

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE PSICOLOGÍA

**DISOCIACIÓN DE LA EVOCACIÓN Y
RECONSOLIDACIÓN DE LA MEMORIA A TRAVÉS DEL
SISTEMA GLUTAMATÉRGICO EN HIPOCAMPO EN UN
MODELO DE MEMORIA ESPACIAL**

T E S I S

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

P R E S E N T A

CARLOS MANUEL GÓMEZ GUZMÁN

DIRECTOR DE TESIS

Dra. Ariana Israela Balderas Moreno

2016



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se realizó en el laboratorio de Neurobiología del Aprendizaje y la Memoria, en el Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México a cargo del Dr. Federico Bermúdez Rattoni bajo la dirección de la Dra. Israela Balderas Moreno. Con el apoyo económico del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CB250870 y de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico UNAM IN208616.

Agradezco a la Técnica Académica Q.F.B. Perla Moreno Castilla por el apoyo recibido durante la realización de este proyecto.

DEDICATORIA

**A mis años de estudiante y al futuro que me espera en la
investigación y el arte...**

CONTENIDO

RESUMEN.....	6
INTRODUCCIÓN.....	7
ANTECEDENTES.....	9
Aprendizaje y Memoria.....	9
Memoria Espacial.....	11
Hipocampo.....	12
Evocación.....	15
Consolidación.....	16
Reconsolidación.....	18
Evocación y Reconsolidación.....	23
PLANTEAMIENTO.....	26
JUSTIFICACIÓN.....	28
OBJETIVOS.....	30
HIPÓTESIS.....	30
MATERIALES Y MÉTODOS.....	30
Animales.....	30
Procedimiento Conductual: Laberinto acuático de Morris.....	31

Cirugía e infusiones.....	32
Drogas.....	32
Diseño experimental.....	33
Histología.....	34
Análisis Estadístico.....	34
RESULTADOS.....	35
DISCUSIÓN.....	45
CONCLUSIÓN.....	52
REFERENCIAS.....	54

RESUMEN

La memoria refiere al conjunto de mecanismos asociados con el almacenamiento, mantenimiento y recuperación de información sobre eventos pasados. El proceso de reconsolidación se encarga de almacenar y actualizar la información de la memoria. La investigación indica que la reconsolidación se desencadena al reactivarse (evocarse) una memoria consolidada con información nueva relevante. Una vez activa, existe una ventana temporal en que la memoria es susceptible de ser modificada. Sin embargo, se ha propuesto y encontrado en varias tareas y áreas cerebrales la independencia de los procesos evocación/reconsolidación. La disociación evocación/reconsolidación no se ha evidenciado en la memoria espacial. La presente investigación busca estudiar si la reconsolidación de una memoria es independiente de su evocación en el laberinto acuático de Morris, mediante bloqueo selectivo de ambos procesos manipulando farmacológicamente deacetilasas de histonas y los receptores del ácido α -amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico en el hipocampo de ratas. El presente estudio muestra evidencia de que la información espacial ya consolidada puede ser actualizada, incluso hacia la extinción, independientemente de que el trazo de memoria se exprese en conducta en evocación, es decir, con independencia de que el trazo se reactive previamente. Los resultados también sugieren que los procesos de reactivación y evocación manifiesta de la memoria son distintos y requieren mayor delimitación molecular.

1. INTRODUCCIÓN

La memoria es el proceso por el cual mantenemos y recuperamos experiencias pasadas para usar la información en el presente (Tulving, 2000). Como proceso, la memoria se refiere al conjunto de mecanismos dinámicos asociados con el almacenamiento, mantenimiento y recuperación de información acerca de eventos pasados (Sternberg y Sternberg, 2012).

La consolidación de la memoria se refiere al proceso por el cual un trazo de información lábil adquirido a corto plazo se almacena a largo plazo creando una memoria estable, que se mantiene (Paller, 2009). Mientras que la memoria a corto plazo solamente requiere modificaciones covalentes en las proteínas existentes, para que ocurra la memoria a largo plazo a nivel celular es necesaria la síntesis de proteínas *de novo*, expresión génica mediada por CREB, así como la formación de nuevas conexiones sinápticas (Milner y cols., 1998; Nader y Hardt, 2009).

