jarvik, M. E. (1978). Memory facilitating and anti-amnesic effects of corticosteroids. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 8(1), 81-87.
- Fujiyama, F., Unzai, T., Nakamura, K., Nomura, S., & Kaneko, T. (2006). Difference in organization of corticostriatal and thalamostriatal synapses between patch and matrix compartments of rat neostriatum. *The European Journal of Neuroscience*, 24(10), 2813-2824.
- Gallagher-Beckley, A. J., & Cidlowski, J. A. (2009). Emerging roles of glucocorticoid receptor phosphorylation in modulating glucocorticoid hormone action in health and disease. *IUBMB Life*, 61(10), 979-986.
- Gerfen, C. R. (1984). The neostriatal mosaic: compartmentalization of corticostriatal input and striatonigral output systems. *Nature*, 311(5985), 461-464.
- Gerfen, C. R. (1985). The neostriatal mosaic. I. Compartmental organization of projections from the striatum to the substantia nigra in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 236(4), 454-476.
- Giordano, M., & Prado-Alcalá, R. A. (1986). Retrograde amnesia induced by post-trial injection of atropine into the caudate-putamen Protective effect of the negative reinforcer. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 24(4), 905-909.
- Gold, P. E. (2003). Acetylcholine modulation of neural systems involved in learning and memory. *Neurobiology of Learning and Memory*, 80(3), 194-210.
- Goshen-Gottstein, Y. (2003). Learning and Memory. En *Encyclopedia of the life sciences* (pp. 1-6): John Wiley & Sons, Ltd.
- Graybiel, A. M., Baughman, R. W., & Eckenstein, F. (1986). Cholinergic neuropil of the striatum observes striosomal boundaries. *Nature*, 323(6089), 625-627.
- Graybiel, A. M., & Ragsdale, C. W. (1978). Histochemically distinct compartments in the striatum of human, monkeys, and cat demonstrated by acetylthiocholinesterase staining. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 75(11), 5723-5726.
- Groeneweg, F. L., Karst, H., de Kloet, E. R., & Joels, M. (2011). Rapid non-genomic effects of corticosteroids and their role in the central stress response. *The Journal of Endocrinology*, 209(2), 153-167.
- Haller, J., Mikics, E., & Makara, G. B. (2008). The effects of non-genomic glucocorticoid mechanisms on bodily functions and the central neural system. A critical evaluation of findings. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 29(2), 273-291.

- Heck, S., Kullmann, M., Gast, A., Ponta, H., Rahmsdorf, H. J., Herrlich, P., & Cato, A. C. (1994). A distinct modulating domain in glucocorticoid receptor monomers in the repression of activity of the transcription factor AP-1. *The EMBO Journal*, 13(17), 4087-4095.
- Herkenham, M., & Pert, C. B. (1981). Mosaic distribution of opiate receptors, parafascicular projections and acetylcholinesterase in rat striatum. *Nature*, 291(5814), 415-418.
- Hilario, M. R., Clouse, E., Yin, H. H., & Costa, R. M. (2007). Endocannabinoid signaling is critical for habit formation. *Frontiers in Integrative Neuroscience*, 1, 6.
- Hilgard, E. R., & Bower, G. H. (1987). *Teorías del aprendizaje* (10^{ma} ed.) México: Trillas.
- Ismaili, N., & Garabedian, M. J. (2004). Modulation of glucocorticoid receptor function via phosphorylation. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1024, 86-101.
- Itani, O. A., Liu, K. Z., Cornish, K. L., Campbell, J. R., & Thomas, C. P. (2002). Glucocorticoids stimulate human sgk1 gene expression by activation of a GRE in its 5'-flanking region. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 283(5), E971-979.
- Izquierdo, I., Barros, D. M., Mello e Souza, T., de Souza, M. M., Izquierdo, L. A., & Medina, J. H. (1998). Mechanisms for memory types differ. *Nature*, 393(6686), 635-636.
