



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO  
FACULTAD DE PSICOLOGÍA  
ÁREA EDUCATIVA



EFFECTO DEL ENTRENAMIENTO MODERADO E  
INCREMENTADO SOBRE LA FOSFORILACIÓN DE CREB  
GLIAL DEL HIPOCAMPO DORSAL

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de  
Licenciada en Psicología Educativa

Presenta:

Eurídice Deyanira Rangel Martínez

Dirigida por:

Dra. Andrea Cristina Medina Fragoso

**SINODALES**

Dra. Andrea Cristina Medina Fragoso  
Presidente

\_\_\_\_\_  
Firma

Dra. Cintli Carolina Carbajal Valenzuela  
Sinodal

\_\_\_\_\_  
Firma

M. en C. Melissa Calderón Carrillo  
Sinodal

\_\_\_\_\_  
Firma

M. en C. Fabiola García Martínez  
Sinodal

\_\_\_\_\_  
Firma

Dra. Paola Cristina Bello Medina  
Sinodal externo

\_\_\_\_\_  
Firma

\_\_\_\_\_  
Dr. Rolando Javier Salinas García  
Director de la Facultad

## RESUMEN

El aprendizaje es la manera que tienen los sujetos de adquirir información del medio que los rodea y la memoria es la capacidad de recuperar esa información y aplicarla a una necesidad específica. De esta manera son procesos que se encuentran interrelacionados. Se sabe que el hipocampo es una estructura importante para la consolidación de la memoria y una tarea muy utilizada para su estudio es la tarea de evitación inhibitoria (EI). Existe evidencia en las neuronas que la proteína de unión al elemento de respuesta al AMPc fosforilada en la serina 133 (pCREB), que indica el inicio de actividad genómica, participa en la consolidación de la memoria. El objetivo de la presente tesis fue determinar si existen diferencias en la proporción de núcleos gliales pCREB positivos en el giro dentado del hipocampo de ratas, bajo un entrenamiento moderado o incrementado. Grupos independientes de ratas fueron entrenados en la tarea de evitación inhibitoria usando un estímulo de 0.0, 1.0, ó 3.0 mA. También se incluyó un grupo intacto (bioterio) y otro que sólo recibió el choque eléctrico. Una hora después del entrenamiento se extrajeron los cerebros y se sometieron a un tratamiento de inmunohistoquímica. Los resultados mostraron que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en la proporción de núcleos gliales positivos a pCREB entre las condiciones experimentales; sin embargo, se observa que la actividad basal de la pCREB es menor en comparación del resto de las condiciones experimentales, lo cual permite proponer que la actividad genómica de las glías en el giro dentado responde ante el contexto y el contenido emocional generado por la tarea.

**Palabras clave:** Aprendizaje, Memoria, Glía, Giro dentado, pCREB.

## SUMMARY

Learning is the process whereby people obtain information from their experiences and memory is the ability to retrieve that information and apply it to a specific need. In this sense both processes are interrelated. It is known that the hippocampus is an important structure for memory consolidation and a task used for its study is the inhibitory avoidance task (IA). There is evidence about the phosphorylation of cAMP response element-binding (pCREB) in neurons that has been targeted as an indicator of gene transcriptional activity and that it participates in memory consolidation. The aim of this study was to determine if there were differences in the proportion of glial nuclei with positive pCREB in the dentate gyrus of the hippocampus of rats, under moderate or increased training. Independent groups of rats were trained in the task of inhibitory avoidance using a stimulus of 0.0, 1.0, or 3.0 mA. An intact group (bioterium) and another that only received higher foot-shock were also included. These rats were sacrificed 1 h after training; pCREB detection was made with immunohistochemistry. We did not find differences in the proportion of glial nuclei positive to pCREB between experimental conditions; however, it is observed that the basal activity of the pCREB is lower compared to the rest of the experimental conditions, which allows us to propose that the genomic activity of the glial cells in the dentate gyrus responds to the context and emotional content produced by the task.

**(Key words:** Learning, memory, glia cells, hippocampus, pCREB)

## AGRADECIMIENTOS

Al Instituto de Neurobiología, Campus Juriquilla, de la Universidad Nacional Autónoma de México, por haberme permitido realizar esta tesis haciendo uso de su infraestructura.

Especialmente, agradezco a los titulares de los grupos de investigación del laboratorio B-04 del instituto de Neurobiología, el Dr. Roberto Agustín Prado Alcalá y la Dra. Gina Lorena Quirarte, por abrirme las puertas para la realización de esta investigación.

De igual manera, mi agradecimiento es con la Dra. Andrea Cristina Medina Frágoso y con la Dra. Paola Cristina Bello Medina por dirigir el trabajo experimental y proporcionarme los recursos intelectuales y motivacionales, por todas sus atenciones.

Agradezco a la M. V. Z. Norma Serafín López por su ayuda en la compra y disposición del material de laboratorio.

A la Sra. Bertha Islas y al Sr. Bernardino, por el apoyo brindado en el cuidado de los animales requeridos.

A la Ing. Elsa Nidya Hernández de la Unidad de Microscopía por el espacio y apoyo brindado en la realización de los experimentos.

Al M. V. Z. José Martín García Servín y a la Dra. Alejandra Castilla del Bioterio del Instituto de Neurobiología, por proporcionar los animales requeridos para la realización de los experimentos.

Al Ing. Ramón Martínez Olvera, M. en C. Alberto Lara Rubalcava y al Ing. Omar González Hernández por su apoyo en la Unidad de Cómputo.

Al Dr. Francisco J. Valles Valenzuela y la Lic. Teresa Soledad Medina Malagón por su apoyo en la Biblioteca del Campus Juriquilla.

Al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica, PAPIIT (IN203918) de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico de la Universidad Nacional Autónoma de México, por el apoyo financiero brindado en esta investigación.

## DEDICATORIAS

*“El cultivo de la memoria es tan necesario como el alimento para el cuerpo”.*

*Cicerón*

Esta experiencia ha generado una huella permanente en el camino llamado vida. Y en cuanto a la vida académica, no sólo deja contenidos teóricos y prácticos, deja una huella emocional con nombres, gestos, risas y amistades.

Al paso del tiempo y su devenir se van creando mapas que permiten recordar el andar como organismo, como individuo y como sujeto dentro y fuera de una sociedad. Al volver la mira atrás, puedo identificar los logros de los demás que hacen que hoy pueda construir uno propio, que lleva muchos nombres de raíz, quienes me han heredando una formación intelectual al transmitir sus enseñanzas en un aula, un laboratorio o un pasillo, personas que han permitido un trato cálido y empático.

Este trabajo está dedicado a todos los que estuvieron presentes en el proceso, a los cuales llamo maestros. Especialmente a mi familia que siempre ha tenido palabras de aliento y tiempo para escuchar. Mis padres y hermanos que son ejemplo de trabajo y constancia. A mis amigos, que siempre tienen la forma de crear alegría y compartirla conmigo en tiempos y espacios perfectos. A los profesores de la Facultad de Psicología por extender sus conocimientos y estar abiertos al dialogo permitiendo que la psicología genere nuevas propuestas de conocimiento e intervención en los diferentes contextos. Finalmente, se lo dedico a los investigadores del laboratorio B-04 del Instituto de Neurobiología de la UNAM, quienes son ejemplo de trabajo y constancia.

Todos ellos me han invitado a cuestionar, reflexionar y replantear mis propios paradigmas. Son enseñanzas que podré compartir y entonces diré que he dejado huellas como ellos en mí; además de retribuir a la sociedad de la mejor manera, haciendo honor a mis maestros.

A todos ellos, gracias.

## ÍNDICE

RESUMEN .....	1
AGRADECIMIENTOS.....	3
DEDICATORIAS .....	4
INTRODUCCIÓN.....	7
CAPÍTULO I. FUNDAMENTO TEÓRICO.....	8
I. EL APRENDIZAJE.....	8
II. LA MEMORIA .....	10
III. LA CONSOLIDACIÓN DE LA MEMORIA.....	12
IV. EL GIRO DENTADO: ESTRUCTURA Y CONEXIÓN.....	14
V. LAS CÉLULAS DEL SISTEMA NERVIOSO .....	17
VI. LA CONSOLIDACIÓN DE LA MEMORIA Y pCREB: INVESTIGACIONES PREVIAS.....	20
VII. PARTICIPACIÓN DE LA GLÍA EN LA MEMORIA .....	23
VIII. EVENTOS MOLECULARES DURANTE LA CONSOLIDACIÓN DE LA MEMORIA .....	24
CAPÍTULO II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	26
I. JUSTIFICACIÓN .....	26
II. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	27
III. HIPÓTESIS .....	27
IV. OBJETIVO .....	28
CAPÍTULO III. MÉTODO.....	28
I. ANIMALES.....	28
II. MATERIALES .....	29
III. MANIPULACIÓN.....	29
IV. TAREA DE EVITACIÓN INHIBITORIA (EI).....	30
A. ENTRENAMIENTO .....	30
B. PRUEBA DE RETENCIÓN .....	30
C. SACRIFICIO Y EXTRACCIÓN DEL CEREBRO .....	31
D. CRIOSECCIÓN .....	31
E. INMUNOHISTOQUÍMICA.....	32
F. ADQUISICIÓN Y ANÁLISIS DE IMÁGENES: CUANTIFICACIÓN RELATIVA.....	33
G. CARACTERIZACIÓN DE NÚCLEOS GLIALES .....	35
H. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	35
CAPÍTULO IV. RESULTADOS .....	36

<b>A. CAMBIOS EN LA PROPORCIÓN DE NÚCLEOS GLIALES pCREB POSITIVOS EN EL GIRO DENTADO .....</b>	<b>36</b>
<b>B. CAMBIOS EN LA PROPORCIÓN DE NÚCLEOS GLIALES pCREB POSITIVOS EN LAS REGIONES DEL GIRO DENTADO .....</b>	<b>36</b>
<b>C. CAMBIOS EN LA PROPORCIÓN DE LOS NÚCLEOS GLIALES GRANDES pCREB POSITIVOS DEL GIRO DENTADO .....</b>	<b>37</b>
<b>D. CAMBIOS EN LA PROPORCIÓN DE LOS NÚCLEOS GLIALES GRANDES pCREB POSITIVOS DEL GIRO DENTADO POR REGIÓN .....</b>	<b>38</b>
<b>E. CAMBIOS EN LA PROPORCIÓN DE LOS NÚCLEOS GLIALES PEQUEÑOS pCREB POSITIVOS DEL GIRO .....</b>	<b>38</b>
<b>F. CAMBIOS EN LA PROPORCIÓN DE LOS NÚCLEOS GLIALES PEQUEÑOS pCREB POSITIVOS DEL GIRO DENTADO POR REGIÓN. ....</b>	<b>39</b>
<b>CAPÍTULO V. DISCUSIÓN .....</b>	<b>40</b>
<b>CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES .....</b>	<b>42</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>43</b>

## INTRODUCCIÓN

Diversos son los autores que han estudiado los procesos psicológicos, biológicos y fisiológicos de las diversas facultades mentales y, en particular, el aprendizaje y la memoria. Desde los inicios de la frenología de Gall (1810) con el localizacionismo, hasta los aportes sobre las bases neurobiológicas involucradas en la actualidad.

El aprendizaje y la memoria son dos procesos que difícilmente pueden ser disociados y dentro de los enfoques que los estudian se pueden mencionar el psicológico (conductismo y cognitivismo principalmente), el enfoque neuropsicológico y el neurobiológico; siendo estas áreas fundamentales en el campo de las neurociencias que tienen por objeto el estudio de la conducta, desde la estructura del sistema nervioso hasta su funcionalidad y conectividad.