Una vez que un trazo de memoria se encuentra en estado estable o consolidado se dice que está inactivo (Nader y Hardt, 2009) por lo que no es susceptible de modificarse. Sin embargo, independientemente del tiempo de la memoria almacenada, ésta puede alterarse si pasa a un estado activo mediante su reactivación, generalmente producida por la presencia de un estímulo relevante asociado a la memoria consolidada (Riccio y cols., 2006). Es precisamente cuando la memoria es lábil o activa cuando puede ocurrir el proceso de reconsolidación, proceso por el cual la información vuelve a estabilizarse integrando datos nuevos y relevantes a la antigua memoria consolidada (Rodríguez-Ortiz, 2007; Nader y Hardt, 2009). A nivel molecular, la reconsolidación de la memoria presenta los mismos

requerimientos que la consolidación, a excepción que en la reconsolidación se añade la expresión de por lo menos un gen de expresión temprana, el Zif268 (Lee y Hynds, 2013). Los procesos de consolidación y reconsolidación son dependientes de tiempo, siendo que la cascada molecular que involucra su activación, mantenimiento y término posee una duración aproximada de 6 horas (Schafe y LeDoux, 2000). El proceso de reconsolidación es dependiente de la reactivación de la memoria (Nader y Hardt, 2009).

En el estudio de la reconsolidación se consideran como dificultades teóricas el claro establecimiento de sus condiciones límite, es decir, las circunstancias fisiológicas, contextuales o psicológicas en que un trazo particular de memoria procede a la reconsolidación o no. Algunas de las condiciones límite propuestas son el tiempo de la memoria, la predictibilidad del estímulo reactivador de la memoria consolidada, la intensidad del entrenamiento, entre otros (Nader y Hardt, 2009).

En el campo de la reconsolidación existen reportes que ponen en discusión los propios parámetros para iniciar el proceso, en particular la necesidad de evocación de la memoria (Garcia-delaTorre y cols., 2014). A pesar que el fenómeno de reconsolidación posee amplia evidencia en numerosas estructuras cerebrales (Tronson y Taylor, 2007) y en variadas especies (Nader y Einarsson, 2010; Balderas y cols., 2013; Barreiro y cols., 2013; Cocoz y cols., 2013), su clara delimitación, así como la determinación de los requisitos para desencadenarla requiere ganar mayor claridad.

2. ANTECEDENTES

2.1. Aprendizaje y memoria

El aprender involucra cambios duraderos en la eficacia sináptica del sistema nervioso debido a la experiencia (Ellis, 2013). Es por el aprendizaje que los organismos modifican su conducta para adaptarse y enfrentar los cambios del medio circundante (Morgado Bernal, 2005). La base fisiológica preponderante del aprendizaje se encuentra en los cambios en las interconexiones entre neuronas, en particular en el fortalecimiento de las sinapsis o conexiones electro-químicas entre neuronas existentes o en la formación de nuevas conexiones (Carlson, 2005). Básicamente, el aprendizaje refiere a cómo la experiencia modifica las neuronas de modo que resulta en cambios sobre la conducta. El psicólogo Donald Hebb propuso una explicación para cómo este cambio ocurre sobre las neuronas dada la experiencia: “Cuando el axón de una célula A se encuentra suficientemente cerca como para excitar una célula B y participa repetida o persistentemente en la conexión sináptica, ocurre algún proceso de crecimiento o cambio metabólico en una o ambas células, de manera que la eficiencia de la célula A, como una de las células que excitan a B, se ve incrementada” (Hebb, 1949).

Lo que aprendemos es almacenado en el cerebro constituyendo el proceso denominado memoria, lo que hace persistente el aprendizaje en un organismo (Morgado Bernal, 2005). El proceso de memoria también abarca la recuperación de la información almacenada para su uso (Milner y cols., 1998).

La formación de una memoria incluye al menos dos estadios: la memoria de trabajo y la memoria a largo plazo. El sistema de memoria de trabajo se encarga de almacenar una cantidad limitada de información por un lapso de tiempo corto. En cambio, la memoria a largo plazo consiste en un sistema que almacena una gran cantidad de información constituyendo memorias estables y duraderas (Sprenger, 1999). Mientras que la memoria a corto plazo requiere modificaciones covalentes en las proteínas existentes, para que ocurra la memoria a largo plazo, a nivel molecular, es necesaria la síntesis de proteínas *de novo*, expresión génica mediada por elementos de respuesta a AMP cíclico (CREB), y en ocasiones la formación de nuevas conexiones sinápticas (Milner y cols., 1998; Nader y Hardt, 2009).

