

BASES MOLECULARES DE LA MEMORIA ¿QUÉ NOS ENSEÑA EL CANGREJO?

Mariana Feld, Fernando Locatelli, Ramiro Freudenthal, Emiliano Merlo y Arturo Romano

Laboratorio de Neurobiología de la Memoria. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA

Recibido:

Recibido en: 02/07/2003

| Aceptado:

Aceptado en: 22/07/2003

Contacto: Arturo Romano - no_disponible

La investigación en el área de las bases moleculares del aprendizaje y la memoria ha tenido un enorme impulso en la década pasada y constituye una de las áreas de investigación más activas de la neurobiología de nuestros días. Este estudio se ha enriquecido gracias a la utilización de distintos modelos de memoria y de plasticidad neuronal, desarrollados tanto en vertebrados como en invertebrados, y diversos aspectos de este fenómeno sumamente complejo son abordados gracias a esta diversidad de paradigmas. A su vez, el desarrollo de novedosas metodologías en el ámbito de la biología molecular e inhibidores de distintas vías metabólicas ha permitido ampliar los conocimientos relacionados con los mecanismos moleculares implicados en estos procesos. Un ejemplo de la relevancia del uso de animales “simples” para estos estudios es la babosa marina *Aplysia*. Grandes avances en este campo se realizaron desde la década del 70 estudiando aprendizajes simples en esta especie que constituyeron la base de los trabajos de Erik Kandel¹¹, de la Universidad de Columbia, EEUU, por los cuales obtuvo el Premio Nobel de Medicina en el año 2000, en reconocimiento a sus descubrimientos sobre la transducción de señales en el sistema nervioso. Mucho hemos aprendido de la babosa de mar sobre cómo hace nuestro cerebro para formar memorias. Pero también hemos aprendido de otros animales. **¿Qué nos enseña el cangrejo?**

Desde hace ya más de un siglo los crustáceos decápodos han sido utilizados como modelos en distintos paradigmas de aprendizaje y memoria, incluyendo gran diversidad de especies y comportamientos. Algunos cangrejos presentan una gran sensibilidad y agudeza visual. Objetos en movimiento que estimulan la parte superior de su campo visual desencadenan un limitado conjunto de respuestas defensivas estereotipadas, fácilmente discernibles y medibles. Esto presenta una ventaja adaptativa, ya que habitan en general en terrenos llanos (zonas costeras) y son predados por las aves, especialmente las gaviotas. A su vez, muestran una gran capacidad de aprendizaje para adecuar esas respuestas a distintas circunstancias y contextos. Aprovechando estas características, desde el año 1985 hemos desarrollado en el Laboratorio de Neurobiología de la Memoria un modelo de aprendizaje y memoria en estos animales. El protagonista de nuestra historia es *Chasmagnathus granulatus* (figura 1), un cangrejo semiterrestre que habita en las zonas de transición de agua dulce y salada de las costas del sur de Brasil, Uruguay y Argentina.

Figura 1



En el laboratorio se estudió la respuesta de escape del cangrejo a un estímulo visual de peligro, una figura rectangular opaca que pasa por encima de él. Con el fin de cuantificar y analizar dicha respuesta se desarrolló el “actómetro”, un dispositivo experimental totalmente automatizado (figura 2).

Figura 2



Figura 2: El actómetro. Consiste en un contenedor plástico donde se sitúa un animal, por encima del cual, se ubica la figura que puede moverse en un ángulo de 90° paralelamente a la superficie. Al contenedor se adhieren dos micrófonos que transducen la señal a una computadora, donde la misma es cuantificada. En el cuarto de entrenamiento, 40 actómetros permiten registrar la respuesta de escape de 40 cangrejos en forma simultánea.

Cada entrenamiento consiste típicamente en 15 ensayos (E) de presentación de la figura, con un intervalo entre ensayos (IEE) de 3 minutos. Ante la presentación reiterada del estímulo de peligro la respuesta de escape decrece, y es reemplazada por una respuesta críptica que consiste en permanecer contra el fondo del recipiente sin realizar movimiento alguno (“freezing”). Este protocolo de entrenamiento se denomina espaciado, y origina una memoria de largo término, puesta de manifiesto por una robusta retención que perdura por lo menos una semana (Figura 3).