- Jefferys, D., Copolov, D., Irby, D., & Funder, J. (1983). Behavioural effect of adrenalectomy: Reversal by glucocorticoids or [D-ALA2, MET5]enkephalinamide. *European Journal of Pharmacology*, 92(1-2), 99-103.
- Joëls, M., & de Kloet, E. R. (1994). Mineralocorticoid and glucocorticoid receptors in the brain Implications for ion permeability and transmitter systems. *Progress in Neurobiology*, 43(1), 1-36.
- Joels, M., Karst, H., Krugers, H. J., & Lucassen, P. J. (2007). Chronic stress: implications for neuronal morphology, function and neurogenesis. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 28(2-3), 72-96.
- Joëls, M., Pu, Z. W., Wiegert, O., Oitzl, M. S., & Krugers, H. J. (2006). Learning under stress: How does it work? *Trends in Cognitive Sciences*, 10(4), 152-158.
- Kassel, O., & Herrlich, P. (2007). Crosstalk between the glucocorticoid receptor and other transcription factors: molecular aspects. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 275(1-2), 13-29.
- Kawaguchi, Y., Wilson, C. J., Augood, S. J., & Emson, P. C. (1995). Striatal interneurons: Chemical, physiological and morphological characterization. *Trends in Neurosciences*, 18(12), 527-535.
- Kesavapany, S., Li, B. S., & Pant, H. C. (2003). Cyclin-dependent kinase 5 in neurofilament function and regulation. *Neuro-Signals*, 12(4-5), 252-264.
- Kincaid, A. E., & Wilson, C. J. (1996). Corticostriatal innervation of the patch and matrix in the rat neostriatum. *The Journal of Comparative Neurology*, 374(4), 578-592.
- Kino, T., Ichijo, T., Amin, N. D., Kesavapany, S., Wang, Y., Kim, N., . . . Chrousos, G. P. (2007). Cyclin-dependent kinase 5 differentially regulates the transcriptional activity of the glucocorticoid receptor through

- phosphorylation: clinical implications for the nervous system response to glucocorticoids and stress. *Molecular Endocrinology*, 21(7), 1552-1568.
- Kreitzer, A. C. (2009). Physiology and pharmacology of striatal neurons. *Annual Review of Neuroscience*, 32, 127-147.
- Kroll, S., El-Gindi, J., Thanabalasundaram, G., Panpumthong, P., Schrot, S., Hartmann, C., & Galla, H. J. (2009). Control of the blood-brain barrier by glucocorticoids and the cells of the neurovascular unit. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1165, 228-239.
- Krstic, M. D., Rogatsky, I., Yamamoto, K. R., & Garabedian, M. J. (1997). Mitogen-activated and cyclin-dependent protein kinases selectively and differentially modulate transcriptional enhancement by the glucocorticoid receptor. *Molecular and Cellular Biology*, 17(7), 3947-3954.
- Krugers, H. J., Hoogenraad, C. C., & Groc, L. (2010). Stress hormones and AMPA receptor trafficking in synaptic plasticity and memory. *Nature Reviews Neuroscience*, 11(10), 675-681.
- Kuiper, G. G., & Brinkmann, A. O. (1994). Steroid hormone receptor phosphorylation: is there a physiological role? *Molecular and Cellular Endocrinology*, 100(1-2), 103-107.
- Kumar, R., & Calhoun, W. J. (2008). Differential regulation of the transcriptional activity of the glucocorticoid receptor through site-specific phosphorylation. *Biologics : Targets & Therapy*, 2(4), 845-854.
- LeDoux, J. E. (1995). Emotion: Clues from the brain. *Annual Review of Psychology*, 46, 209-235.
- Lozano, Y. R., Serafín, N., Prado-Alcalá, R. A., Roozendaal, B., & Quirarte, G. L. (2013). Glucocorticoids in the dorsomedial striatum modulate the consolidation of spatial but not procedural memory. *Neurobiology of Learning and Memory*, 101, 55-64.
- Lupien, S. J., Maheu, F., Tu, M., Fiocco, A., & Schramek, T. E. (2007). The effects of stress and stress hormones on human cognition: Implications for the field of brain and cognition. *Brain and Cognition*, 65(3), 209-237.