La neurociencia sugiere que la memoria a largo plazo puede distinguirse en sistemas de memoria que funcionan de manera independiente, controlando cada uno diferentes tipos de información y respuestas (White y McDonald, 2002). El modelo de memoria de Squire (2004) describe 6 tipos de memoria englobados en dos sistemas básicos, memoria declarativa y no declarativa (ver figura 1), cuya distinción básica se fundamenta en la capacidad de acceso consciente. La memoria declarativa permite acceso consciente a los hechos, conocimiento general (memoria semántica) y experiencias personales en un contexto espacio-temporal (memoria episódica) y la memoria no declarativa resulta en el acceso no consciente a un conjunto de aprendizajes perceptivos, de estímulo-respuesta y motores (Henke, 2010; Kahana, Howard y Polyn, 2008). Las memorias no declarativas, por tanto, operan de manera automática no consciente, no incluyen hechos y controlan varios tipos de comportamientos (Curran, 2014).

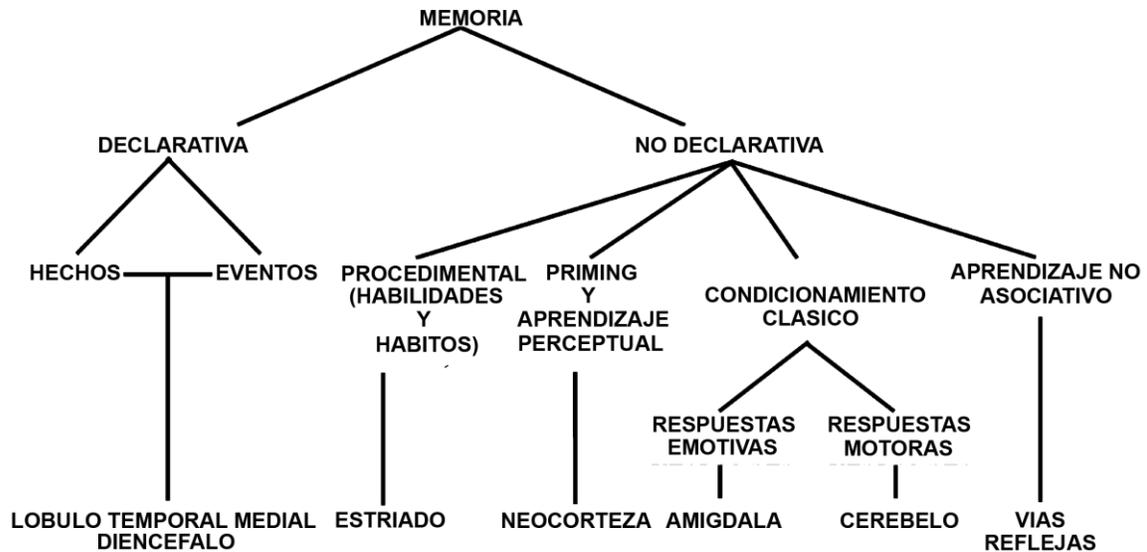


Figura 1. Sistemas de memoria que componen la memoria declarativa y no declarativa. Las imágenes representan las áreas cerebrales asociadas a los sistemas de memoria declarativa y no declarativa en mamíferos. Reproducido y traducido de Squire (2004).

En lo cotidiano, las diferentes formas de memoria operan de manera paralela, interactuando, y en el caso de daño al sistema nervioso, compensándose una a la otra en cierto grado (Henke, 2010).

2.2. Memoria espacial

Además de las memorias episódicas y semánticas que constituyen el sistema de memoria declarativa, existe una memoria declarativa que permite la navegación espacial mediante el mapeo cognitivo, la memoria espacial. Su forma de expresión se declara o demuestra consiguiendo observar como el organismo va de un lado a otro de manera eficaz empleando el mapeo cognitivo, es decir, aprendiendo las relaciones y distribuciones espaciales entre las señales u objetos del ambiente (Good, 2002).

En animales de laboratorio (ratas principalmente) la memoria espacial normalmente se evalúa mediante una tarea de laberinto de agua ideada por Morris (1981). Su propuesta consiste en una piscina circular de aproximadamente 1.3 m de diámetro con agua que no permite sea visible una plataforma localizada unos centímetros debajo del nivel de la superficie del líquido. La tarea requiere que las ratas encuentren la plataforma basándose en claves visuales (muebles, ventanas, posters, etc.) localizadas alrededor de la alberca. A lo largo de varios ensayos donde las ratas parten de un punto distinto cada vez, éstas aprenden a nadar directamente hasta la plataforma oculta (Carlson, 2005).