Figura 3

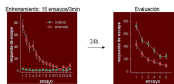


Figura 3: Retención inducida por una sesión de entrenamiento espaciado de 15 E presentados en forma espaciada, con un intervalo entre ensayos (IEE) de 3 minutos. Los gráficos muestran el nivel de la respuesta de escape de animales entrenados (rojo) o expuestos solo al contexto (verde) en la sesión de entrenamiento (izquierda) y en la de evaluación de la memoria, 24 hs después del entrenamiento (derecha). La retención se define operativamente como la diferencia estadísticamente significativa entre la respuesta en el primer ensayo del grupo control y el grupo entrenado.

En esas condiciones los animales establecen una asociación entre el contexto y la señal de peligro, denominado aprendizaje contexto-señal¹⁶. Sin embargo, no se induce memoria contexto-señal (MCS) cuando se utiliza un protocolo de estimulación continua, sin intervalo entre ensayos. Esto es así aún cuando el tiempo total de estimulación sea el mismo que para un entrenamiento espaciado, aumentando así en forma notable el número de ensayos (alrededor de 1 000 E). La MCS es dependiente de la síntesis proteica y de ARN mensajero, dado que drogas que interfieren con los procesos de transcripción y traducción producen amnesia durante el período de consolidación de la memoria^{19,20} (este concepto será aclarado más adelante). En cambio, cuando se utiliza un entrenamiento masivo (IEE de 4 seg) se induce una memoria intermedia que sólo perdura entre 2 y 3 días, que no depende del contexto (memoria señal, MS), y que es independiente de la síntesis proteica¹⁰. La presencia de distintos tipos de memoria generados por los mismos estímulos e incluso de un protocolo de estimulación que no genera memoria de largo término, son herramientas muy valiosas para identificar procesos moleculares implicados específicamente en la formación de la memoria y controlar fenómenos inespecíficos que están siempre presentes en el entrenamiento, tales como estrés, estimulación visual y motora. Es extensivo el estudio de las características de estos tipos de memoria con respecto a la estímulo-especificidad¹⁵, contexto-especificidad²⁷, fenómenos de reconsolidación y extinción^{21, 22}, de neurotransmisores y neuromoduladores involucrados, mediante el uso de agonistas y antagonistas^{2, 4, 29} y de la electrofisiología de neuronas implicadas en el aprendizaje y la memoria³⁰. Sin embargo, en este artículo nos centraremos en las vías de transducción de señales implicadas en la formación de la memoria.

Desde fines del siglo XIX, a partir de observaciones en humanos, se desarrolló el concepto de consolidación de la memoria. Según esta teoría, aún hoy en boga a pesar de los múltiples embates recibidos, la memoria primero existe en una forma lábil, pasible de disrupción, y luego se consolida, pasando a una forma más estable y de larga duración. Distintos agentes pueden disrumpir la memoria antes de su consolidación, variando desde simples distractores a electro-shock convulsivos o traumas craneanos. Es un fenómeno ubicuo, que ocurre tanto en humanos como en otros vertebrados e invertebrados. El estudio de la consolidación cobró una base bioquímica y molecular a partir del hallazgo de que inhibidores de la traducción y transcripción producen amnesia cuando se administran durante este período crítico. Este fenómeno probó ser prácticamente universal para las memorias de larga duración y muestra una analogía con los períodos críticos del desarrollo. Considerando este aspecto, se definió entonces la consolidación como un período durante el cual nuevas proteínas tienen que ser sintetizadas⁹. Esto llevó a postular que es necesaria la regulación de la transcripción génica durante la formación de la memoria. Las señales iniciadas por la actividad sináptica deben llegar al núcleo. En este punto debemos aclarar que nuestro enfoque de la memoria no es reduccionista. La memoria se entiende en términos neuronales como modificación de las conexiones sinápticas en los circuitos relacionados con la representación de las experiencias. No hay moléculas de la memoria sino mecanismos moleculares que permiten dichas modificaciones.