Hay una gran variedad de mecanismos biológicos que participan en la consolidación de la memoria y se ha propuesto que la activación de los mecanismos involucrados varía dependiendo de la magnitud de la experiencia de aprendizaje. Al respecto, se ha demostrado que ante una experiencia de aprendizaje incrementado la consolidación se lleva a cabo a pesar de la administración de tratamientos amnésicos. Prado-Alcalá y colaboradores (2012), reportaron que hay tratamientos que al ser administrados en el estriado, la amígdala, la sustancia nigra y el hipocampo, producen amnesia ante condiciones de entrenamiento habituales y comúnmente reportadas; pero cuando los animales son sometidos a una condición de aprendizaje incrementado, ya sea por un sobrerreforzamiento o por un sobreentrenamiento, los tratamientos ya no generan amnesia y, entonces, los animales consolidan la información aprendida y recuerdan óptimamente la tarea.

Por otra parte, en años recientes, se ha acrecentado el interés en la participación de las células gliales en el proceso de la formación de la memoria (Gao et al., 2016; López-Hidalgo et al., 2012; Menachem-Zidon et al., 2011; Robin et al., 2018).

# CAPÍTULO I. FUNDAMENTO TEÓRICO

## I. EL APRENDIZAJE

El aprendizaje es el proceso por el cual los seres vivos son capaces de cambiar su conducta después de una experiencia, y está relacionado con otro proceso conocido como memoria, que permite codificar, almacenar y consolidar la información derivada de la experiencia, que posteriormente puede evocarse o recuperarse.

*“El aprendizaje, es el proceso mediante el cual las experiencias modifican nuestro sistema nervioso central, y en consecuencia nuestra conducta”, (Carlson, 2006).* Es un proceso que propicia que se alteren los circuitos y las estructuras neuronales que participan en la percepción, la ejecución, los pensamientos y la planificación, a través de un proceso de plasticidad. La función última del aprendizaje es un cambio en la conducta para el desarrollo y la adaptación al medio en el que se desenvuelve un organismo, siempre y cuando, este cambio no esté dado por fatiga, maduración o enfermedad (Bower y Hilgard, 1989).

Principalmente, se ha dividido al aprendizaje en dos 2 tipos (Kandel, 2016); el asociativo y el no asociativo, los cuales se describen a continuación:

- **Aprendizaje no asociativo:** es el más simple ya que no requiere de una asociación entre estímulos o entre estímulo-respuesta. Dentro de este tipo de aprendizaje se puede mencionar el aprendizaje por habituación y la sensibilización.

El aprendizaje por **habituación** se da por la repetición de un estímulo, con la misma intensidad, que no resulta significativo para el sujeto, y por lo tanto, la respuesta ante ese estímulo disminuye y casi desaparece en su totalidad. Por ejemplo, este aprendizaje se observa en los estudios realizados por Eric Kandel (1976) con la *Aplysia Californica*; un molusco invertebrado que presenta pocas y grandes neuronas, en comparación a un vertebrado. La *Aplysia* tiene un reflejo de retraimiento de sifón al contacto, como una conducta de defensa, que puede ser

modificada (disminuida) por la repetición de la estimulación; sin embargo, con la presentación del estímulo mucho tiempo después puede haber una recuperación espontánea y volver a presentarse el reflejo de defensa (Rudy, 2014).

En el aprendizaje por **sensibilización** la respuesta a un estímulo intenso, o nocivo, incrementa sólo con su presentación; o también aumenta la respuesta con la presentación de un estímulo de diferente intensidad (mayor, generalmente) a la presentada en un inicio (Carlson, 2006). Un ejemplo de este tipo de aprendizaje es el producido por el terremoto de 1985 en los habitantes de la actual Ciudad de México. Ahora un evento de menor magnitud sísmica puede provocar crisis emocionales por la sensibilización de lo experimentado anteriormente.

**Aprendizaje asociativo:** requiere de la asociación entre dos eventos: el estímulo-respuesta o la respuesta-consecuencia. De este tipo de aprendizaje se pueden mencionar dos: el condicionamiento clásico y el condicionamiento operante.

**El condicionamiento clásico** también es llamado pavloviano, gracias al trabajo realizado por Iván Pavlov, a principios del siglo XX. En este aprendizaje, un estímulo no significativo se vuelve significativo por la asociación a otro estímulo. La asociación de un estímulo condicionado (EC) con uno incondicionado (EI) provocan una respuesta condicionada (RC), propia de la especie.

Este aprendizaje es descrito en el experimento de Pavlov con el perro; donde el estímulo incondicionado (alimento) provoca una respuesta incondicionada (RI) (salivar). Al presentarle al perro el sonido de una campana (EC) seguido por alimento (EI), éste saliva (RI). En el momento en que sólo se presente el sonido de la campana (EC) se obtiene la respuesta de salivación, pero ahora se denomina respuesta condicionada (RC). Un ejemplo cotidiano para los niños es escuchar el timbre (EI) que avisa la hora del recreo en la escuela, el cual produce emoción (RI) en los niños. Si ese mismo timbre (EC) suena para otra situación, también producirá emoción (RC).

En el aprendizaje por **condicionamiento operante, o instrumental**, desarrollado principalmente por B. F Skinner (1938), se da la asociación entre una conducta y un estímulo. Cuando se obtiene una respuesta deseada, ésta se conservará por estímulos reforzantes, mientras que una conducta no deseada se perderá con castigos. Podemos observar este aprendizaje con los llamados bonos de productividad o de puntualidad en los empleos. Por ejemplo, cuando un trabajador es constante en la conducta deseada, productividad o puntualidad, se le da un reforzador para esa conducta como un bono económico o algún reconocimiento, y si se pierde esa conducta se da alguna sanción como pérdida de horas de descanso.

## II. LA MEMORIA

La memoria es el proceso por el cual la información almacenada se convierte en conocimiento, para después utilizarlo cuando es necesario. Asimismo, la memoria se considera una función intelectual que tiene relación estructural y funcional con el sistema nervioso central (SNC) (Solís-López-Hernández, 2009). En palabras de Squire (1987) *la memoria es un proceso cognitivo que permite el almacenamiento de información, la cual, puede ser evocada en un tiempo posterior.*

El estudio científico y sistemático de la memoria humana se remonta al año 1885, cuando Hermann Ebbinghaus publicó su trabajo sobre la memoria, donde expuso particularidades sobre ésta y concluyó que la memoria es gradual y limitada.

Por otra parte, en E.U.A., el psicólogo William James (1890), fue el primero en establecer una división de la memoria y consideró a la memoria primaria, como aquella que no desaparecía de la mente y por lo tanto no era evocada. También consideró una memoria secundaria, la cual era relegada de la consciencia, pero que después podía ser evocada (ver Morgado Bernal, 2005).

A partir de estas primeras propuestas, se dividió la memoria por su duración en:

**Memoria de corto plazo (MCP):** aquella que dura minutos y puede durar unas horas; pero finalmente se deshecha.

**Memoria de largo plazo (MLP):** esta puede durar semanas, años y perdurar el resto de la vida.

La clasificación de la memoria de largo plazo, según el contenido (Squire, 1987):

**Memoria declarativa o explícita:** engloba al conocimiento del mundo y los recuerdos de hechos y eventos vividos. Para la memoria declarativa, la conciencia es un papel fundamental en la evocación del contenido mnémico.

**Memoria no declarativa, implícita o procedimental:** engloba a las habilidades y los hábitos motores. En este tipo de memoria, la experiencia de aprendizaje no es consciente, en el sentido estricto de la palabra.

Por otra parte, desde la psicología cognitiva, Endel Tulving (1995) clasificó la memoria explícita (de largo plazo) en:

**Episódica o autobiográfica:** aquella información que se obtiene de la experiencia personal o subjetiva, bajo la conciencia del presente, pasado y futuro.

**Semántica:** a la información que se obtiene de un conocimiento bibliográfico y objetivo.

Para el presente trabajo, será retomada la clasificación de la memoria por su temporalidad (Fig. 1), ya que a partir de ella podemos abordar el estudio de la consolidación de la memoria.

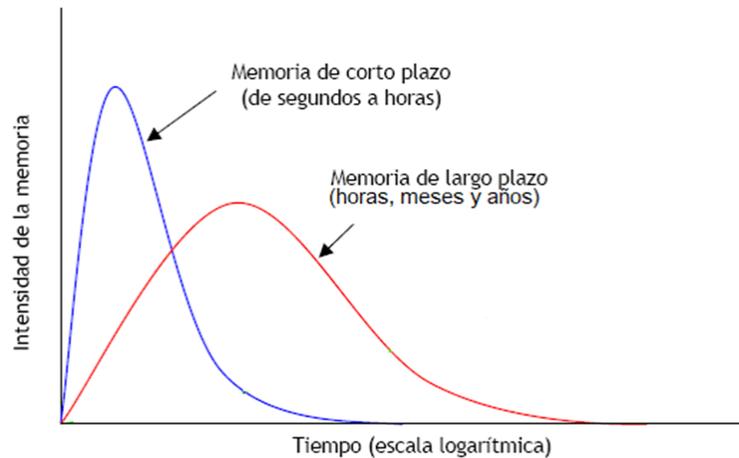


Figura1. Curva de intensidad de memoria, según sea de corto o largo plazo (Modificado de Rudy, 2014).

### III. LA CONSOLIDACIÓN DE LA MEMORIA

Muller y Pilzecker (1900) utilizaron el concepto de *consolidación*, que se refiere a la idea de que la memoria no se da instantáneamente, sino que se desarrolla de manera gradual después de haber iniciado el aprendizaje. La teoría de la consolidación propone que en el paso de la memoria de corto plazo a largo plazo la información se encuentra en un estado lábil, pues se ha identificado que hay interferencias en la memoria poco después de una experiencia de aprendizaje al presentar otro estímulo inmediatamente después (Rudy, 2014). De hecho, la consolidación desde el punto de vista de la biología moderna se basa en la noción de que lo que está almacenado, de acuerdo a elementos neurales y a la conectividad sináptica que representan el almacenamiento de información, cambian gradualmente con el tiempo (Squire, 1987).

Existe una amplia variedad de estudios que demuestran que son diversos los mecanismos que participan en la consolidación de la memoria. Uno de los mecanismos moleculares estudiados es la síntesis de proteínas (Katz y Halstead, 1950). Y con estudios posteriores, mediante la inhibición de síntesis de proteínas,

se propuso que la síntesis de proteínas no es necesaria para la memoria de corto plazo pero sí para la memoria de largo plazo; además de que la síntesis de proteínas corresponderá directamente a la complejidad de la experiencia de aprendizaje a la que se someta el sujeto y los efectos dependerán de la vía de administración del tratamiento (revisar Medina et al., 2008).

Es importante mencionar que, de acuerdo a lo anterior, se ha demostrado que la teoría de la consolidación no es universal ya que, en ciertas condiciones de aprendizaje, la memoria de largo plazo se produce a pesar de interferir durante el periodo de consolidación, con la actividad eléctrica cerebral, con el sistema colinérgico, dopaminérgico, serotoninérgico o GABAérgico, de tal manera que se ha propuesto que las condiciones de entrenamiento incrementado (sobrerreforzamiento o de sobreentrenamiento) protegen a la memoria de los efectos amnésicos de los tratamientos administrados (Prado-Alcalá y Quirarte, 2007).

**El sobreentrenamiento**, hace referencia al entrenamiento que es dado por un número de ensayos o sesiones mayor al que se aplicarían en condiciones normales o cotidianas. **El sobrerreforzamiento** se refiere a la situación de aprendizaje de tipo aversivo en el que implementan choques eléctricos de intensidades relativamente altas.

Una vez que es consolidada la memoria bajo estas condiciones, ésta ya no es vulnerable a otros eventos o tratamientos que produzcan amnesia retrograda (Prado-Alcalá y Quirarte, 2007), por lo que aún queda por generar investigación que nos permita descubrir cuáles son los mecanismos que se desencadenan bajo estas condiciones y que permiten la consolidación de la memoria formando así memorias altamente duraderas.