La información de la organización espacial del ambiente se encuentra representada por patrones de actividad en circuitos de neuronas de la formación hipocampal (Sasaki y cols., 2015). Este rol de la memoria espacial en el hipocampo parece generalizarse a través de las distintas especies (Carlson, 2005). Las células del hipocampo son sensibles a señales visuales y vestibulares que permiten la integración de la ubicación (Good, 2002). De lo anterior se hace evidente que en la tarea de laberinto de agua el hipocampo representa el papel primordial (Vorhees y Williams, 2006).

2.3. Hipocampo

El hipocampo es una de las regiones que en conjunto conforman la formación hipocampal, que se encuentra localizada en el lóbulo temporal medial y que se extiende hacia la longitud del piso del cuerno inferior del ventrículo lateral (Kiernan, 2012). Como indica la figura 2, la formación hipocampal se compone, a su vez, del giro dentado, la corteza entorrinal y el

subículo (Bear, Connors y Paradiso, 2007). El hipocampo como tal consiste en tres subcampos principales: CA1, CA2 y CA3 (Schultz y Engelhardt, 2014).

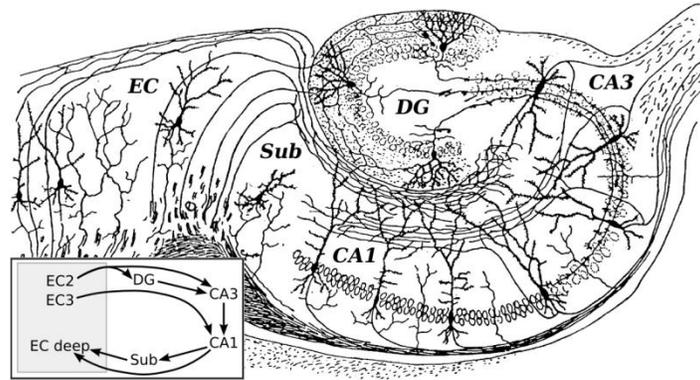


Figura 2. Formación hipocampal de ratona e interconexiones entre las diferentes áreas. CA1-CA3: Hipocampo, DG: Giro Dentado, Sub: Subículo y EC: Corteza Entorrinal. Reproducido de Ramón y Cajal, 1909.

El área CA1 del hipocampo es especialmente rica en receptores glutamatergicos NMDA de modo que en esta región se puede inducir fácilmente la potenciación a largo plazo. La potenciación a largo plazo es un fenómeno de plasticidad sináptica que se relaciona con el aprendizaje, consiste en el aumento de la eficacia sináptica consecuente con la estimulación breve de alta frecuencia (Shors y Matzel, 1997). Kentros y sus colaboradores (1998), encontraron que la potenciación a largo plazo mediada por NMDA es necesaria para que se consoliden los campos espaciales en CA1, pero no para su establecimiento a corto plazo. Cabe destacar que el fortalecimiento de las sinapsis, dada la potenciación a largo plazo, se logra gracias al aumento de receptores glutamatergicos AMPA en la postsinapsis (Anggono y Hugarir, 2012). Estas propiedades del hipocampo lo hacen particularmente plástico y esencial para el almacén de memoria.

El hipocampo dorsal de ratas (CA1) y posterior en humanos, contiene las denominadas células de lugar que intervienen directamente en la navegación espacial. La existencia de mapas espaciales en el hipocampo no indica que cada neurona codifique una localización particular, sino que esta información se representa por patrones de actividad en los circuitos neuronales del hipocampo. Estos circuitos reciben a su vez información de la propia locomoción del animal integrando la memoria espacial (Good, 2002).

El hipocampo no sólo resulta fundamental para el desarrollo eficaz de la navegación por el espacio, se han descrito importantes funciones de ésta estructura para otros procesos de memoria. El hipocampo interviene en la transformación de memorias declarativas de corto plazo a largo plazo y en la formación y codificación de las mismas (Shapiro y Eichenbaum, 1999). Dados los estudios de amnesia, también se ha podido concluir que el hipocampo no es la sede de la memoria a largo plazo ni es necesario para la recuperación de recuerdos remotos, asimismo que el hipocampo no está involucrado en la manutención de la memoria a corto plazo (Milner y cols., 1998); sin embargo, Kumaran (2008) indica que el hipocampo posee una función importante en la codificación y evocación de memorias a corto plazo de tipo asociativo (aprendizaje en que una nueva respuesta se asocia a un estímulo).