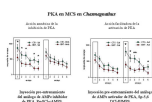
En el laboratorio hemos estudiado distintas vías de señalización intracelular involucradas en la consolidación de la memoria y en esta comunicación sinapsis-núcleo. A continuación sintetizaremos las líneas de investigación que hemos desarrollado.

▶

Dos períodos críticos para la consolidación: Proteína quinasa dependiente de cAMP (PKA)

El papel de la PKA en procesos de plasticidad neuronal relacionados con la memoria fue inicialmente estudiado en los trabajos pioneros del grupo de Kandel, en *Aplysia*, y posteriormente corroborado en otros modelos de vertebrados e invertebrados. En *Chasmagnathus* se han obtenido las primera evidencias sobre la facilitación o bloqueo de un proceso amnésico mediante el uso de análogos de cAMP, activadores e inhibidores de PKA^{23, 24} (Figura 4), en paralelo con resultados obtenidos utilizando otros inhibidores de PKA en pollos²⁹.

Figura 4:



Este tipo de evidencias farmacológicas, junto con evidencias genéticas utilizando mutantes de aprendizaje y memoria en *Drosophila*, permitieron poner de manifiesto la relevancia del papel de la PKA en la memoria, que previamente había sido propuesto a partir de modelos in vitro.

¿Cuál es la ventaja de realizar experimentos farmacológicos en *Chasmagnathus*? La ausencia de una barrera hemato-cerebral endotelial en estos animales permite la administración sistémica de drogas mediante un tratamiento no traumático, trabajando a muy bajas dosis, equivalentes o aún menores a las utilizadas in vitro.

Mediante esta metodología hemos detectado dos períodos críticos de actividad de la PKA durante la consolidación de la memoria, durante los cuales la administración de un inhibidor específico de PKA resulta amnésica. La actividad de PKA se requiere durante el entrenamiento y en un período posterior, entre las 4 y

las 8 horas post-entrenamiento¹³ (Figura 5).

Figura 5

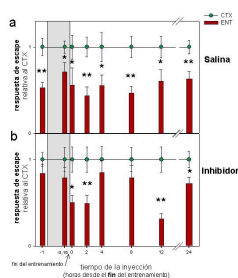


Figura 5: Dos períodos sensibles a la inhibición de PKA durante la consolidación de MCS. Los gráficos muestran la respuesta de escape en la sesión de evaluación de la memoria, 24 hs después del entrenamiento, después de la inyección de solución salina (a) o inhibidor de PKA (b) a distintos tiempos respecto del entrenamiento. La barra gris vertical indica el período de entrenamiento. CTX: animales no entrenados que permanecieron en el contexto durante la sesión de entrenamiento; ENT: animales entrenados con 15 ensayos espaciados. Los datos se muestran normalizados a la respuesta de los animales CTX. *p<0.05 y ** p<0.01 comparaciones planeadas CTX vs ENT.

Este curso temporal es similar al encontrado para otra quinasa, IKK, que será discutida en la siguiente sección. En coincidencia con estos estudios, PKA está activa en el cerebro de *Chasmagnathus* inmediatamente después del entrenamiento y a 6 horas después¹⁴.

¿Cómo se explica que una vía de señalización que participa en muchos procesos metabólicos tenga un papel tan específico en la memoria, para la que se requiere acción en un limitado juego de sustratos en sitios restringidos? La PKA presenta básicamente dos isoformas, tanto en vertebrados como en invertebrados, PKAI y PKAII, con diferente distribución subcelular, y asociada con distintas proteínas de anclaje. La activación diferencial de estas isoformas conferiría tal especificidad. La participación diferencial de isoformas de PKA en memoria es materia de debate. En este contexto, hemos obtenido evidencias que sugieren un novedoso mecanismo para lograr un aumento prolongado de PKA durante la consolidación, el aumento en los niveles de PKAI, la isoforma más a fin al cAMP (casi 10 veces más afin que PKAII). Esto permitiría activar PKA a niveles muy bajos de cAMP, aún a niveles basales¹⁴.