#### IV. EL GIRO DENTADO: ESTRUCTURA Y CONEXIÓN

Debido a que se sabe que existen distintas estructuras involucradas e interconectadas en la memoria, no es posible hablar de una localización de la memoria. Las investigaciones por Lashley (1950), donde lesionaba la corteza de ratones y monos, obteniendo efectos poco graves en una tarea de aprendizaje, permitieron introducir el término *equipotencialidad*, que se refiere al menor efecto de lesión por el soporte de otra estructura cerebral, pero no la sustitución de la estructura para la función, y concluyó que los efectos de las lesiones son correspondientes al tamaño de la lesión (ver Morgado Bernal, 2005).

De acuerdo a lo anterior sí es posible hablar de estructuras indispensables para la consolidación de la memoria y el procesamiento de la información espacial. Este conjunto de estructuras son denominadas como *formación hipocampal o hipocampo*, las cuales están situadas en el lóbulo temporal medial (en humanos y primates), y forman parte del *sistema límbico* (hipocampo, amígdala, tálamo, hipotálamo y ganglios basales). En roedores, la ubicación anatómica es rostro-caudal hacia el lóbulo temporal (Bello-Medina et al., 2018).

El hipocampo debe su nombre a la forma semejante a un hipocampo marino; y lo constituyen el giro dentado (GD), el hipocampo (dividido en CA1, CA2, CA3 y CA4); el complejo subicular (dividido en subiculum, presubiculum y parasubiculum) y la corteza entorrinal (Bello-Medina et al., 2018) (Fig. 2).

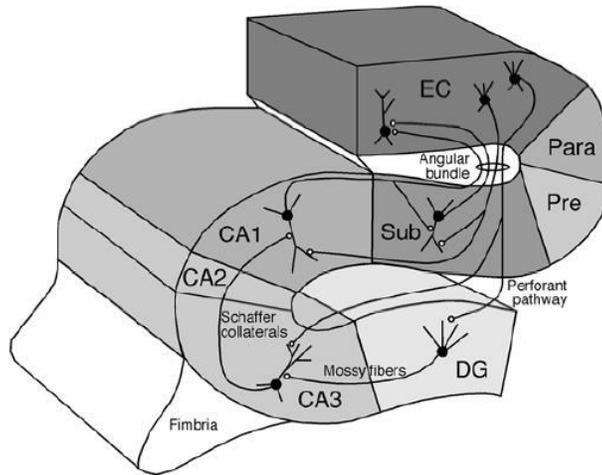


Figura 1. La división de la formación hipocampal: giro dentado (DG), hipocampo (CA1, CA2, CA3), el complejo subicular (sub, pre, para) y la corteza entorrinal (CE). Tomado de Amaral y Lavenex (2007).

El circuito trisináptico del hipocampo posibilita el estudio de las conexiones entre las células de las distintas regiones (Fig. 3). La primera conexión de este circuito está dada por la comunicación de la corteza entorrinal con el giro dentado, mediante las fibras musgosas, a la cual se le llama *vía perforante*. De ahí, la segunda conexión está dada por las fibras musgosas del giro dentado hacia las células piramidales del CA3, y a esta conexión se le llama *de fibras musgosas*; y a la tercera conexión de le denomina de *fibras colaterales de Schaffer*, que va de las neuronas piramidales del CA3 a las neuronas piramidales del CA1, y a su vez el CA1 proyecta a la corteza entorrinal (Rudy, 2014).

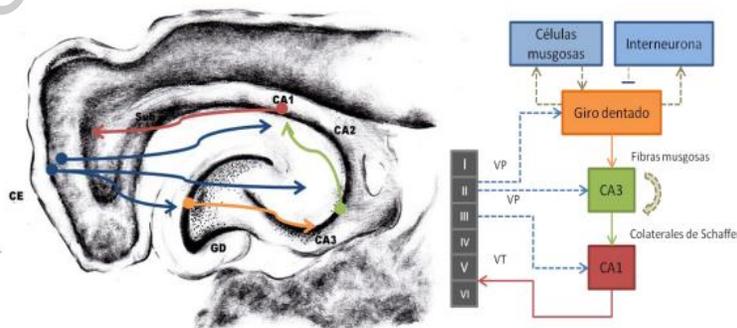


Figura 2. Se muestran el circuito trisináptico del hipocampo, en un cerebro de rata (Olivarez Hernández; 2014 ).

Existen diferencias en la composición celular del hipocampo según sus divisiones. El giro dentado (GD) está compuesto por tres regiones: la banda suprapiramidal (BS), la banda infrapiramidal (BI), las cuales forman un ápice denominado genu. En el giro dentado prevalecen las células granulares, mientras que en CA1, CA2, CA3 y CA4 prevalecen las células piramidales con 3 capas principales: la capa molecular (interneuronas y astrocitos), la capa piramidal (células piramidales) y la capa polimórfica (interneuronas) (ver Garín, 2014).

Para el estudio de la memoria, el famoso caso del paciente Henry Molaison, reportado por Scoville y Milner (1957) fue crucial. Ante situaciones epilépticas que vivía desde niño H.M., se le sometió a una cirugía en la que se le lesionó bilateralmente el lóbulo temporal (hipocampo, núcleo amigdalino y áreas de asociación límbicas) provocándole una amnesia anterógrada y conservando la memoria retrograda; es decir que no podía generar nuevos aprendizajes a largo plazo. Con este caso clínico, se aportó evidencia de que existen áreas necesarias para formar la memoria declarativa (explícita) pues con las evaluaciones que se le realizaron pudieron identificar que la memoria implícita es independiente de las áreas lesionadas (ver Rudy, 2014).

Como ya se describió, la corteza entorrinal y el hipocampo tienen áreas cerebrales interconectadas que soportan funciones cognitivas básicas importantes para la formación y recuperación de memorias declarativas (Kandel, 2016).

En estudios realizados en modelos de rata, se ha demostrado la participación del hipocampo en la integración y consolidación del aprendizaje, así como su participación en memorias espaciales, de rastreo olfatorio y en evitación inhibitoria (ver Garín, 2014).

Por ejemplo, en la investigación realizada por Dávila-Vega (2008) se analizó el efecto de la administración intrahipocampal (ventral) de antagonistas a los receptores nicotínicos ( $\alpha 4\beta 2$  y  $\alpha 7$ ) en los procesos de memoria, después del entrenamiento en la tarea de evitación inhibitoria; ya que se ha descubierto que el deterioro de la memoria tiene relación con la reducción de los receptores nicotínicos

en el hipocampo. Se obtuvo que la nicotina mejoró la retención y evocación de la memoria, y los antagonistas provocaron un deterioro en la memoria (Dávila Vega y cols., 2008) al momento de evocar la tarea.

## V. LAS CÉLULAS DEL SISTEMA NERVIOSO

En el sistema nervioso central existen dos tipos de células: las neuronas y las células gliales o neuroglia. Las neuronas son las células que reciben la información del medio ambiente, la procesan y se comunican entre sí para efectuar una conducta a través de **potenciales de acción** (comunicación eléctrica); por ello, podemos hablar de dos tipos de neuronas, las sensoriales y las motoras.

Las partes principales de la neurona son: el **soma**, como centro metabólico celular, que contiene al **núcleo** que guarda toda la información genética; el **axón** que se desprende del *cono de arranque axónico* y está cubierto de **vainas de mielina** para facilitar la conducción de los impulsos eléctricos, y cada vaina de mielina está separada por los **nodos de Ranvier**; las **dendritas** que reciben en la **sinapsis** a los **botones terminales** de la **neurona presináptica**, y estos botones terminales, liberan neurotransmisores (comunicación química) en el *espacio sináptico* al recibir un potencial de acción.

La proporción glía-neurona aumenta de acuerdo al tamaño del cerebro, por ejemplo, en el cerebro del ratón hay hasta un 65%, mientras que en el cerebro humano, la glía representa más de un 90%; por ello es de gran importancia el estudio de su participación en los procesos psicofisiológicos (Reyes-Haro, 2014).

La **glía, o neuroglía** definida así por Rudolf Virchow en 1856 (del *griego*, unión o pegamento), son las células que mantienen unidas y protegidas a las neuronas, además participan en la formación, operación y modulación de los circuitos sinápticos pero, a diferencia de las neuronas, la glía no produce potenciales de acción. Dentro del término neuroglia se han agrupado distintos tipos de células, con

distinta morfología, origen, fisiología y función (Butt & Verkhratsky, 2007; Verkhratsky & Butt, 2013).

En el sistema nervioso central se encuentran, principalmente, astrocitos, oligodendrocitos y la glía NG2; correspondientes a la macroglía, y la microglia propiamente dicha. La microglia tiene un origen en mesodermo, mientras que la macroglía tiene origen en el ectodermo. Mientras que, en el sistema nervioso periférico se encuentran las células gliales satélite, las células envoltoras olfativas y la glía entérica (Butt & Verkhratsky, 2007; Verkhratsky & Butt, 2013).

La **oligodendroglía**, se divide en oligodendrocitos y células Schwann. Los oligodendrocitos, en el sistema nervioso central (SNC), tienen como principal tarea brindar soporte a los axones al producir las vainas de mielina para facilitar la comunicación eléctrica entre las neuronas; y su cuerpo celular mide 3-5  $\mu\text{m}$ . En el sistema nervioso periférico (SNP), las células de Schwann también producen mielina y brindan el mismo soporte, pero a un axón a la vez. Un déficit en la producción de mielina por los oligodendrocitos o las células de Schwann provoca una desmielinización de los axones y esto produce problemas cognitivos y motores. Estas células tienen su origen en la cresta neural.

La glía **NG2** ha sido poco reportada, pero desde 1980 se identificó, por William Stallcup, como precursora de la oligodendroglía en el desarrollo del SNC, por lo que también se conoce como OPCs (Células Progenitoras de Oligodendrocitos), y además se han sugerido nombres como *sinantocitos* y *polidendrocitos*. Tiene una morfología tipo estrella, con ramificaciones de 50-100  $\mu\text{m}$ , y recibe potenciales de acción de las neuronas en las dendritas y los axones. Se considera que este tipo de glía también puede generar neuronas y astrocitos (Butt & Verkhratsky, 2007; Verkhratsky & Butt, 2013).

La **astroglía** también tiene forma de estrella, descritas por Michael Von Lenhossek en 1981, son las células gliales más frecuentes en el encéfalo y de mayor tamaño, con un soma de 10-20  $\mu\text{m}$  y un núcleo ovoide o esférico; y en el citoesqueleto contienen la proteína glial fibrilar ácida. Se encargan de limpiar los desechos

(fagocitosis) del espacio extracelular y eliminan excesos de neurotransmisores del espacio sináptico, dan energía y sustratos para la neurotransmisión, por lo que su participación en la sinapsis tripartita es muy importante; y hacen posible la barrera hematoencefálica que regula la entrada de sustancias de la sangre al SNC.

Otros tipos de astrogliá son los astrocitos protoplásmicos se encuentran en la sustancia gris, mientras que los astrocitos fibrosos se encuentran en la sustancia blanca. En el cerebelo se encuentra la glía Bergmann y en la retina está la glía Müller.

La **microglía**, son la células de menor tamaño con un diámetro de 2-3  $\mu\text{m}$ , y así como la astrogliá, se encarga de brindar inmunidad al cerebro y accionar defensa en caso de algún daño cerebral o infección fagocitando los desechos, por lo que se conocen como sensores de patología. También tienen la capacidad de migrar y proliferar en todo el SNC.