- Lupien, S. J., & McEwen, B. S. (1997). The acute effects of corticosteroids on cognition: Integration of animal and human model studies. *Brain Research Reviews*, 24(1), 1-27.
- Lupien, S. J., Wilkinson, C. W., Briere, S., Menard, C., Kin, N., & Nair, N. P. V. (2002). The modulatory effects of corticosteroids on cognition: Studies in young human populations. *Psychoneuroendocrinology*, 27(3), 401-416.
- Maren, S., Phan, K. L., & Liberzon, I. (2013). The contextual brain: implications for fear conditioning, extinction and psychopathology. *Nature Reviews Neuroscience*, 14(6), 417-428.
- Martínez, I., Quirarte, G. L., Díaz-Cintra, S., Quiroz, C., & Prado-Alcalá, R. A. (2002). Effects of lesions of hippocampal fields CA1 and CA3 on acquisition of inhibitory avoidance. *Neuropsychobiology*, 46(2), 97-103.
- McDonald, R. J., & White, N. M. (1993). A triple dissociation of memory systems: Hippocampus, amygdala, and dorsal striatum. *Behavioral Neuroscience*, 107(1), 3-22.
- McEwen, B. S. (2004). Protection and damage from acute and chronic stress: allostasis and allostatic overload and relevance to the pathophysiology of psychiatric disorders. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1032, 1-7.

- McEwen, B. S., & Sapolsky, R. M. (1995). Stress and cognitive function. *Current Opinion in Neurobiology*, 5(2), 205-216.
- McGaugh, J. L. (1983). Hormonal influences on memory. *Annual Review of Psychology*, 34, 297-323.
- McGaugh, J. L. (2002). Memory consolidation and the amygdala: A systems perspective. *Trends in Neurosciences*, 25(9), 456.
- McGaugh, J. L. (2004). The amygdala modulates the consolidation of memories of emotionally arousing experiences. *Annual Review of Neuroscience*, 27, 1-28.
- McGaugh, J. L. (2003). *Memory and Emotion: The Making of Lasting Memories* London: Weidenfeld & Nicolson.
- McGaugh, J. L., & Roozendaal, B. (2002). Role of adrenal stress hormones in forming lasting memories in the brain. *Current Opinion in Neurobiology*, 12(2), 205-210.
- McGeorge, A. J., & Faull, R. L. (1989). The organization of the projection from the cerebral cortex to the striatum in the rat. *Neuroscience*, 29(3), 503-537.
- Medina, A. C., Charles, J. R., Espinoza-González, V., Sánchez-Resendis, O., Prado-Alcalá, R. A., Roozendaal, B., & Quirarte, G. L. (2007). Glucocorticoid administration into the dorsal striatum facilitates memory consolidation of inhibitory avoidance training but not of the context or footshock components. *Learning & Memory* 14(10), 673-677.
- Meldrum, B. S. (2000). Glutamate as a neurotransmitter in the brain: review of physiology and pathology. *The Journal of Nutrition*, 130(4S Suppl), 1007S-1015S.
- Mills, J. A. (1978). A summary and criticism of Skinner's second theory of learning. *Canadian Psychological Review*, 19(4), 328-337.
- Mitchell, J. A., & Hall, G. (1988). Caudate-putamen lesions in the rat may impair or potentiate maze learning depending upon availability of stimulus cues and relevance of response cues. *The Quarterly Journal of Experimental Psychology. B, Comparative and Physiological Psychology*, 40(3), 243-258.
- Morimoto, M., Morita, N., Ozawa, H., Yokoyama, K., & Kawata, M. (1996). Distribution of glucocorticoid receptor immunoreactivity and mRNA in the rat brain: An immunohistochemical and in situ hybridization study. *Neuroscience Research*, 26(3), 235-269.