▶	Un novedoso mecanismo de señalización sinapsis-núcleo: Nuclear Factor - kappa B (NF-kB), su inhibidor, IκB, e IκB quinasa (IKK).
---	--

Un paso relevante de las investigaciones en *Chasmagnathus* ha sido el hallazgo de la participación del sistema IKK / NF-kB por primera vez en un proceso de memoria y, a su vez, la obtención de las primera evidencias sobre la activación en las terminales sinápticas, apoyando la hipótesis sobre un novedoso mecanismo de señalización sinápsis-núcleo. Rel/NF-kB es una familia de factores de transcripción muy conservada en la evolución, tanto en sus componentes como en su función. Está involucrada en a respuesta inmune y en apoptosis. Está presente en el sistema nervioso central y existen evidencias sobre su papel en plasticidad neuronal. Distintas señales que llevan a la activación de la proteína quinasa IKK (IkappaB quinasa) lo activan, ya que IKK fosforila al inhibidor de NF-kB, IκB. Esta fosforilación permite la degradación de IkappaB y la consecuente traslocación de NF-kB al núcleo.

En *Chasmagnathus*, un entrenamiento espaciado, que induce MCS, aumenta la actividad de NF-kB medida a partir de extractos nucleares del cerebro. Por otro lado, hemos determinado dos fases de activación de este factor, de manera similar a la descrita en otros sistemas, donde el mismo es activado. Asimismo, existe una fuerte correlación entre las condiciones de entrenamiento necesarias para la formación de la MCS y aquellas para activar NF-kB, en cuanto a cantidad de ensayos y frecuencia de estimulación^{7,8} (Figuras 6a, 6b, 6c).

Figura 6a

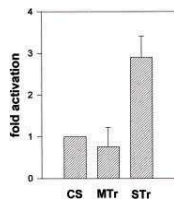


Figura 6a: El entrenamiento espaciado (STr) y no el masivo (MTr) inducen activación en el núcleo de NF- B inmediatamente luego del entrenamiento. La unión a DNA de B fue determinada por EMSA. Se graficó la relación de medidas densitométricas de las bandas de retardo específicas de grupos entrenados (STr y MTr) y controles (CS). Estos últimos fueron entrenados simultáneamente con los otros grupos. CS: entrenamiento continuo (600 E, IEE=0 s). MTr: entrenamiento masivo (300 E, IEE=4 s). STr: entrenamiento espaciado (30 E, IEE=100 s).

Figura 6b

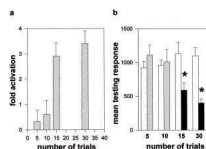


Figura 6b: 15 o más ensayos, y no 10 o menos, inducen tanto activación nuclear de NF- B como MCS. Izquierda: Niveles de activación de NF- B determinados por EMSA. Los valores se obtuvieron igual que en la figura 6a. Los grupos fueron entrenados con 5, 10, 15 o 30 ensayos espaciados, en simultáneo con los grupos controles (CS). Derecha: Grupos entrenados con 5, 10, 15 o 30 ensayos espaciados. La session de evaluación tuvo lugar 24 hs luego del entrenamiento, y consistió de un ensayo de presentación del estímulo. Los grupos control fueron colocados en los actómetros, pero no recibieron entrenamiento y fueron testeados igual que los grupos entrenados. Barras blancas: grupos control. Barras llenas: grupos entrenados. * y barras negras: diferentes significativas con los respectivos grupos control en comparaciones planeadas ($\alpha=0.01$, $F=7.2$ y 9.4 , respectivamente).

Figura 6c

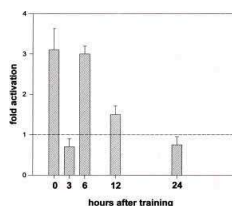


Figura 6c: Curva temporal de activación de NF- B luego de un entrenamiento espaciado. Cada barra corresponde a la media de triplicados de experimentos independientes. Cada grupo de animales fue sacrificado a los tiempos indicados luego de un entrenamiento espaciado (30 E) o continuo (600 E). La actividad de unión al DNA fue determinada por ensayos de EMSA.