El hipocampo además de proporcionar la capacidad de orientarse en el espacio, está implicado en el aprendizaje de las relaciones entre estímulos no espaciales y situaciones. Las memorias son codificadas por el hipocampo en una representación integrada conjugando las diversas características de un estímulo o situación (Eichenbaum y cols, 1996).

2.4. Evocación

La evocación se trata del proceso por el cual trazos de memoria relevantes que están almacenados son reactivados por señales del ambiente o internas (Rugg y Wilding, 2000). El hecho de que las memorias consisten en representaciones integradas de las características de un objeto o evento implica para la evocación que 1) cada característica conforma una ruta de recolección y recuperación de la información relacionada, lo que implica que tenemos acceso a las memorias a pesar de que los datos proporcionados por el entorno sean limitados o incompletos y 2) también implica que la evocación de una memoria dada una señal, será más eficaz en tanto dicha señal y su contexto relacionado se parezcan más al ambiente y señales en que se codificó o modificó por última vez el trazo de memoria en cuestión (Smith y Kosslyn, 2006).

De acuerdo al tipo de memoria, diferentes áreas cerebrales se encuentran relacionadas con la evocación. En particular, se ha demostrado que los receptores glutamatérgicos AMPA tienen un papel importante en la evocación conductual de la memoria, siendo que el bloqueo farmacológico de estos receptores con un antagonista, CNQX, impide la expresión conductual de una memoria ya almacenada. Este efecto en torno a los receptores AMPA se ha evidenciado en diversas estructuras como las cortezas insular y perirrinal, la amígdala y el hipocampo, por tanto, en diferentes paradigmas de memoria como el condicionamiento al miedo, evitación inhibitoria, condicionamiento aversivo al sabor y reconocimiento de objetos (Liang y cols., 1994; Bast y cols., 2005; Yasoshima y cols., 2005; Ben Mamou y cols., 2006). Según Lopez y cols. (2015), la síntesis de proteínas y los niveles estables en la

postsinapsis de receptores AMPA con la subunidad GluA1, a partir de su actividad de tráfico mediada por receptores NMDA, son necesarios para una evocación exitosa de la memoria.

De las áreas estudiadas en relación a la necesidad de receptores AMPA para la evocación de memorias, el hipocampo destaca por su participación fundamental y selectivo en la recolección de memorias episódicas, por ejemplo, en la memoria espacial (Eldridge y cols., 2000). Cuanto más difusa se hace una memoria, el hipocampo deja de poseer un papel en su evocación, siendo que esta estructura codifica y recupera detalles, integrando relaciones específicas entre elementos del contexto (Wiltgen y cols., 2010). En aras de descubrir las áreas implicadas en la evocación de los distintos tipos de memoria también se ha empleado la inhibición selectiva de áreas del cerebro mediante la activación de los receptores GABA_A (Holt y Maren, 1999; Balderas, Rodríguez-Ortiz y Bermúdez-Rattoni, 2013).

Por otro lado, el lóbulo frontal resulta de importancia para elaborar procesos que modulan la evocación, permitiendo un plan de evocación y manejando mecanismos que resuelven la competencia o interferencia entre trazos de memoria cuando varios de estos trazos son recuperados ante la misma señal o estímulo. El lóbulo frontal permite evaluar la información evocada de manera que el organismo tome decisiones basadas en lo recolectado (Rugg y Wilding, 2000).

2.5. Consolidación

La consolidación es un proceso de estabilización dependiente de tiempo que lleva eventualmente al almacén permanente de memorias recientemente adquiridas (Nader,

Schafe y LeDoux, 2000). Normalmente, se entienden dos niveles de análisis para estudiar la consolidación: el de sistemas y el celular. El nivel de sistemas consiste en la reorganización de la información declarativa de la memoria a largo plazo del hipocampo a otras estructuras cerebrales, generalmente áreas de la neocorteza. Este proceso puede llevar de días a años. El nivel de explicación celular en consolidación, por otro lado, refiere a la transformación de la información a una forma a largo plazo resultando en la activación de cascadas intracelulares, modificaciones postraduccionales y de la modulación de la expresión de genes, que en conjunto alteran la eficacia sináptica (Dudai, 2012). Son las nuevas conexiones sinápticas los cambios que subyacen a almacenamientos de memoria que persisten por largos periodos. El proceso de consolidación ocurre de minutos a horas (Paller, 2009) y requiere síntesis de proteínas (Milner y cols., 1998). Para conseguir su efecto, la consolidación emplea los mecanismos que median la plasticidad sináptica, tal como la potenciación a largo plazo (Alberini, 2005).