- Morsink, M. C., Steenbergen, P. J., Vos, J. B., Karst, H., Joels, M., De Kloet, E. R., & Datson, N. A. (2006). Acute activation of hippocampal glucocorticoid receptors results in different waves of gene expression throughout time. *Journal of Neuroendocrinology*, 18(4), 239-252.
- Nakabayashi, H., Koyama, Y., Sakai, M., Li, H. M., Wong, N. C., & Nishi, S. (2001). Glucocorticoid stimulates primate but inhibits rodent alpha-fetoprotein gene promoter. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 287(1), 160-172.
- Nakajima, S. (1975). Amnesic effect of cycloheximide in the mouse mediated by adrenocortical hormones. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 88(1), 378-385.
- Nakajima, S. (1976). Cycloheximide: Mechanisms of its amnesic effects. In W. B. Essman & L. Valzelli (Eds.), *Current developments in psychopharmacology* (pp. 26-53). New York: Spectrum.

- Necela, B. M., & Cidlowski, J. A. (2003). Crystallization of the human glucocorticoid receptor ligand binding domain: a step towards selective glucocorticoids. *Trends in Pharmacological Sciences*, 24(2), 58-61.
- Nicola, S. M. (2007). The nucleus accumbens as part of a basal ganglia action selection circuit. *Psychopharmacology (Berl)*, 191(3), 521-550.
- Ninomiya, J. G. (1991). *Fisiología humana: Neurofisiología*. México: Manual Moderno.
- Oitzl, M. S., & de Kloet, E. R. (1992). Selective corticosteroid antagonists modulate specific aspects of spatial orientation learning. *Behavioral Neuroscience*, 106(1), 62-71.
- Olson, K. L., Marc, D. T., Grude, L. A., McManus, C. J., & Kellermann, G. H. (2011). The Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis: The Actions of the Central Nervous System and Potential Biomarkers En R. Klatz & R. Goldman (Eds.), *Anti-Aging Therapeutics Volume XIII* (pp. 91-100). Chicago, IL USA: American Academy of Anti-Aging Medicine.
- Packard, M. G., & Gabriele, A. (2009). Peripheral anxiogenic drug injections differentially affect cognitive and habit memory: role of basolateral amygdala. *Neuroscience*, 164(2), 457-462.
- Packard, M. G., & Knowlton, B. J. (2002). Learning and memory functions of the basal ganglia. *Annual Review of Neuroscience*, 25, 563-593.
- Packard, M. G., & McGaugh, J. L. (1992). Double dissociation of fornix and caudate nucleus lesions on acquisition of two water maze tasks: Further evidence for multiple memory systems. *Behavioral Neuroscience*, 106(3), 439-446.
- Packard, M. G., & Teather, L. A. (1998). Amygdala modulation of multiple memory systems: Hippocampus and caudate-putamen. *Neurobiology of Learning and Memory*, 69(2), 163-203.
- Parent, M. B., Tomaz, C., & McGaugh, J. L. (1992). Increased training in an aversively motivated task attenuates the memory-impairing effects of posttraining N-methyl-D-aspartate-induced amygdala lesions. *Behavioral Neuroscience*, 106(5), 789-797.
- Paxinos, G., & Watson, C. (2005). *The rat brain in stereotaxic coordinates* (4th ed.) San Diego: Academic Press.
- Pérez-Fernández, V., Gutiérrez-Dominguez, M., García-García, A., & Gómez-Bujedo, J. (2005). *Procesos psicológicos básicos. Un análisis funcional*. Madrid: PEARSON EDUCACIÓN.
- Pitkanen, A., Savander, V., & LeDoux, J. E. (1997). Organization of intra-amygdaloid circuitries in the rat: an emerging framework for understanding functions of the amygdala. *Trends in Neurosciences*, 20(11), 517-523.
- Ploeger, G. E., Spruijt, B. M., & Cools, A. R. (1994). Spatial localization in the Morris water maze in rats: Acquisition is affected by intra-accumbens injections of the dopaminergic antagonist haloperidol. *Behavioral Neuroscience*, 108(5), 927-934.