También se ha encontrado activación de NF-kB en extractos sinaptosomales (terminales sinápticas aisladas), inducida por el entrenamiento, constituyendo la primera evidencia in vivo del mecanismo propuesto mediante el cual la transmisión sináptica activa localmente a NF-kB, que luego viaja por transporte retrógrado, a través de las prolongaciones neuronales, hasta el núcleo. También se ha determinado que un inhibidor de IKK (y por lo tanto de NF-kB) es amnésico y, a su vez, capaz de inhibir la actividad endógena de IKK y de NF-kB en el cerebro central de *Chasmagnathus*¹⁸. El efecto amnésico de la droga tiene lugar de manera coincidente con las dos fases de activación de NF-kappaB previamente observadas (Figura 7), sustentando la idea de que la activación de dicho factor de transcripción es necesaria para la consolidación de la MCS.

Figura 7

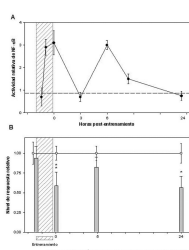


Figura 7: Comparación entre el curso temporal de activación de NF- κ B inducida por el entrenamiento y la amnesia inducida por sulfasalazina. A. Actividad de NF- κ B durante y a diferentes tiempos después del entrenamiento determinado por EMSA. Línea punteada: Actividad de unión al DNA en grupos control. B. Efecto de sulfasalazina sobre la MCS. La abscisa representa el tiempo de inyección con respecto a la finalización del entrenamiento. Los valores fueron normalizados a los respectivos grupos controles. Círculos abiertos: Media $\pm$ SD de CT-SSZ. Barras grises: Media $\pm$ SD de TR-SSZ. Rectángulo rayado: sesión de entrenamiento. *: $p < 0.05$. **: $p < 0.01$.

Proteína quinasas activadas por mitógenos (MAPKs)

Las MAPKs son proteínas quinasas clásicamente activadas por receptores tirosina quinasas tales como los receptores de factores neurotróficos. En esta familia de quinasas se encuentran, entre otras, ERK1 y ERK2 (por “extracellular signal-regulated kinase” quinasas reguladas por señales extracelulares), p38 (llamada de esta forma debido a su peso molecular) y JNK (kinasa de la región aminoterminal del factor de transcripción c-jun). Las MAPKs son muy estudiadas por su papel en la división celular y apoptosis. Sin embargo, a partir de trabajos realizados en *Aplysia* y en la potenciación de largo término (LTP) en hipocampo de roedores, se ha observado que ERK1/2 cumplen un papel importante en plasticidad neuronal^{17,26}. Posteriormente se han visto involucradas en procesos de memoria en roedores^{1,3,26}. A pesar de que es una vía muy conservada, no hay todavía trabajos que muestren su participación en procesos amnésicos en modelos de invertebrados.

En *Chasmagnathus* hemos determinado, mediante anticuerpos, la presencia de una quinasa homóloga de ERK y otras dos quinasas homólogas a JNK1 y 2 en el cerebro. JNK1 y 2 de *Chasmagnathus* muestran una activación poco específica, ya que se observa también en controles de estrés, estimulación visual y motora. Por el contrario, si bien ERK muestra una activación en los controles, el entrenamiento espaciado provoca una clara activación con una cinética distinta a la de éstos (Figura 8), mostrando una activación significativa a una hora del entrenamiento. A su vez, un inhibidor de esta vía, PD 098059, resulta amnésico únicamente cuando es administrado poco antes del pico de ERK, indicando que esta activación es necesaria para la consolidación de la memoria⁵.

Figura 8

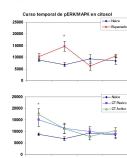


Figura 8: Comparación entre el curso temporal de activación de ERK/MAPK inducida por el entrenamiento espaciado y los controles. Arriba: Activación de ERK/MAPK inducida por el entrenamiento espaciado en comparación con animales Naïve. Abajo: Activación de ERK/MAPK inducida por el entrenamiento continuo (CT Activo) y exposición al contexto (CT Pasivo) en comparación con animales Naïve. En ambos casos se representan las medias $\pm$ SD de 4 experimentos independientes de Western Blot con anticuerpos contra la forma fosforilada de ERK1/2. *: $p < 0,05$ en comparaciones planeadas.