Del sistema periférico, la **glía satélite**, principalmente, forma parte de los ganglios sensoriales, simpáticos y parasimpáticos, de la raíz dorsal, los cuales inervan órganos internos. Como las células Shwann, la glía satélite deriva de la cresta neural; tiene forma de lámina irregular y se alojan alrededor del cuerpo neuronal y en proximidad al axón formando una vaina. Son consideradas células equivalentes a los astrocitos por mantener la homeostasis en el espacio extracelular en cuanto a neurotransmisores y iones de  $\text{Ca}^{2+}$ , además de que tiene receptores a moléculas involucradas con el origen y permanencia del dolor crónico (Butt & Verkhratsky, 2007; Verkhratsky & Butt, 2013).

La **glía entérica** forma parte del sistema nervioso entérico (autónomo-periférico), específico del aparato digestivo, y tiene su origen en la cresta neural. Son fundamentales para el soporte de neuronas entéricas ya que si no está la glía, la neurona tampoco; y aunque no se conocen los mecanismos, pueden generar funciones de homeostasis y formar una barrera de protección de bacterias intestinales.

La **glía olfatoria envolvente**, envuelve los axones de las neuronas olfativas, o células mitrales, de las cuales el soma se encuentra en la capa mitral y los axones se extienden a la capa piriforme (Butt & Verkhratsky, 2007; Verkhratsky & Butt, 2013) (Fig. 4).

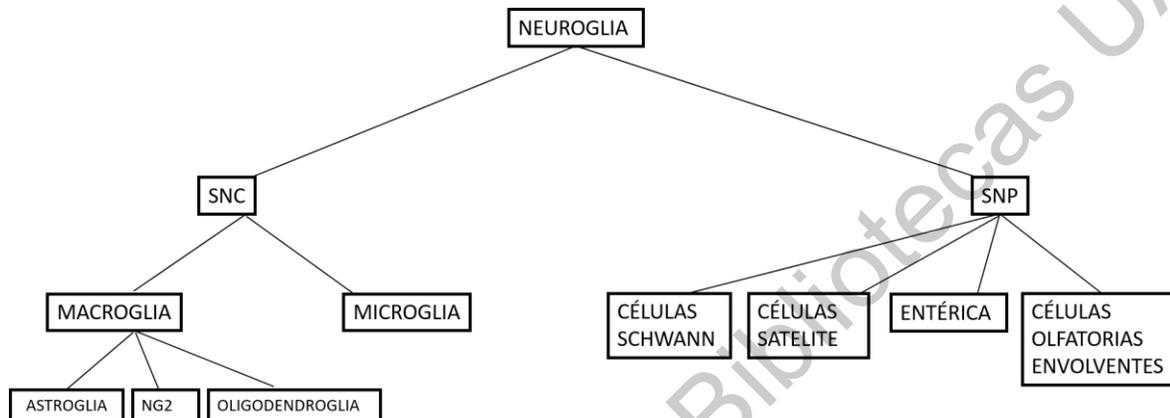


Figura 3. Esquema de la división, general, de los tipos de glía, según correspondan al Sistema Nervioso Central (SNC) o al Sistema Nervioso Periférico (SNP) (Modificado de Rudy, 2014).

## VI. LA CONSOLIDACIÓN DE LA MEMORIA Y pCREB: INVESTIGACIONES PREVIAS

La memoria ha sido estudiada a lo largo de los años, y se sabe que para que la información aprendida sea retenida a largo plazo (días, semanas, meses y años) se requiere de la fase de consolidación. Santiago Ramón y Cajal (1894), quien es considerado el padre de las neurociencias, fue uno de los primeros en proponer que la memoria estaba basada en los cambios anatómicos que se producían al hacer conexión las neuronas.

Hebb (1949) propuso que durante las experiencias de aprendizaje se establecían en el sistema nervioso circuitos reverberantes; lo que quiere decir que si un grupo de neuronas se activan al mismo tiempo y de forma repetitiva, sus conexiones se fortalecen, de manera que cuando el axón de la neurona A está suficientemente cerca de una neurona B y establecen comunicación sináptica, se generarán

cambios estructurales y metabólicos que facilitarán la eficacia de tales sinapsis (ver Kolb & Whishaw, 2006). Muchos experimentos han centrado su atención en la actividad neuronal, demostrando la participación de factores de transcripción en la consolidación de la memoria, como por ejemplo la proteína de unión al elemento de respuesta al adenosín monofosfato cíclico fosforilada en la serina 133 (pCREB) de las neuronas (Alberini & Kandel, 2014; Kandel, 2016) que induce la transcripción y la traducción, produciendo así nuevas proteínas.

En el antecedente inmediato a esta investigación se analizó el cambio en la proporción de núcleos neuronales positivos de pCREB, en el giro dentado del hipocampo dorsal de ratas, como efecto de un entrenamiento moderado e incrementado en la tarea de evitación inhibitoria. Se encontró que el grupo sólo choque, y los grupos entrenados con 1.0 y 3mA fueron diferentes del grupo bioterio (Bio). El grupo entrenado con 3 mA tuvo mayor pCREB que el resto de los grupos. Proponiendo que el incremento en la proporción de núcleos pCREB positivos en las neuronas, que es un indicador de actividad de la vía genómica, podría estar vinculado con modificaciones estructurales reportadas en el GD (O'Malley et al., 1998) luego de una experiencia de aprendizaje, considerando al GD un sitio de entrada de información hacia el resto del las áreas hipocampales que terminarán integrando la información (Guillermo-Montiel, 2018) (Fig. 5).

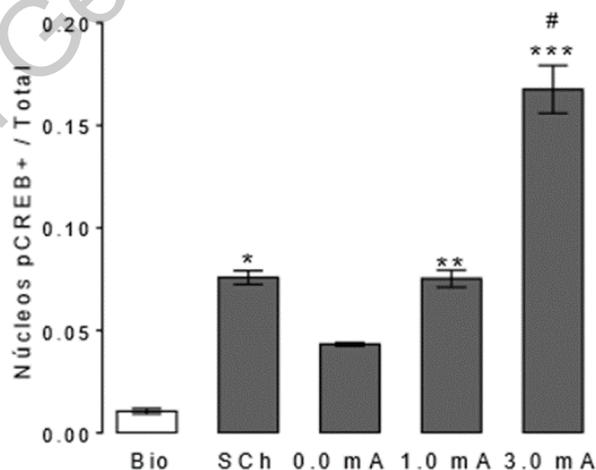


Figura 4. Se muestra la proporción de núcleos positivos pCREB de cada grupo experimental. BIO, grupo que permaneció en el bioterio y Sch, grupos que recibieron sólo choque (Guillermo-Montiel, 2018).

Por otra parte, se muestran resultados de la investigación de Alonso-Lorenzo (2018) donde, después de entrenar las ratas en un la tarea de evitación inhibitoria en un entrenamiento moderado e incrementado, se encontraron diferencias significativas en la cuantificación los núcleos positivos pCREB del estriado respecto a los hemisferios e intensidad de estímulo administrado (Fig. 6).

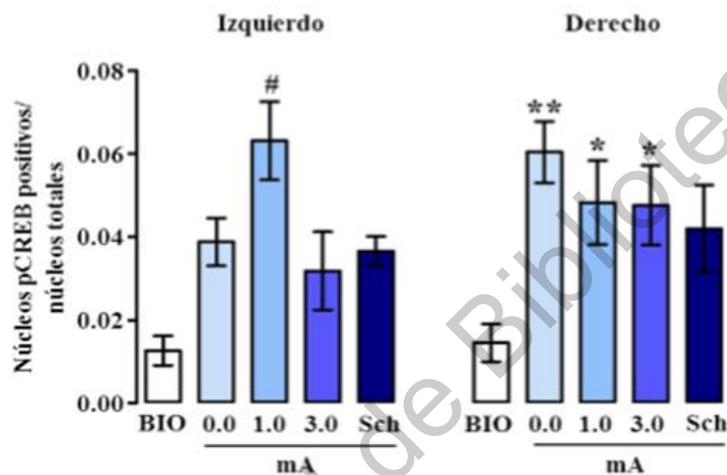


Figura 5. Resultados de la proporción de núcleos pCREB positivos del estriado de ratas, de acuerdo al hemisferio y la condición experimental empleada. BIO, grupo que permaneció en el bioterio y Sch, grupos que recibieron sólo choque (Alonso-Lorenzo, 2018).

También se encontró que hay mayor proporción de pCREB en la región ventral del estriado, en comparación de la región dorsal, independientemente de la intensidad del entrenamiento; y se propuso que la vía genómica no participa en la consolidación de la memoria ante condiciones de aprendizaje incrementado además de que la región ventral responde ante el contexto y la estimulación aversiva (Alonso-Lorenzo, 2018).

## VII. PARTICIPACIÓN DE LA GLÍA EN LA MEMORIA

Los distintos tipos de células gliales son importantes para el proceso de la memoria, ya que parte importante de una tarea de aprendizaje sucede en la interacción con las neuronas, en los procesos histológicos, fisiológicos y metabólicos; por ejemplo, los oligodendrocitos aceleran la conducción por el axón y aumenta el número de potenciales de acción, facilitando el aprendizaje, por medio de la despolarización del potencial de membrana (Yamazaki et al., 2014).

Los astrocitos tienen receptores para glutamato, noradrenalina y cannabinoides (CB1 y CB2); los receptores CB1 se responsabilizan de la adicción al cannabis y del deterioro de la memoria, mientras que la estimulación de los receptores a CB2 en la microglía tiene efectos antiinflamatorios. Los gliotransmisores astrocíticos son sustancias químicas liberadas por las células gliales, modifican la plasticidad sináptica e intervienen en el aprendizaje, aunque la liberación del transmisor es más lenta que en la neurona. Recientemente se le ha dado importancia a la participación de la glía en la memoria, pues se ha descubierto que por su plasticidad puede regular la sinapsis y hacer poda de éstas (Hertz & Chen, 2016a).

Los astrocitos también tienen procesos importantes para el aprendizaje, como la glucogenólisis para la liberación de ATP como un gliotransmisor (Xu et al., 2014) y para la captación de  $K^+$  (Xu et al., 2013). Además, proporciona energía metabólica para la homeostasis de  $Ca^{2+}$  (ver Hertz & Chen, 2016b). La glucogenólisis es necesaria para la consolidación de la memoria, la potenciación de largo plazo (PLP) o actividad reverberante, y la expresión de los genes relacionados con la memoria como el Factor Neurotrófico Derivado del Cerebro (BDNF) o el Factor de liberación de Corticotropina (CRF). En el caso de la inhibición de la glucogenólisis, ésta se puede activar mediante el lactato, que hace que se produzca de los astrocitos mediante los transportadores de monocarboxilato 1 y 4 (MCT), que ingresa a las neuronas a través de MCT2; y viceversa, si se inhibe la expresión de MCT1 y MCT4, se tienen efectos negativos en la memoria por un déficit en el lactato (Hertz & Chen, 2016b).

En otra investigación (Gao et al., 2016), se reportó que los receptores  $\beta$ 2-adrenérgicos astrocíticos hipocampales, localizados más en astrocitos que en las neuronas, participan en la consolidación de la memoria. Administraron intrahipocampalmente en ratas, quince minutos antes del entrenamiento en la tarea de evitación inhibitoria, antagonistas de receptores beta 2 adrenérgicos y se generó deterioro en la memoria medida a las 24 horas y 7 días después del entrenamiento. Mientras que la administración de lactato revirtió el efecto amnésico; como también se muestra en otros experimentos donde se evidenció que los astrocitos regulan la formación de la memoria de largo plazo al proveer lactato a las neuronas (Newman, Korol & Gold, 2011).