- Pocuca, N., Ruzdijic, S., Demonacos, C., Kanazir, D., & Krstic-Demonacos, M. (1998). Using yeast to study glucocorticoid receptor phosphorylation. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 66(5-6), 303-318.
- Poldrack, R. A., Clark, J., Pare-Blagojev, E. J., Shohamy, D., Crespo Moyano, J., Myers, C., & Gluck, M. A. (2001). Interactive memory systems in the human brain. *Nature*, 414(6863), 546-550.

- Popoli, M., Yan, Z., McEwen, B. S., & Sanacora, G. (2012). The stressed synapse: the impact of stress and glucocorticoids on glutamate transmission. *Nature Reviews Neuroscience*, 13(1), 22-37.
- Prado-Alcalá, R. A. (1985). Is cholinergic activity of the caudate nucleus involved in memory? *Life Sciences*, 37(23), 2135-2142.
- Prado-Alcalá, R. A., Cobos-Zapíaín, G., Salado-Castillo, R., Quiroz Molina, C. R., Garin-Aguilar, M. E., Díaz, A., . . . Quirarte, G. (2006). El aprendizaje incrementado protege a la memoria contra tratamientos amnésicos. *Revista Mexicana de Análisis de la Conducta*, 32, 203-218.
- Prado-Alcalá, R. A., Solana-Figueroa, R., Galindo, L. E., Medina, A. C., & Quirarte, G. L. (2003). Blockade of striatal 5-HT₂ receptors produces retrograde amnesia in rats. *Life Sciences*, 74(4), 481-488.
- Pugh, C. R., Fleshner, M., & Rudy, J. W. (1997). Type II glucocorticoid receptor antagonists impair contextual but not auditory-cue fear conditioning in juvenile rats. *Neurobiology of Learning and Memory*, 67(1), 75-79.
- Quirarte, G. L., Cruz-Morales, S. E., Díaz del Guante, M. A., García, M., & Prado-Alcalá, R. A. (1993). Protective effect of under-reinforcement of passive avoidance against scopolamine-induced amnesia. *Brain Research Bulletin*, 32(5), 521-524.
- Quirarte, G. L., de la Teja, I. S., Casillas, M., Serafín, N., Prado-Alcalá, R. A., & Roozendaal, B. (2009). Corticosterone infused into the dorsal striatum selectively enhances memory consolidation of cued water-maze training. *Learning & Memory* 16(10), 586-589.
- Quirarte, G. L., & Prado-Alcalá, R. A. (2004). Efecto terapéutico de la experiencia incrementada: protección contra la amnesia experimental. *International Journal of Clinical and Health Psychology*, 4(1), 161-172.
- Quiroz, C., Martínez, I., Quirarte, G. L., Morales, T., Díaz-Cintra, S., & Prado-Alcalá, R. A. (2003). Enhanced inhibitory avoidance learning prevents the memory-impairing effects of post-training hippocampal inactivation. *Experimental Brain Research*, 153(3), 400-402.
- Redolar-Ripoll, D. (2012). Consolidación de la Memoria y Sustrato Nervioso del Refuerzo. *Revista Argentina de Ciencias del Comportamiento*, 4, 51-74.
- Reul, J. M. (2014). Making Memories of Stressful Events: A Journey Along Epigenetic, Gene Transcription, and Signaling Pathways. *Frontiers in Psychiatry*, 5, 5.
- Reznikov, L. R., Grillo, C. A., Piroli, G. G., Pasumarthi, R. K., Reagan, L. P., & Fadel, J. (2007). Acute stress-mediated increases in extracellular glutamate levels in the rat amygdala: differential effects of antidepressant treatment. *The European Journal of Neuroscience*, 25(10), 3109-3114.
- Rogatsky, I., Waase, C. L., & Garabedian, M. J. (1998). Phosphorylation and inhibition of rat glucocorticoid receptor transcriptional activation by glycogen synthase kinase-3 (GSK-3). Species-specific differences between human and rat glucocorticoid receptor signaling as revealed through GSK-3 phosphorylation. *The Journal of Biological Chemistry*, 273(23), 14315-14321.