Clásicamente, se atribuye a ERK una función nuclear, fosforilando factores de transcripción, marco en el cual se interpreta su rol en memoria. Sin embargo, en nuestro modelo hemos encontrado únicamente una activación de ERK en la fracción citosólica, mientras que en la fracción nuclear no se observan variaciones. Este resultado indicaría la posibilidad de que ERK posea también sustratos citoplasmáticos, que deben ser fosforilados como parte del mecanismo de consolidación, lo cual presenta una pregunta interesante para el rol de esta vía de transcripción en el sistema nervioso. ¿Cuáles son esos sustratos citoplasmáticos? ¿Qué papel cumplen con la reestructuración de los contactos sinápticos y, en general, en la consolidación de la memoria?

Las vías de señalización intracelular son complejas y, en muchos casos, se encuentran interrelacionadas entre sí. Existe la tendencia a interpretar estudios realizados sobre una proteína quinasa o un único factor de transcripción como los responsables del complejo proceso de la formación de la memoria. Consideramos que este enfoque es incorrecto y que es necesario el estudio de distintos mecanismos moleculares y su interrelación para llegar a una mejor comprensión del fenómeno. Es en este contexto que estudiamos distintas vías de señalización y su posible interacción. El avance en esta área de investigación se enriquece mediante el uso

de distintos modelos, tanto en vertebrados como en invertebrados, que permiten poner en relevancia distintos aspectos de este fenómeno tan complejo.

Bibliografía

1. Berman DE, Hazvi S, Rosenblum K, Seger R, Dudai Y. (1998) Specific and differential activation of mitogen-activated protein kinase cascades by unfamiliar taste in the insular cortex of the behaving rat. *The Journal of Neuroscience*, 18 (23): 10037-10044.
2. Berón de Astrada M and Maldonado H. Two related forms of long-term habituation in the crab *Chasmagnathus* are differentially affected by scopolamine. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 63(1): 109-118, 1999.
3. Cammarota M, Bevilacqua LR, Ardenghi P, Paratcha G, Levi de Stein M, Izquierdo I, Medina JH. Learning-associated activation of nuclear MAPK, CREB and Elk-1, along with Fos production, in the rat hippocampus after a one-trial avoidance learning: abolition by NMDA receptor blockade. *Brain Research Molecular Brain Research*, 76 (1): 36-46, 2000.
4. Delorenzi A, Dimant B, Frenkel L, Nahamod VE, Nässel DR and Maldonado H. High environmental salinity induces memory enhancement and increases levels of brain angiotensin-like peptides in the crab, *Chasmagnathus granulatus*". *The Journal of Experimental Biology*, 203(22): 3369-3379, 2000.
5. Feld M, Dimant B, Delorenzi A, Coso OA and Romano A. Non-nuclear activation of ERK/MAPK during long-term memory consolidation in *Chasmagnathus*. *Manuscrito en preparación*.
7. Freudenthal R, Locatelli F, Hermitte G, Maldonado H, Delorenzi A, Lafourcade C and Romano A. Kappa-B like DNA-binding activity is enhanced after a spaced training that induces long-term memory in the crab *Chasmagnathus*. *Neuroscience Letters* 242: 143-146, 1998.
8. Freudenthal R and Romano A. Participation of NF-kB transcription factors in long-term memory in the crab *Chasmagnathus*. *Brain Research* 855: 274-281, 2000.
9. Goelet P, Castellucci VF, Schacher S, Kandel ER. The long and the short of long-term memory-a molecular framework. *Nature* 322:419-422, 1986.
10. Hermitte G, Pedreira ME, Tomsic D and Maldonado H. Context shift and protein synthesis inhibition disrupt long term habituation after spaced, but not massed, training in the crab *Chasmagnathus*. *Neurobiology of Learning and Memory* 71: 34-49, 1999.
11. Kandel ER. *The Molecular Biology of Memory Storage: A Dialogue Between Genes and Synapses*. *Science*, 294:1030-1038, 2001.
12. Kornhauser JM, Greenberg ME. A kinase to remember: dual roles for MAP kinase in long-term memory. *Neuron*, 18: 839-842, 1997.