Finalmente, se ha reportado que la administración de nicotina en el hipocampo produce un incremento en el potencial de campo evocado en las neuronas de CA1. Para bloquear este efecto se administró fluoroacetato, el cual inhibe selectivamente el metabolismo de la glía; y a su vez la disminución del potencial del campo evocado fue bloqueada por la administración de D-serina; es decir nuevamente incrementó el potencial. Los datos electrofisiológicos coinciden con los datos obtenidos en el entrenamiento de la tarea de evitación inhibitoria. Cabe resaltar que la administración de nicotina produjo facilitación de la memoria, y este efecto nuevamente fue bloqueado por la administración de fluoroacetato; encontrando que dicho deterioro en la facilitación de la memoria fue bloqueado por la administración de D-serina (López-Hidalgo et al., 2012).

Así, los trabajos anteriores dan muestra de la importante participación de las células gliales en los procesos de memoria, de corto y largo plazo, y en cada uno de los procesos inherentes a las funciones de las neuronas.

## VIII. EVENTOS MOLECULARES DURANTE LA CONSOLIDACIÓN DE LA MEMORIA

La plasticidad cerebral está dada por cambios sinápticos y estos son producidos por cascadas de señalización genómica, y se ha considerado a CREB (proteína de unión al elemento de respuesta al AMPc) como necesario para la producción de los genes de la memoria (Izquierdo & Medina, 1997).

Eric Kandel y James H. Schwartz demostraron que la memoria de largo plazo, en la *Aplysia*, podía depender de una cascada genómica y que los cambios sinápticos en la memoria de corto plazo se producen a pesar de que la síntesis proteica estuviese inhibida. En la memoria de largo plazo la estimulación repetida produce un aumento persistente del AMPc (adenosin monofosfato cíclico), lo que significa que la memoria de largo plazo se produce gracias a la aparición de nuevas conexiones sinápticas, la expresión de genes y la síntesis de nuevas proteínas; es decir, de un cambio estructural y funcional del cerebro (Rudy, 2014).

Las cascadas de señalización inician cuando la neurona presináptica libera algún neurotransmisor al espacio extracelular, glutamato por ejemplo, al cual se le denomina primer mensajero; y al unirse a su receptor propicia cambios intracelulares en la neurona postsináptica liberando segundos mensajeros que pueden ser calcio, monofosfatos o trifosfatos. Estos segundos mensajeros pueden añadirse a dos tipos de enzimas: las cinasas y las fosfatasas. En la fosforilación, la cinasa cataliza las proteínas añadiendo grupos fosfatos, y además puede modificar la ubicación de la proteína y su actividad enzimática con otras proteínas. Por su parte las fosfatasas regulan la actividad celular al eliminar fosfatos de las proteínas (Rudy, 2014; Franco & Ortega-Loubon, 2010). Por lo tanto, en el proceso de consolidación de la memoria, se ha puesto énfasis al estudio de los procesos que subyacen a la fosforilación de CREB.

Así, en la investigación de Guillermo-Montiel (2018) se concluye que la proporción de los núcleos positivos se derivan de la asociación que permite el condicionamiento operante, ya que la fosforilación de CREB está fuertemente relacionada al proceso de consolidación de la memoria, puesto que participa en la expresión de genes como: el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), la tiroxina hidroxilasa (TH), receptor a glutamato (GluR1), y el factor de liberación de corticotropina (CRF).

Se sabe que en las células gliales también hay proteína CREB y que funciona como factor de transcripción, incidiendo en la preservación o en la potenciación de las funciones homeostáticas del tejido celular, en la modificación del perfil inflamatorio e influye en las proteínas de la matriz extracelular (Pardo et al., 2016). Carriba y

cols. (2012) demostraron que el ATP y la norepinefrina activaron la transcripción dependiente de CREB en un cultivo de astrocitos corticales, a través de una vía de una proteína cinasa C zeta, atípica (PKM) que es independiente de calcio y de AMPc. La activación de CREB indujo la expresión de BDNF que participa en una remodelación estructural y funcional en las sinapsis. Poco se sabe sobre su participación en los procesos de aprendizaje y memoria.

## CAPÍTULO II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

### I. JUSTIFICACIÓN

El estudio de la neurobiología del aprendizaje y la memoria plantea retos que poco a poco se han ido superando, y al mismo tiempo se plantean nuevas incógnitas. Una de esas incógnitas es sobre los mecanismos que subyacen la consolidación. Se sabe que la consolidación es una etapa central del aprendizaje y que da origen a la memoria de largo plazo pero, a pesar de haber mucha información sobre los mecanismos involucrados, la mayoría se centran en su relación con las neuronas; por lo que aún quedan otros mecanismos e interacciones por descubrir.

Podemos reflexionar que las evidencias experimentales expuestas nos permiten sugerir que hay mecanismos diferenciales que permiten la consolidación de la memoria dependiendo de la experiencia de aprendizaje, de tal manera que ante condiciones habituales de aprendizaje los tratamientos amnésicos producen deterioro en la memoria y ante condiciones de aprendizaje incrementado, los tratamientos amnésicos no producen cambios en la memoria; es decir, los sujetos evocan bien la tarea.

Una de las tareas más utilizadas para su estudio ha sido la tarea de evitación inhibitoria, debido a que el condicionamiento se establece en un ensayo, por la asociación de un estímulo aversivo (choque eléctrico) con los estímulos del contexto, como las características físicas de la cámara de condicionamiento y aquellos que se derivan de la actividad motora inducida por la administración del choque eléctrico (Prado-Alcalá et al., 2007). Este paradigma conductual nos permite ajustar la intensidad del estímulo aversivo y por ende tener sujetos con aprendizaje moderado e incrementado.

Poco se conoce de la participación de las células gliales en la consolidación de la memoria y no se conoce si hay una diferenciación de la actividad glial dependiente de la experiencia de aprendizaje; por lo que en este proyecto nos enfocaremos en el estudio de la proteína CREB fosforilada en serina 133, de las células gliales en el giro dentado, ante un aprendizaje moderado e incrementado.

## II. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Habrá un aumento en la proporción de núcleos gliales pCREB positivos, del giro dentado del hipocampo en el entrenamiento moderado e incrementado en la tarea de EI?

## III. HIPÓTESIS

La experiencia del entrenamiento incrementado, en la tarea de evitación inhibitoria, generará un aumento de la fosforilación de CREB en los núcleos de las células gliales del giro dentado del hipocampo, en comparación con ratas que tuvieron un entrenamiento moderado.

#### IV. OBJETIVO

Determinar si existen diferencias en la proporción de núcleos gliales pCREB positivos en el giro dentado del hipocampo, entre ratas que recibieron un entrenamiento moderado o incrementado, en la tarea de evitación inhibitoria.

### CAPÍTULO III. MÉTODO

Los experimentos fueron realizados de acuerdo a lo establecido por el Comité de Bioética del Instituto de Neurobiología de la UNAM, y la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 (2001), que se refieren al uso y manejo de animales de experimentación, además de la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio del Instituto Nacional de Salud de Estados (National Reseach Council, 2011).

#### I. ANIMALES

Se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar entre 250 a 350 g, obtenidas del bioterio del Instituto de Neurobiología, las cuales fueron asignadas de manera aleatoria a los grupos control y experimentales. Permanecieron en el laboratorio, con alimento y agua *ad libitum*, en cajas habitación de acrílico individuales, a una temperatura de 22 a 24 °C y con un ciclo de luz-oscuridad de 12 horas, iniciando a 7:00 am el encendido de luz. Los experimentos conductuales se llevaron a cabo entre las 8 y 2 pm.

## II. MATERIALES

El entrenamiento se realizó en la cámara de evitación inhibitoria (EI), que se encuentra dentro de un cuarto sonoamortiguado y oscuro con un enmascarador de ruido (BRS/LVE, modelo AU-902). La cámara de EI tiene dos compartimentos de 30cm x 30cm x 30cm cada uno; uno es de seguridad y otro de castigo y están separados por una puerta tipo guillotina. Las paredes del compartimento de seguridad están construidas con acrílico rojo y en el piso se encuentran unas rejillas de acero inoxidable; el compartimento de seguridad está iluminado por un foco de 10W ubicado en la tapa del compartimento.

El compartimento de castigo no está iluminado y en la mitad del su piso hay una ranura de 1.5 cm de ancho que separa dos placas de acero inoxidable en forma de V con una separación de 20 cm en la parte superior y 8 cm de separación en la parte inferior, y éstas forman dos paredes del compartimento, las cuales están conectadas a un estimulador de pulsos cuadrados (Grass Instruments Co., modelo S486G, EEUU), conectado en serie con una unidad de corriente constante (Grass Instruments Co., modelo CCU-1, EEUU); el control de la administración de los choques eléctricos, así como la medición de las distintas latencias se utilizó un equipo automatizado. Antes y después de cada prueba se limpiaron los compartimentos con alcohol al 10%. Los parámetros empleados para el estímulo eléctrico fueron: 100 V, pulsos cuadrados de 50 ms, 10 pulsos por segundo, con una duración de la estimulación de 10 segundos y una intensidad de 1.0 ó 3.0 mA.

## III. MANIPULACIÓN

Previo al entrenamiento, fue necesario manipular a cada rata en una sesión de 5 minutos por 3 días, con el objetivo de habituar a las ratas al manejo del experimentador y disminuir el estrés que les causa la situación. En cada sesión se acarició con ambas manos a la rata sobre una toalla blanca colocada en las piernas del experimentador, haciendo uso de protección con guantes y bata, y al término de cada sesión se regresó a su caja habitación.

## IV. TAREA DE EVITACIÓN INHIBITORIA (EI)

### A. ENTRENAMIENTO

La población total se dividió en tres grupos: uno que recibió un choque eléctrico de 1.0 mA, otro grupo que recibió un choque eléctrico de 3.0 mA, y un tercer grupo que no recibió choque eléctrico. Se trasladó cada rata en su caja habitación al cuarto sonoamortiguado y oscuro, y en seguida se colocó a la rata en el compartimento de seguridad cerrando la tapa; 10 segundos después (cronometrado por el equipo automatizado) se abrió la puerta tipo guillotina. Cuando la rata tuvo las 4 patas dentro del compartimento de castigo, se cerró la puerta y se le dio un choque eléctrico de 1.0 mA, 3.0 mA, o ningún choque durante 10 segundos. Al transcurrir los primero 5 segundos en el compartimento de castigo se abrió la puerta tipo guillotina, permitiéndole a la rata regresar al compartimento de seguridad donde permaneció 30 segundos, para después ser regresada a su caja habitación. Las medidas registradas fueron:

**Latencia de entrada:** tiempo que transcurrió en que la rata pasará del compartimento de seguridad al compartimento de castigo.

**Latencia de escape:** tiempo que transcurrió en que la rata pasará del compartimento de castigo al compartimento de seguridad, durante la administración del choque.

### B. PRUEBA DE RETENCIÓN

La prueba de retención se realizó 24 h después del entrenamiento. En esta prueba se realizó siguiendo el mismo procedimiento que se siguió en el entrenamiento, con la diferencia de que no se administra el choque eléctrico a ninguno de los grupos Si la rata no pasaba del compartimento de seguridad al compartimento de castigo en 600 segundos se daba por terminada la prueba. La medida registrada fue:

**Latencia de retención:** tiempo que tarda la rata en pasar del compartimento de seguridad al compartimento de castigo.

Se incluirá un grupo que se colocará en el compartimento oscuro y recibirá un choque eléctrico de 3.0 mA, la duración fue estimada a partir del promedio del tiempo de choque recibido en el grupo entrenado con la misma intensidad. Inmediatamente se regresará a la rata a su caja habitación.

También, será considerado un grupo de ratas que permaneció en el bioterio del laboratorio, sin ser expuesto a ninguna otra manipulación. Este grupo nos proporcionará la actividad basal de la proteína CREB fosforilada.