- Rogatsky, I., Wang, J. C., Derynck, M. K., Nonaka, D. F., Khodabakhsh, D. B., Haqq, C. M., . . . Yamamoto, K. R. (2003). Target-specific utilization of transcriptional regulatory surfaces by the glucocorticoid receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(24), 13845-13850.

- Roozendaal, B. (2000). Glucocorticoids and the regulation of memory consolidation. *Psychoneuroendocrinology*, 25(3), 213-238.
- Roozendaal, B., Bohus, B., & McGaugh, J. L. (1996). Dose-dependent suppression of adrenocortical activity with metyrapone: Effects on emotion and memory. *Psychoneuroendocrinology*, 21(8), 681-693.
- Roozendaal, B., Hui, G. K., Hui, I. R., Berlau, D. J., McGaugh, J. L., & Weinberger, N. M. (2006). Basolateral amygdala noradrenergic activity mediates corticosterone-induced enhancement of auditory fear conditioning. *Neurobiology of Learning and Memory*, 86(3), 249-255.
- Roozendaal, B., & McGaugh, J. L. (1997). Glucocorticoid receptor agonist and antagonist administration into the basolateral but not central amygdala modulates memory storage. *Neurobiology of Learning and Memory*, 67(2), 176-179.
- Roozendaal, B., & McGaugh, J. L. (2011). Memory modulation. *Behavioral Neuroscience*, 125(6), 797-824.
- Roullet, P., Sargolini, F., Oliverio, A., & Mele, A. (2001). NMDA and AMPA antagonist infusions into the ventral striatum impair different steps of spatial information processing in a nonassociative task in mice. *The Journal of Neuroscience*, 21(6), 2143-2149.
- Rye, B. D., Turner, R. S., Vitek, J. L., Bakay, R. A. E., Crutcher, M. D., & DeLong, M. R. (1996). Anatomical investigations of the pallidotegmental pathway in monkey and men. En C. Ohye, M. Kimura & J. S. McKenzie (Eds.), *The Basal Ganglia V* (pp. 59-77). New York: SPRINGER SCIENCE+BUSINESS MEDIA, LLC
- Salado-Castillo, R., Sanchez-Alavez, M., Quirarte, G. L., Martinez Garcia, M. I., & Prado-Alcala, R. A. (2011). Enhanced training protects memory against amnesia produced by concurrent inactivation of amygdala and striatum, amygdala and substantia nigra, or striatum and substantia nigra. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 5, 83.
- Sanchez-Resendis, O., Medina, A. C., Serafin, N., Prado-Alcala, R. A., Roozendaal, B., & Quirarte, G. L. (2012). Glucocorticoid-cholinergic interactions in the dorsal striatum in memory consolidation of inhibitory avoidance training. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 6, 33.
- Sandi, C. (2003). Implicacion de los glucocorticoides en la consolidacion de la memoria. *Revista de Neurologia*, 37(9), 843-848.
- Sandi, C. (2004). Stress, cognitive impairment and cell adhesion molecules. *Nature Reviews Neuroscience*, 5(12), 917-930.
- Sandi, C., Loscertales, M., & Guaza, C. (1997). Experience-dependent facilitating effect of corticosterone on spatial memory formation in the water maze. *European Journal of Neuroscience*, 9(4), 637-642.
- Sandi, C., & Pinelo-Nava, M. T. (2007). Stress and memory: Behavioral effects and neurobiological mechanisms. *Neural Plasticity*, 2007, 1-20.
- Schacter, D. L., & Tulving, E. (1994). Priming and multiple memory systems: Perceptual mechanisms of implicit memory. En D. L. Schacter & E. Tulving (Eds.), *Memory systems*: Massachusetts Institute of Technology.
- Schroeder, J. P., Wingard, J. C., & Packard, M. G. (2002). Post-training reversible inactivation of hippocampus reveals interference between memory systems. *Hippocampus*, 12(2), 280-284.
- Schultz, W. (2007). Behavioral dopamine signals. *Trends in Neurosciences*, 30(5), 203-210.