El criterio más empleado para inferir el proceso de consolidación en un organismo consiste en la existencia de una ventana de tiempo de susceptibilidad a agentes amnésicos, de otro modo se interpreta que el proceso en cuestión se relaciona con la expresión o mantenimiento de la memoria (Shema y cols., 2007). En particular, si se bloquea la síntesis de proteínas, se altera la retención a largo plazo de una memoria cuando este bloqueo ocurre poco después del aprendizaje, pero no existe ningún efecto deletéreo sobre el mantenimiento de la memoria si el tratamiento es postergado varias horas (Eichenbaum, 2011).

Aunque diferentes áreas cerebrales se encuentran relacionadas con la evocación de acuerdo al tipo de memoria, en el caso de la consolidación el hipocampo tiene un papel común en la integración y modificación de los diferentes trazos de memoria para su consolidación. Se ha visto particularmente que el área CA1 del hipocampo se encuentra selectivamente relacionada con el proceso de consolidación (Daumas y cols., 2005).

Generalmente se asumía que el proceso de consolidación de una memoria sólo ocurre una vez, es decir, ya que la información se consolida la memoria se almacena de manera permanente (McGaugh, 2000). Sin embargo, actualmente es un hecho que la información consolidada es susceptible de ser modificada al desarrollarse el proceso de memoria llamado reconsolidación (Dudai, 2004).

2.6. Reconsolidación

El concepto de reconsolidación, a diferencia del antiguo postulado de las memorias consolidadas estáticas, propone que las memorias almacenadas, ya consolidadas, pueden reentrar a un estado activo dinámico en el que son susceptibles a cambios. En el proceso de reconsolidación, una memoria almacenada (inactiva) que deviene activa se estabiliza con el tiempo dando lugar a una memoria nuevamente inactiva, reconsolidada, que a su vez es capaz de volver a activarse para integrar nueva información (ver figura 3). Al parecer la reactivación de una memoria desencadena un proceso muy similar a la consolidación (Nader y Hardt, 2009).

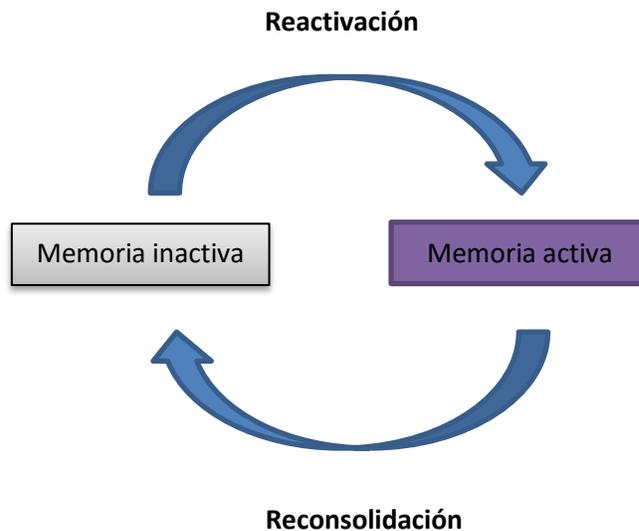


Figura 3. Modelo de reconsolidación. Las memorias nuevas y las reactivadas se encuentran en un estado activo, y se estabilizan con el tiempo en un estado de memoria inactiva. Reproducido y traducido de Nader y Hardt, 2009.

Existen dos fases distintas en el proceso de reconsolidación: desestabilización producida por la reactivación de la memoria y la reestabilización, que lleva a la reconsolidación. Ambos procesos poseen mecanismos distintos, y la mayor parte de la investigación se ha dirigido a conocer la base subyacente a la reestabilización (Lee, 2013).

La reconsolidación forma parte de los procesos básicos de memoria. Se ha comprobado de manera extensa en tipos de aprendizaje simples y complejos, en invertebrados y vertebrados, así como en condicionamientos aversivos y con recompensa (Dudai, 2006).