#### C. SACRIFICIO Y EXTRACCIÓN DEL CEREBRO

Se extrajeron los cerebros por el método de decapitación, 60 minutos después del entrenamiento, y se congelaron inmediatamente en un recipiente con 2-metilbutano (Sigma-Aldrich), el cual estaba contenido en otro recipiente con alcohol étílico natural al 96 % y hielo seco. Después se almacenaron los cerebros a  $-70^{\circ}\text{C}$ .

#### D. CRIOSECCIÓN

Los cerebros fueron congelados y montados en una matriz de acero inoxidable, y se realizaron cortes coronales para conservar el hipocampo dorsal de ambos hemisferios y obtener rebanadas de 4 mm en el eje antero-posterior con coordenadas de - 3.14 a 4.3 respecto a Bregma; de acuerdo al Atlas de Paxinos y Watson (2007).

Se obtuvieron bloques compuestos por rebanadas de los cerebros de cada condición experimental; que fueron almacenados, de manera aleatoria, en una de las 5 posiciones de un molde de plástico (Electron Microscopy). Después, se administró un crioprotector (OCT Tissue Tek) a los tejidos recolectados, hasta congelarse.

Cada rebanada de tejido cerebral, de cada bloque, se cortó en criostato a 20  $\mu\text{m}$  y a una temperatura entre  $-16^{\circ}\text{C}$  y  $-18^{\circ}\text{C}$ . Las nuevas rebanadas se recolectaron en laminillas silanizadas y almacenadas a  $-70^{\circ}\text{C}$ .

#### E. INMUNOHISTOQUÍMICA

El tejido cerebral se recolectó en 20 laminillas y se fijaron en formalina al 2% (pH 7.4) por 8 minutos. Se realizaron lavados con TBS 1X (pH 7.0) y TSB 1X Tween (TBST). Se bloquearon las señales inespecíficas con una solución TSA (Perkin Elmer), Tritón y suero normalizado de cabra (NGS por sus siglas en inglés, 5 %) por 30 minutos a temperatura ambiente. El anticuerpo primario (Anti-pCREB, Ser 133, Cell Signaling) fue diluido (1:400) en TSA buffer de bloqueo, Tritón y NGS (5 %) y se dejó incubar en las laminillas por 2 horas a temperatura ambiente y después a 4  $^{\circ}\text{C}$  por la noche.

Se volvió a lavar con TBS 1X por 5 minutos. Después, los tejidos se incubaron en una solución de peróxido de hidrógeno (3.3 ml) disuelto en metanol (100 ml), por 20 minutos y en seguida se hizo un lavado con TBS 1X-T.

El segundo anticuerpo biotinilado fue diluido a 1:400 en TSA. Posteriormente, se dejó incubar a temperatura ambiente por 3 h, luego a 4  $^{\circ}\text{C}$  toda la noche. Posteriormente, se realizaron lavados con TBS 1X-T y TBS 1X, para dejar incubar con el kit de amplificación AB (Vector) por 45 minutos. Después de la amplificación con AB, se hicieron otros lavados con TBS 1X-T y TBS 1X. Las laminillas fueron incubadas con DAPI (1:5000; por 45 minutos) para la detección de núcleos celulares. Finalmente se montaron los cubre objetos con Vectashield (Vector).

Cabe resaltar que el proceso inmunohistoquímico reportado anteriormente fue realizado, en primera instancia, para el análisis de la proporción de núcleos neuronales pCREB positivos (Guillermo-Montiel, 2018), previo a lo correspondiente a los núcleos de células gliales.

## F. ADQUISICIÓN Y ANÁLISIS DE IMÁGENES: CUANTIFICACIÓN RELATIVA

Para la obtención de imágenes, se utilizó un microscopio semi-confocal ApoTome (marca Carl Zeiss Imager Z1) con cámara AxiCamMR3. Se ajustaron los parámetros brillo, contraste y saturación de la imagen de acuerdo a las imágenes obtenidas del grupo bioterio, y lograr hacer una comparación de grupos, así como un control de la variabilidad de la señal del marcaje DAPI.

Excitando con fluorescencia el tejido, se realizó la captura de imágenes en profundidad (Z-stacks) con un objetivo de 40x, con 1.3 AN (apertura numérica) y un total de 25 planos ópticos. Después, las imágenes de cada región fueron analizadas con el programa Fiji variante del programa IMAGE-J (licencia libre).

El conteo celular fue realizado basándose en la tinción de núcleos; lo que permitió hacer una clasificación morfológica entre núcleos neuronales y núcleos gliales. Aquellas células que tenían tinción nuclear intensa, uniforme y de tamaño pequeño fueron consideradas glías (Vazdarjanova et al., 2006; González-Franco et al., 2017); mientras que aquellos núcleos celulares con tinción nuclear difusa y de mayor tamaño fueron consideradas neuronas (González-Franco et al., 2017), y no fueron tomadas en cuenta para este estudio (Fig. 7). Cabe señalar que el análisis de imágenes se hizo en ciego.

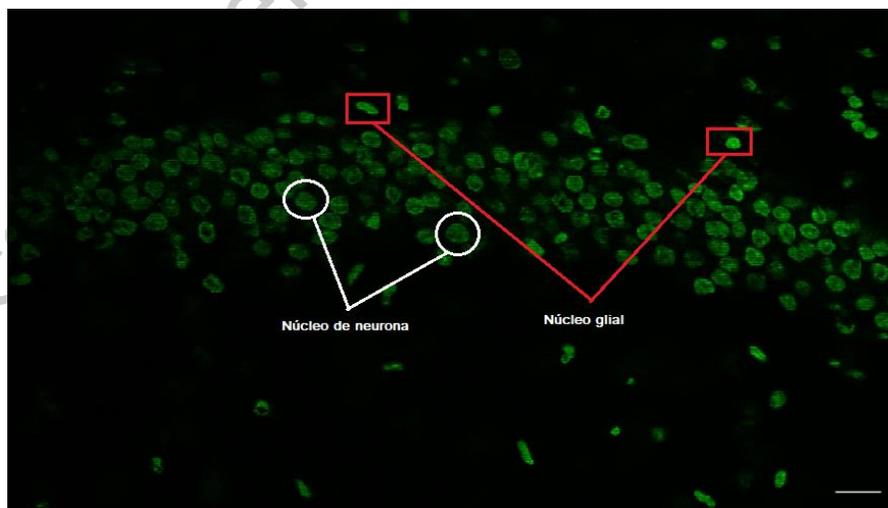


Figura 7. Se muestra la diferenciación entre núcleos de células neuronales (blanco) y núcleos de células gliales (rojo), de una imagen de la banda inferior (BI) del giro dentado (GD) del hemisferio derecho (HD).

A partir del plano medial de cada apilamiento de imágenes en Z, sólo se tomó en cuenta el 60 % de imágenes (30% hacia arriba y 30 % hacia abajo) para observar y contabilizar los núcleos gliales, con la finalidad de no contar núcleos incompletos o que parte de ellos estuvieran en otra laminilla y evitar un conteo doble del mismo núcleo. Al terminar el conteo de los núcleos se hizo el empalme de imágenes (núcleos con DAPI y pCREB), utilizando todos los planos útiles; y se analizaron y contabilizaron aquellos núcleos previamente identificados que se empalmaban con la señal de ambas tinciones. Como criterio de inclusión se tomó en cuenta que la señal de pCREB ocupara más de la mitad del núcleo y que estuviese presente en dos planos como mínimo en la proyección en Z. Aquellos núcleos que cumplieran estos criterios fueron designados como pCREB positivos. La proporción de núcleos pCREB positivos se obtuvo al dividir los núcleos pCREB contabilizados entre el total de núcleos gliales. A continuación se muestra el ejemplo de un núcleo pCREB positivo en comparación a un núcleo pCREB negativo (Fig.8).

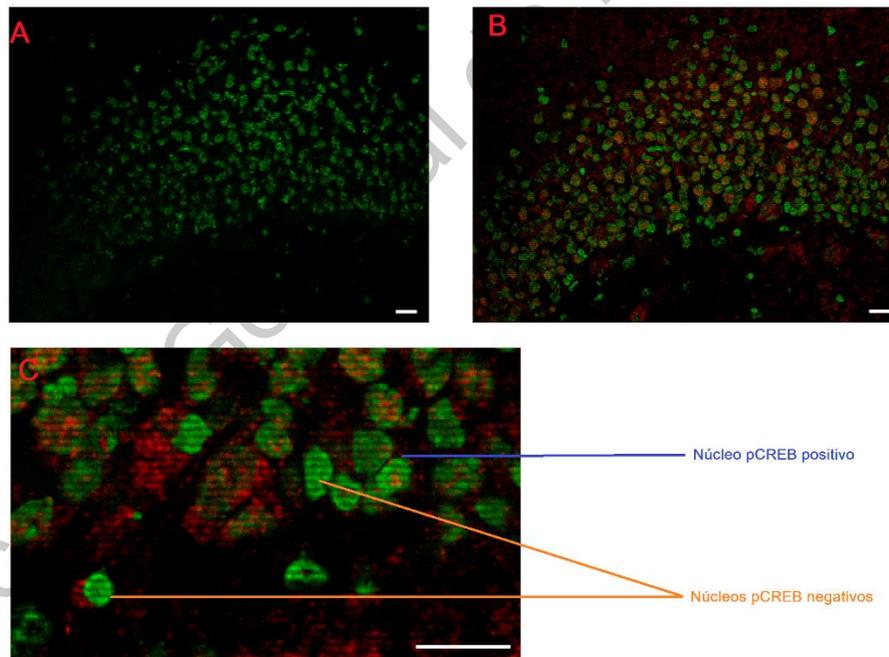


Figura 8. A. Muestra los núcleos marcados con DAPI. B. Muestra la colocalización de los núcleos y la señal pCREB. C. Se diferencia el núcleo de glía considerado positivo respecto a los negativos. La barra blanca muestra la escala de 20  $\mu$ m.

## G. CARACTERIZACIÓN DE NÚCLEOS GLIALES

Debido a las características del proceso inmunohistoquímico realizado para los cortes de cerebros en este trabajo, se han considerado criterios para la clasificación de núcleos gliales, principalmente, en 2 tipos: glía pequeña (GP) y glía grande (GG).

Los núcleos que abarcaban el 40% de la circunferencia limitada por el seleccionador del programa Fiji fueron considerados como glía pequeña, mientras que los que abarcaban más del 40% de la circunferencia se consideraron como glía grande.

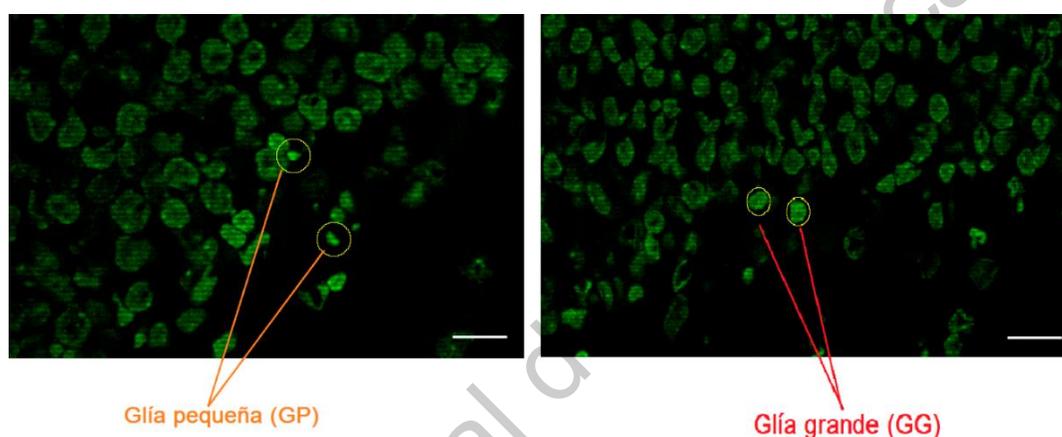


Figura 9. Comparación de núcleos gliales considerados como pequeños (GP) y núcleos gliales considerados como grandes (GG), de una lamilla correspondiente a la Banda suprapiramidal del giro dentado. La barra blanca muestra la escala de 20  $\mu\text{m}$ .