- Schwabe, L. (2013). Stress and the engagement of multiple memory systems: Integration of animal and human studies. *Hippocampus*, 23(11), 1035-1043.
- Skinner, B. F. (1938). *The behavior of organisms: An experimental analysis*. New York: Appleton-Century
- Smith, Y., Bevan, M. D., Shink, E., & Bolam, J. P. (1998). Microcircuitry of the direct and indirect pathways of the basal ganglia. *Neuroscience*, 86(2), 353-387.
- Solana-Figueroa, R., Salado-Castillo, R., Quirarte, G. L., Galindo, L. E., & Prado-Alcalá, R. A. (2002). Enhanced inhibitory avoidance training protects against the amnesic effect of p-chloroamphetamine. *Life Sciences*, 71(4), 391-399.
- Squire, L. R. (1987). *Memory and brain*. New York: Oxford University Press.
- Squire, L. R. (2004). Memory systems of the brain: A brief history and current perspective. *Neurobiology of Learning and Memory*, 82(3), 171-177.
- Squire, L. R., & Alvarez, P. (1995). Retrograde amnesia and memory consolidation: A neurobiological perspective. *Current Opinion in Neurobiology*, 5(2), 169-177.
- Squire, L. R., & Knowlton, B. J. (1995). The organization of memory. En H. Morowitz & J. Singer (Eds.), *The Mind, the Brain, and Complex Adaptive Systems* (pp. 63-97). Reading, MA: Addison-Wesley.
- Tan, H. Y., Chen, Q., Sust, S., Buckholtz, J. W., Meyers, J. D., Egan, M. F., . . . Callicott, J. H. (2007). Epistasis between catechol-O-methyltransferase and type II metabotropic glutamate receptor 3 genes on working memory brain function. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(30), 12536-12541.
- Tepper, J. M., & Bolam, J. P. (2004). Functional diversity and specificity of neostriatal interneurons. *Current Opinion in Neurobiology*, 14(6), 685-692.
- Thorndike, E. L. (1932). *The fundamentals of learning*. New York: Teachers College. Columbia University.
- Tsai, L. H., Delalle, I., Caviness, V. S., Jr., Chae, T., & Harlow, E. (1994). p35 is a neural-specific regulatory subunit of cyclin-dependent kinase 5. *Nature*, 371(6496), 419-423.
- Venero, C., & Borrell, J. (1999). Rapid glucocorticoid effects on excitatory amino acid levels in the hippocampus: a microdialysis study in freely moving rats. *The European Journal of Neuroscience*, 11(7), 2465-2473.
- Voermans, N. C., Petersson, K. M., Daudey, L., Weber, B., van Spaendonck, K. P., Kremer, H. P. H., & Fernandez, G. (2004). Interaction between the human hippocampus and the caudate nucleus during route recognition. *Neuron*, 43(3), 427-435.
- Voorn, P., Vanderschuren, L., Groenewegen, H. J., Robbins, T. W., & Pennartz, C. M. A. (2004). Putting a spin on the dorsal-ventral divide of the striatum. *Trends in Neurosciences*, 27(8), 468-474.
- Wang, Z., Chen, W., Kono, E., Dang, T., & Garabedian, M. J. (2007). Modulation of glucocorticoid receptor phosphorylation and transcriptional activity by a C-terminal-associated protein phosphatase. *Molecular Endocrinology*, 21(3), 625-634.
- Wang, Z., Frederick, J., & Garabedian, M. J. (2002). Deciphering the phosphorylation "code" of the glucocorticoid receptor in vivo. *The Journal of Biological Chemistry*, 277(29), 26573-26580.

- White, N. M. (1989). A functional hypothesis concerning the striatal matrix and patches: mediation of S-R memory and reward. *Life Sciences*, 45(21), 1943-1957.
- White, N. M., & McDonald, R. J. (2002). Multiple parallel memory systems in the brain of the rat. *Neurobiology of Learning and Memory*, 77(2), 125-184.