Los experimentos clásicos de Nader y Hardt (2009) en reconsolidación emplean anisomicina, un inhibidor de síntesis de proteínas, poco después de ser reactivada o evocada una memoria, quedando intacta la memoria a corto plazo, más no el trazo a largo a plazo. Asimismo, cuando la administración de anisomicina es posterior a 6 horas de

reactivada una memoria, es ineficaz para alterar el trazo mnémico a largo plazo, lo que según Nader y Hardt (2009) sugiere que existe un periodo lábil poco después de ser evocada una memoria. La infusión de anisomicina no compromete de manera permanente la habilidad para aprender o la integridad del área en la que se administra, ya que los animales que la reciben pueden ser reentrenados y aprender de manera normal (Dudai, 2006). En resumen, una modificación en los procesos celulares implicados durante el periodo lábil (activo) de memoria se ve reflejada sobre el desempeño conductual-mnémico al menos 24 horas después. Cuando las memorias son evocadas devienen en plásticas (Nader y Hardt, 2009). Aún más, solamente cuando se presenta información nueva relacionada con el trazo previamente consolidado, la anisomicina es capaz de bloquear la reconsolidación por su efecto inhibitorio sobre la síntesis de proteínas, por lo que se sugiere que la reconsolidación de la memoria es dependiente de la presencia de información nueva relevante al trazo a reconsolidar (Rodríguez-Ortiz y cols., 2008; Balderas y cols., 2013). Lo anterior también implica que la ventana temporal en que la memoria es modificable al ser reactivada es dependiente de síntesis de proteínas (Nader y Hardt, 2009). Ben Mamou y cols. (2006) demostraron, a su vez, que la base para que surja el periodo lábil de memoria en reconsolidación son los receptores NMDA, fundamentales para transformar a una memoria de un estado inactivo o fijo a uno activo o lábil.

Por otro lado, aunque los estudios de reconsolidación típicamente utilizan agentes amnésicos como la anisomicina o inhibidores de receptores NMDA, se ha demostrado que la memoria también puede ser promovida por agentes farmacológicos o eventos externos, dada la reconsolidación (Cocoz y cols., 2013).

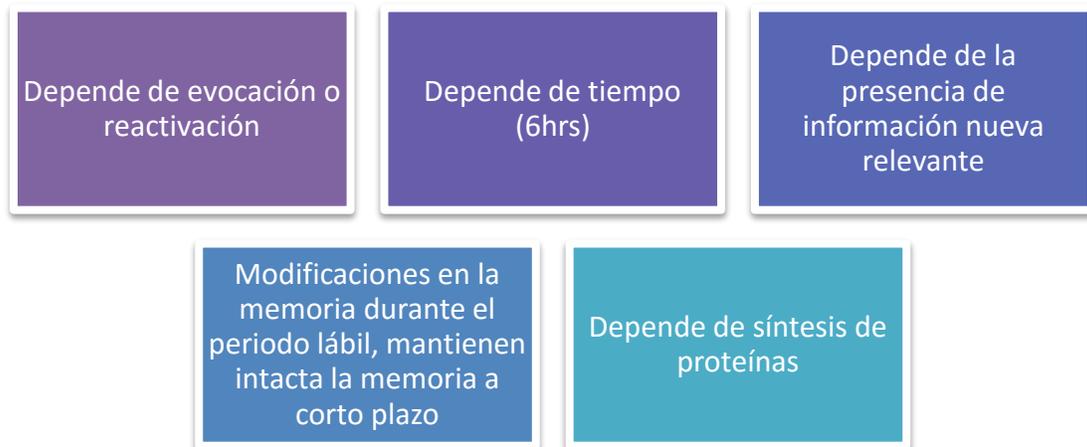


Figura 4. Requerimientos básicos para que ocurra el proceso de reconsolidación. Reconstruido de Nader y Hardt, 2009.

Aunque la demostración original del proceso de reconsolidación (Misanin y cols., 1968) empleó una tarea auditiva de condicionamiento al miedo dependiente principalmente de la amígdala, como ya se ha señalado en este trabajo, el hipocampo posee un papel de importancia en el paso de información a otros sistemas de memoria y en la reactivación o desestabilización. Sin embargo, en tareas donde el hipocampo no es el sistema primordial de memoria en ejecución como en la tarea de inhibición condicionada, la infusión de anisomicina directa al hipocampo dada la reactivación de una memoria consolidada, no da lugar a la amnesia (Taubenfeld y cols., 2001). Mientras que, si en la misma tarea la infusión se administra de manera sistémica en la reactivación, 24 horas después sí hay amnesia (Milekic y Alberini, 2002). En todo caso, el papel del hipocampo en el proceso de reconsolidación en general aún requiere de mayor estudio, pues, aunque en el protocolo descrito de inhibición condicionada la anisomicina intrahipocampal no tiene un efecto