## H. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para determinar diferencias significativas en la expresión de pCREB en los núcleos gliales se utilizó el análisis de varianza de una vía (ANOVA), de la estadística paramétrica, para determinar si existían diferencias significativas entre los grupos experimentales en cuanto a la proporción de núcleos con pCREB positivos, con un nivel de significancia  $p < 0.05$ ; y el test de Bonferroni para comparaciones entre grupos, mediante el programa GraphPad Prism 5, con el cual también se realizó el estudio gráfico. El tamaño de la muestra final fueron 4 ratas por grupo para cada condición experimental.

## CAPÍTULO IV. RESULTADOS

### A. CAMBIOS EN LA PROPORCIÓN DE NÚCLEOS GLIALES pCREB POSITIVOS EN EL GIRO DENTADO

El análisis de varianza de los datos obtenidos por el conteo de núcleos totales no mostró diferencias significativas entre grupos ( $F_{(4,15)} = 1.511$ ,  $P = 0.2490$ ) (Fig. 10).

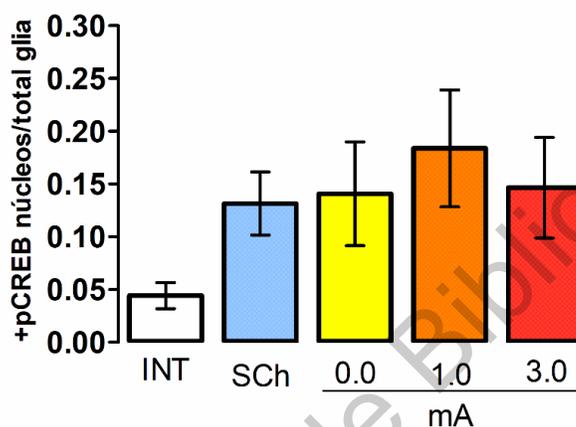


Figura 10. Proporción de núcleos gliales pCREB positivos del giro dentado del hipocampo dorsal de ratas. No hay diferencias entre los grupos. INT, intacto y SCh, sólo choque.

### B. CAMBIOS EN LA PROPORCIÓN DE NÚCLEOS GLIALES pCREB POSITIVOS EN LAS REGIONES DEL GIRO DENTADO

El análisis de varianza de los datos obtenidos por el conteo de núcleos totales en las tres regiones correspondientes al giro dentado no se encontraron diferencias significativas entre los grupos: genu ( $F_{(4,15)} = 1.510$ ,  $P = 0.2493$ ), banda suprapiramidal ( $F_{(4,15)} = 0.9196$ ,  $P = 0.4782$ ) y banda infrapiramidal ( $F_{(4,15)} = 1.808$ ,  $P = 0.1799$ ) (Figura 11).

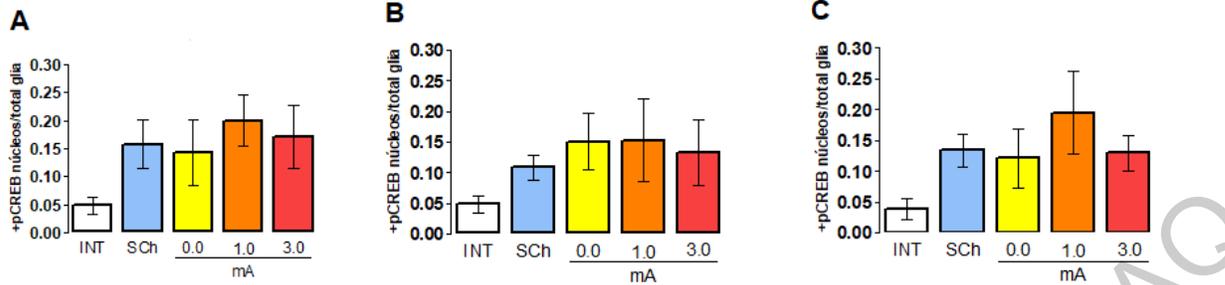


Figura 11. Proporción de núcleos pCREB positivos en cada una de las regiones del giro dentado del hipocampo dorsal de ratas. No hay diferencias entre los grupos. A, genu; B, banda suprapiramidal y C, banda infrapiramidal. INT, intacto y Sch, sólo choque.

### C. CAMBIOS EN LA PROPORCIÓN DE LOS NÚCLEOS GLIALES GRANDES pCREB POSITIVOS DEL GIRO DENTADO

El análisis de varianza de los datos obtenidos por el conteo total de núcleos considerados grandes en el giro dentado totales no mostró diferencias significativas entre grupos: ( $F_{(4,15)} = 1.546$ ,  $P = 0.2395$ ) (Fig. 12).

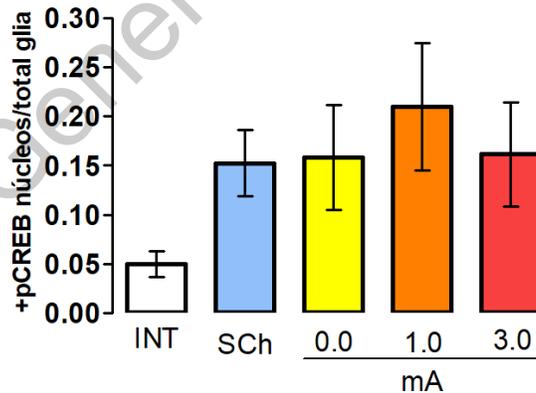


Figura 12. Proporción de núcleos gliales grandes pCREB positivos del giro dentado. No hay diferencias entre los grupos. INT, intacto y Sch, sólo choque.

#### D. CAMBIOS EN LA PROPORCIÓN DE LOS NÚCLEOS GLIALES GRANDES pCREB POSITIVOS DEL GIRO DENTADO POR REGIÓN

El análisis de varianza de los datos obtenidos por el conteo de núcleos grandes no muestra diferencias significativas entre los grupos: **A** ( $F_{(4,15)} = 1.665$ ,  $P = 0.2103$ ), **B** ( $F_{(4,15)} = 0.9370$ ,  $P = 0.4692$ ) y **C** ( $F_{(4,15)} = 1.641$ ,  $P = 0.2158$ ) (Fig. 13).

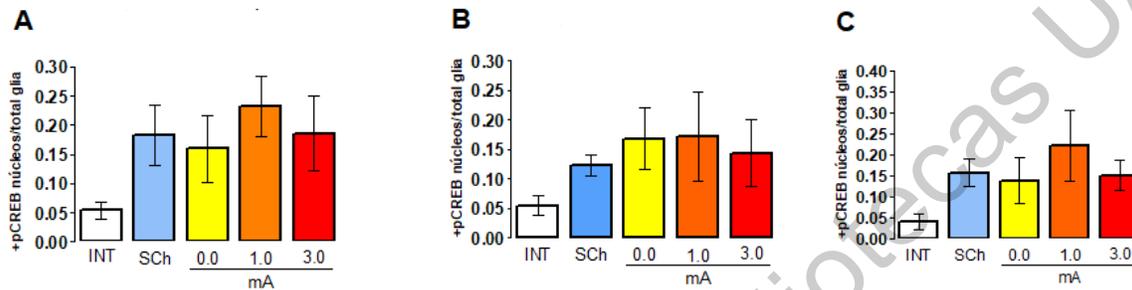


Figura 13. Proporción de núcleos pCREB positivos de glía grande, en cada una de las regiones del giro dentado del hipocampo dorsal de ratas. No hay diferencias entre los grupos. A, genu; B, banda suprapiramidal y C, banda infrapiramidal. INT, intacto y Sch, sólo choque.

#### E. CAMBIOS EN LA PROPORCIÓN DE LOS NÚCLEOS GLIALES PEQUEÑOS pCREB POSITIVOS DEL GIRO

El análisis de varianza de los datos obtenidos por el conteo total de núcleos considerados pequeños en el giro dentado totales no mostró diferencias significativas entre grupos: ( $F_{(4,15)} = 0.8165$ ,  $P = 0.5343$ ) (Fig. 14).

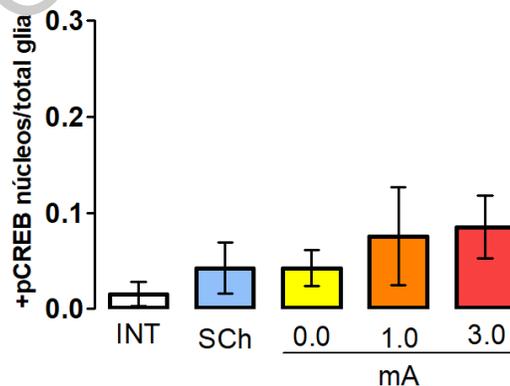


Figura 14. Proporción de núcleos gliales pequeños pCREB positivos, en el giro dentado. No hay diferencias entre los grupos. INT, intacto y Sch, sólo choque.

#### F. CAMBIOS EN LA PROPORCIÓN DE LOS NÚCLEOS GLIALES PEQUEÑOS pCREB POSITIVOS DEL GIRO DENTADO POR REGIÓN.

No resultaron diferencias significativas entre los grupos para lo correspondiente a la glía pequeña por región del giro dentado: **A** ( $F= 0.4907$ ,  $P= 0.7427$ ), **B** ( $F= 0.3702$ ,  $P= 0.8262$ ) y **C** ( $F= 1.524$ ,  $P= 0.2454$ ) (Fig. 15).

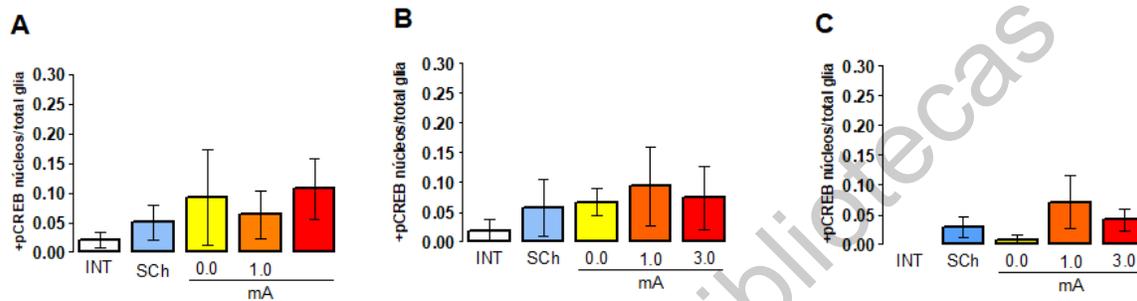


Figura 15. Proporción de núcleos pCREB positivos de glía pequeña, en cada una de las regiones del giro dentado del hipocampo dorsal de ratas. No hay diferencias entre los grupos. A, genu; B, banda suprapiramideal y C, banda infrapiramideal. INT, intacto y SCh, sólo choque.

## CAPÍTULO V. DISCUSIÓN

En esta tesis se cuantificó la proporción de la proteína CREB fosforilada en los núcleos de las células gliales del giro dentado del hipocampo dorsal. Los resultados muestran que la proporción de pCREB no se modificó al hacer la comparación entre las diferentes condiciones experimentales; sin embargo, se pudo observar que en las ratas ubicadas en el grupo INT, las cuales permanecieron en el bioterio, la proporción de pCREB de los núcleos gliales fue menor que en el resto de las condiciones experimentales. Esto permite sugerir que hay una tendencia a que la actividad de la proteína fosforilada de CREB en las células gliales del giro dentado aumente ante el contexto y la exposición del estímulo aversivo.