- Wiegert, O., Joëls, M., & Krugers, H. (2006). Timing is essential for rapid effects of corticosterone on synaptic potentiation in the mouse hippocampus. *Learning & Memory* 13(2), 110-113.
- Wingard, J. C., & Packard, M. G. (2008). The amygdala and emotional modulation of competition between cognitive and habit memory. *Behavioural Brain Research*, 193(1), 126-131.
- Yamamoto, K. R. (1985). Steroid receptor regulated transcription of specific genes and gene networks. *Annual Review of Genetics*, 19, 209-252.
- Yin, H. H., & Knowlton, B. J. (2004). Contributions of striatal subregions to place and response learning. *Learning & Memory*, 11(4), 459-463.
- Yin, H. H., Knowlton, B. J., & Balleine, B. W. (2004). Lesions of dorsolateral striatum preserve outcome expectancy but disrupt habit formation in instrumental learning. *The European Journal of Neuroscience*, 19(1), 181-189.
- Yin, H. H., Knowlton, B. J., & Balleine, B. W. (2005). Blockade of NMDA receptors in the dorsomedial striatum prevents action-outcome learning in instrumental conditioning. *The European Journal of Neuroscience*, 22(2), 505-512.
- Zhou, F. M., Wilson, C. J., & Dani, J. A. (2002). Cholinergic interneuron characteristics and nicotinic properties in the striatum. *Journal of Neurobiology*, 53(4), 590-605.
- Zorawski, M., & Killcross, S. (2002). Posttraining glucocorticoid receptor agonist enhances memory in appetitive and aversive Pavlovian discrete-cue conditioning paradigms. *Neurobiology of Learning and Memory*, 78(2), 458-464.

10. Índice de Tablas y Figuras

Tabla 1. Diseño experimental de grupos independientes.....	31
Figura 1. Clasificación de los sistemas múltiples de memoria. Modificado de Squire y Zola-Morgan (1991).....	5
Figura 2. Etapas de la memoria. Modificado de Dudai (2004).....	6
Figura 3. Resultados obtenidos por Durán-Arévalo y colaboradores (1990).....	8
Figura 4. Resultados obtenidos por Solana-Figueroa y colaboradores (2002)...	9
Figura 5. Resultados obtenidos por Salado-Castillo y colaboradores (2011).....	10
Figura 6. Esquematización del estriado (caudado-putamen). Modificado de Kreitzer (2009).....	11
Figura 7. Resultados obtenidos por Sánchez-Reséndis y colaboradores (2012).....	17
Figura 8. Representación del eje hipotálamo-pituitaria-adrenal en rata. Modificado de Jöels y colaboradores (2006).....	18
Figura 9. Proceso de activación del receptor a glucocorticoides (GR). Modificado de Kumar & Calhoun (2008).....	21
Figura 10. Sitios de fosforilación del GR. Modificado de Galliher- Beckley & Cidlowski (2009).....	23
Figura 11. Cámara de evitación inhibitoria y estimulador de pulsos cuadrados...	27
Figura 12. Desarrollo temporal del experimento.....	32
Figura 13. Desarrollo temporal de la prueba de retención de la tarea de evitación inhibitoria.....	32

Figura 14. Latencias de entrada en la tarea de evitación inhibitoria.....	33
Figura 15. Latencias de escape en la tarea de evitación inhibitoria.....	34
Figura 16. Latencias de retención de la tarea de evitación inhibitoria.....	35
Figura 17. Microfotografía del estriado (caudado-putamen) y resultados histológicos para el número de células positivas al receptor a glucocorticoides fosforilado en la serina 211.....	36
Figura 18. Resultados histológicos para la subregión dorsal del caudado-putamen.....	37
Figura 19. Resultados histológicos para la subregión ventral del caudado-putamen.....	38
Figura 20. Interacción de los sistemas de memoria durante el estrés. Modificado de Schwabe (2013).....	44
Figura 21. Alteración de la actividad transcripcional del GR por acción de la proteína kinasa Cdk5. Modificado de Chrousos & Kino (2009).....	49