13. Locatelli F, Maldonado H and Romano A. Two critical periods for cAMP-dependent protein kinase activity during long-term memory consolidation in the crab *Chasmagnathus*. *Neurobiology of Learning and Memory* 77(2): 234-249, 2002.
14. Locatelli F and Romano A. Differential role of cAMP-dependent protein kinase isoforms during long-term memory consolidation in the crab *Chasmagnathus*. Enviado para su publicación a *Learning and Memory*.
15. Lozada M, Romano A and Maldonado H. Long-term habituation in the crab *Chasmagnathus granulatus*. *Physiology and Behavior* 47: 35-41, 1990.
16. Maldonado H, Romano A and Tomsic D. Long-term habituation (LTH) in the crab *Chasmagnathus*: a model for behavioral and mechanistic studies of memory. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 30: 813-826, 1997.
17. Martin KC, Michael D, Rose JC, Barad M, Casadio A, Zhu H, Kandel E. MAP kinase translocates into the nucleus of the presynaptic cell and is required for long-term facilitation in *Aplysia*. *Neuron*, 18: 899-912, 1997.
18. Merlo E, Freudenthal R and Romano A. The IkappaB kinase inhibitor sulfasalazine impairs long-term memory in the crab *Chasmagnathus*. *Neuroscience*, 112(1):161-172, 2002.
19. Pedreira ME, Dimant B, Tomsic D, Quesada-Allué LA and Maldonado H. Cycloheximide inhibits context memory and long-term habituation in the crab *Chasmagnathus*. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 52:124-127, 1995.
20. Pedreira ME, Dimant B and Maldonado H. Inhibitors of protein and RNA synthesis block context memory and long-term habituation in the crab *Chasmagnathus*. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 54: 611-617, 1996.
21. Pedreira ME, Perez-Cuesta LM, Maldonado H. Reactivation and reconsolidation of long-term memory in the crab *Chasmagnathus*: protein synthesis requirement and mediation by NMDA-type glutamatergic receptors. *The Journal of Neuroscience*, 22(18): 8305-11, 2002.
22. Pedreira ME and Maldonado H. Protein synthesis subserves memory reconsolidation or extinction depending on the re-exposure duration to the learning context. *Neuron*, 38(6):863-9, 2003.
23. Romano A, Delorenzi A, Pedreira ME, Tomsic D and Maldonado H. Acute administration of a cAMP analog and a phosphodiesterase inhibitor improve long-term habituation of the crab *Chasmagnathus*. *Behavioral Brain Research*, 75:119-125, 1996.
24. Romano A, Locatelli F, Pedreira ME, Delorenzi A and Maldonado H. Effect of activation and inhibition of cAMP-dependent Protein kinase on long-term habituation of the crab *Chasmagnathus*. *Brain Research*, 735:131-140, 1996.
25. Schafe, GE; Atkins, CM; Swank, MW; Bauer, EP; Sweatt, JD and LeDoux, JE. Activation of ERK/MAP kinase in the amygdala is required for memory consolidation of Pavlovian Fear Conditioning. *The Journal of Neuroscience*, 20(21):8177-8187, 2000.
26. Sweatt, JD. The neuronal MAP kinase cascade: a biochemical signal integration system subserving synaptic plasticity and memory. *Journal of Neurochemistry*, 76 (1): 1-10, 2001.

27. Tomsic D, Pedreira ME, Hermitte G, Romano A and Maldonado H. Context-US association as a determinant of long-term habituation in the crab *Chasmagnathus*. *Animal Learning and Behavior*, 26 (2): 196-209, 1998.
28. Tomsic D, Berón de Astrada M, Sztarker J. Identification of individual neurons reflecting short- and long-term visual memory in an arthropod. *The Journal of Neuroscience*, in press.
29. Troncoso J and Maldonado H. Two related forms of memory in the crab *Chasmagnathus* are differentially affected by NMDA receptor antagonists. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 72(1-2): 251-265, 2002.
30. Zhao WQ, Polya GM, Wang BH, Gibbs ME, Sedman GL, Ng KT. Inhibitors of cAMP-dependent protein kinase impair long-term memory formation in one day-old chicks. *Neurobiology of Learning and Memory*, 64(2): 106-18, 1995.

Química Viva

ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista Química Viva

Volumen 2, Número 2, Agosto de 2003

ID artículo: F1018

DOI: no disponible

[Versión online](#)