El giro dentado es una región que recibe aferencias glutamatérgicas que vienen de la corteza entorrinal principalmente, siendo este sitio la primera sinapsis del circuito trisináptico. La corteza entorrinal recibe aferencias de las cortezas del cíngulo, la prefrontal y las límbicas entre las que están las áreas de asociación cortical; también recibe de diversos núcleos talámicos, del clastrum y de la amígdala. Es posible que la exposición libre a la caja de evitación inhibitoria, la exposición directa al choque eléctrico y la propia experiencia de aprendizaje esté activando las áreas corticales y estructuras subcorticales que activan al giro dentado. Por lo tanto, podría ser que la actividad genómica de la glía en el procesamiento de la información en este sitio es de suma importancia para las sinapsis que se estén estableciendo ante las condiciones experimentales establecidas.

Se ha reportado que en las células gliales también hay proteína CREB funcionando como un factor de transcripción y que participa en la preservación y en la potenciación de las funciones homeostáticas del tejido celular, en la modificación del perfil inflamatorio e influye en las proteínas de la matriz extracelular (Pardo et al., 2016).

Carriba y cols. (2012) demostraron que el ATP y la norepinefrina activan la transcripción dependiente de CREB en un cultivo de astrocitos corticales, a través de una vía de una proteína cinasa C zeta, atípica (PKM) que es independiente de

calcio y de AMPc. La activación de CREB indujo la expresión de BDNF (un tipo de gen de expresión temprana) que participa en un remodelamiento estructural y funcional en las sinapsis. Por lo tanto, la proteína CREB favorece la sinapsis pero poco se sabe sobre su participación en los procesos de aprendizaje y memoria.

Recientemente se ha incrementado el interés por el estudio de la participación de las células gliales del hipocampo en el proceso de consolidación de la memoria empleando varias tareas (Aguilar-Montilla, 2017; Gao et al., 2016; López-Hidalgo et al., 2012; Menachem-Zidon et al., 2011; Robin et al., 2018). En la presente tesis proponemos que es importante ampliar los análisis aumentando el número de muestras, para poder determinar si las tendencias encontradas se mantienen como tales o si se llega a encontrar diferencias estadísticamente significativas en algunos de los experimentos y así generar información concluyente sobre la participación de pCREB del giro dentado en la consolidación de la memoria.

## CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES

1. Se rechaza la hipótesis de que el entrenamiento incrementado, en la tarea de evitación inhibitoria, genera un aumento de la fosforilación de CREB en los núcleos de las células gliales del giro dentado del hipocampo, en comparación a los demás grupos experimentales.
2. La proporción de núcleos positivos a pCREB en el grupo de ratas que permanecieron en el bioterio consistentemente es menor, por lo que es probable que las glías del GD estén respondiendo al contexto y a la exposición al choque eléctrico.
3. La tarea de evitación inhibitoria compromete la actividad del hipocampo, por lo que se sugiere aumentar el tamaño de la muestra para corroborar los resultados obtenidos.
4. Es necesario el análisis de los procesos correspondientes a la actividad glial de acuerdo con marcadores específicos para glía; principalmente, astrocitos, microglía y oligodendrocitos.

## BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar-Montilla, F. J. (2017). *IMPLICACIÓN DE LAS CÉLULAS GLIALES DE MICROGLIA Y ASTROGLIA EN LOS PROCESOS DE APRENDIZAJE Y MEMORIA DE RECONOCIMIENTO DE OBJETOS.* . Sevilla: Universidad Pablo de Olavide, Departamento de Ciencias Experimentales.
- Alonso Lorenzo, E. V. (2018). *EFECTO DEL ENTRENAMIENTO INCREMENTADO EN LA TAREA DE EVITACIÓN INHIBITORIA SOBRE LA FOSFORILACIÓN DE CREB EN EL ESTRIADO DE RATAS.* Qro, México.: UNAM.
- Bear, M. F., Connors, B., & Paradiso, M. (2008). *NEUROCIENCIA. LA EXPLORACIÓN DEL CEREBRO.* España: Wolters Kluwer.
- Bello-Medina, P. C., González-Franco, D. A., & Medina, A. C. (2018). EL HIPOCAMPO: HISTORIA, ESTRUCTURA Y FUNCIÓN. *TEPEXI Boletín Científico De La Escuela Superior Tepeji Del Río*, 5(10).
- Bower, G. H., & Hilgard, E. R. (1989). *TEORÍAS DEL APRENDIZAJE.* México: Trillas.
- Butt, A., & Verkhratsky, A. (2007). *GLIAL NEUROBIOLOGY: A TEXTBOOK.* Willey.
- Carlson, N. R. (2006). *FISIOLOGÍA DE LA CONDUCTA.* Madrid: PEARSON.
- Carriba P, P. L.-D. (2012). ATP AND NORADRENALINE ACTIVATE CREB IN ASTROCYTES VIA NONCANONICAL Ca21 and CYCLIC AMP INDEPENDIENT PATHWAYS. *Glia* 60, 1330–1344. .
- Castejón, O. J. (2010). RELACIÓN CEREBRO Y MENTE. *Multiciencias*, 11-27.
- Charles Trevor Ross, S. R. (2009). FORMACIÓN FÍSICA DE LA MEMORIA. EL ROL DE LAS CÉLULAS GLIALES. *NeuroQuantology*, 596-601.
- Chen , Y., & Hertz, L. (2016). EDITORIAL: ALL 3 TYPES OF GLIAL CELLS ARE IMPPORTANT FOR MEMORY FORMATION. *Frontiers in integrative Neurocience*, 1-4.
- Daniel Reyes-Haro, L. B. (2014). LA GLIA, EL PEGAMENTO DE LAS IDEAS. *Comunicaciones libres*, 12-18.
- Dávila Vega, V., Garín Aguilar, M. E., Hernández Rivas , P., Hernández Rodríguez , O. S., Hernández Romero, A. G., & Martín Fuentes, J. A. (2008). *LOS RECEPTORES ( $\alpha 4\beta 2$  y  $\alpha 7$ ) DEL HIPOCAMPO VENTRAL Y LA CONSOLIDACIÓN DE LA MEMORIA.* CDMX: UNAM.
- Duque-Parra, J. E., & Tamayo-Orrego, L. (2007). LA ADAPTACIÓN DE LAS CÉLULAS GLIALES: UNA PERSPECTIVA EVOLUTIVA. *Revista Med*, 105-109.
- Franco, J. C., & Ortega Loubon, C. (2010). NEUROFISIOLOGÍA DEL APRENDIZAJE Y LA MEMORIA. PLASTICIDAD NEURONAL. *MedPub Journals*, 1-7.
- Gao, V. S. (2016). ASTROCYTIC $\beta 2$ -ADRENERGIC RECEPTORS MEDIATE HIPPOCAMPAL LONG-TERM MEMORY CONSOLIDATION. *PNAS*, 8526-8531.

- Garín Aguilar, M. E. (2014). *EFFECTO DE LA ACTIVACIÓN REVERSIBLE DEL HIPOCAMPO DORSAL SOBRE LA RETENCIÓN DE UNA TAREA DE EVITACIÓN INHIBITORIA SOBRRERFORZADA*. Querétaro, México: Instituto de Neurobiología, UNAM.
- Guillermo Montiel, H. I. (2018). *EFFECTO DEL ENTRENAMIENTO MODERADO E INCREMENTADO EN LA TAREA DE EVITACIÓN INHIBITORIA SOBRE LA FOSFORILACIÓN DE CREB EN EL HIPOCAMPO DORSAL DE RATAS*. Qro, México: UNAM.
- Jieun , K., Jeong-Tae , K., Hyung-Su , K., & Sheena-A. , J. (2014). MEMORY RECALL AND MODIFICATIONS BY ACTIVITING NEURON WITH ELEVATED CREB. *Nature neuroscience*, 65-72.
- Kandel, E. (1997). *NEUROCIENCIA Y CONDUCTA* . Madrid: PRENTICE HALL.
- Kandel, E. R. (2016). *LEARNING AND MEMORY*. Cold Spring Harbor.
- López-Hidalgo, M., Salgado-Puga, K., Alvarado-Martínez, R., Medina, A. C., Prado-Alcala, R. A., & García-Colunga, J. (2012). NICOTINE USES NEURON-GLIA COMMUNICACIÓN TO ENHANCE HIPPOCAMPAL SYNAPTIC TRANSMISSION AND LONG-TERM MEMORY. *PLOS ONE*, 1-12.
- Medina Fragoso, A. C., Serafín López, N., Quirarte, G. L., & Prado-Alcalá, R. A. (2010). LA RECONSOLIDACIÓN: ¿UNA NUEVA FASE DENTRO DEL PROCESO DE APRENDIZAJE Y MEMORIA?
- Medina Fragoso, A., Días Trujillo, A., Huchín Ramírez, T., Contreras , J., Quirarte, L., & Prado-Alcalá, R. A. (s.f.). ¿ES INDISPENSABLE LA SÍNTESIS DE PROTEÍNAS PARA LA FORMACIÓN DE LA MEMORIA DE LARGO PLAZO?
- Morgado-Bernal, I. (2005). PSICOBIOLOGÍA DEL APRENDIZAJE Y LA MEMORIA. *C.I.C.*, 221-233.
- Newman, L. A., Korol, D. L., & Gold, P. E. (2011). LACTATE PRODICED BY GLYCOGENOLYSIS IN ASTROCYTES. *PLos ONE*, 1-12.
- Nieto-Escamez, F. A., & Moreno-Montoya, M. (2011). Neurogénesis en el giro dentado del hipocampo: implicaciones para el aprendizaje y la memoria en el cerebro adulto. *Arch Neurociens*, 193-199.
- Olivares Hernández, J. D. (2014). *EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN INTRACEREBROVENTICULAR DE LA HORMONA DE CRECIMIENTO SOBRE LA SUPERVIVENCIA CELULAR DEL GIRO DENTADO DEL HIPOCAMPO DE RATAS ADULTAS*. Xalapa, Veracruz: Universidad Veracruzana .
- Orrego-Cardozo, M., & Tamayo-Alzate, O. E. (2016). BASES MOLECULARES DE LA MEMORIA Y SU RELACIÓN CON EL APRENDIZAJE. *Archivos de medicina*, 467-484.
- Pardo, L. S.-O. (2016). TARGET ACTIVATION OF CREB IN REATIVE ASTROCYTES IS NEUROPROTECTIVE IN FOCAL ACUTE CORTICAL INJURY. *Glía*, 853-874.
- Prado Alcalá, R. A., & Bermúdez Rattoni, F. (2001). *MEMORIA*. México: Trillas.
- Prado Alcalá, R. A., & Quirarte, G. L. (2007). LA CONSOLIDACIÓN DE LA MEMORIA, UN SIGLO DESPUÉS. . *Neurología.com*, 284-292.

R. Squire, L. (1987). *MEMORY AND BRAIN*. New York: OXFORD.

Ramírez-Chan, K., & Fornaguera-Trías, J. (2017). Estandarización de un protocolo de inmunohistoquímica para detectar microglía del cerebro de ratas de la cepa Wistar. *BASIC RESEARCH*, 45-59.

Téllez Olvera, H., Mendoza González, M. E., Butcher López, E. A., Pacheco Ralley, C. C., & Tirado Medina, H. (2002). *ATENCIÓN, APRENDIZAJE Y MEMORIA*. México: Trillas.

Verkhatsky, A., & Butt, A. (2013). *GLIAL PHYSIOLOGY AND PATHOPHYSIOLOGY*. Wiley-Blackwell.

W. Rudy, J. (2014). *THE NEUROBIOLOGY OF LEARNING AND MEMORY*. U.S.A.: SINAUER.

Dirección General de Bibliotecas UAQ