amnésico, la infusión de un inhibidor de NF-Kb, un factor de transcripción, sí resulta en amnesia 24 horas después de la reactivación (Boccia y cols., 2007). En aras de aclarar la función del hipocampo en el proceso de reconsolidación, resulta importante comenzar por analizar a fondo los requerimientos para que el proceso de reconsolidación ocurra en tareas más claramente dependientes de hipocampo, tal como el condicionamiento al miedo contextual, aprendizaje contextual y aprendizaje espacial. En estas 3 últimas tareas está claro que la infusión de anisomicina en el hipocampo dorsal después de la reactivación de la memoria, resulta en la alteración de la reconsolidación, provocando efectos amnésicos a largo plazo (Lee, 2013). Se ha visto también, en la tarea de condicionamiento al miedo contextual, que de acuerdo a la duración del ensayo de reactivación de memoria, el factor de transcripción NF-Kb está involucrado o no en la reconsolidación, pues la inhibición de NF-Kb irrumpe la reconsolidación resultando en amnesia solamente después de un ensayo de reactivación corto (de la Fuente y cols., 2011). En variadas ocasiones la participación de cierta área o molécula en el proceso de reconsolidación se da por los particulares del protocolo en cuestión, siendo que sólo bajo ciertas condiciones es posible desencadenar la reconsolidación. Esto lo demuestra a su vez un estudio de laberinto de agua de Morris en que se comparó el efecto de la anisomicina intrahipocampal en un entrenamiento de 20 o 40 ensayos. Mientras que 24 horas después de la reactivación e infusión de anisomicina el protocolo con entrenamiento de 20 ensayos mostró una reconsolidación de la memoria espacial alterada, causando amnesia, ante el entrenamiento de 40 ensayos la anisomicina no tuvo efecto alguno (Rodríguez-Ortiz y cols., 2008). Esto sugiere que las memorias con un entrenamiento mayor son más resistentes a ser alteradas al reactivarse y que sólo cuando el

contexto actual de una memoria que se reconsolidada aún posee elementos a aprender e integrar, se desencadena reconsolidación (Lee, 2013).

Existen pues, condiciones bajo las que la reconsolidación ocurre o se previene. El estudio de la reconsolidación ha visto ciertas dificultades teóricas como el establecer claramente sus condiciones límite, es decir, las circunstancias fisiológicas, contextuales o psicológicas en que un trazo particular de memoria procede a reconsolidación o no. Algunas de las condiciones límite propuestas son el tiempo de la memoria, la predictibilidad del estímulo reactivador de la memoria consolidada, la intensidad del entrenamiento, entre otras (Lee, 2013; Nader y Hardt, 2009).

Estos puntos reflejan la función del proceso de reconsolidación como un actualizador de la memoria desencadenado sólo cuando es necesario integrar nueva información (Lee, 2009). Es así que en el campo de la reconsolidación existen reportes que ponen en duda los parámetros clásicamente descritos para iniciar el proceso de memoria, siendo una de las preguntas relevantes si es necesario evocar una memoria para que se desencadene la reconsolidación de la misma (Garcia-de-laTorre y cols., 2014).

2.7. Evocación y Reconsolidación

Se ha propuesto que la evocación de una memoria desencadena mecanismos de actualización de memorias previamente consolidadas (Nader, 2000). Si esto es cierto, la inhibición de los receptores relacionados a la evocación de la memoria, AMPA, antes de la reactivación de un trazo de memoria, produciría un efecto de bloqueo de la actualización ante la presencia de algún agente amnésico presentado inmediatamente después de la

reactivación, es decir, al bloquear la evocación se alteraría el efecto de un amnésico administrado post-reactivación. Al no haber evocación, no habría reconsolidación.

Al respecto, Ben Mamou y sus colaboradores (2006) encontraron que, en la tarea de condicionamiento al miedo, el bloqueo con CNQX (inhibidor de receptores AMPA) en la evocación, manifestada por una reducida respuesta de congelamiento ante un tono pareado días antes con un choque eléctrico, no interrumpió el proceso de reconsolidación, ya que la anisomicina administrada en amígdala inmediatamente después de la evocación logró inhibir la conducta de congelación 24 horas después. Como es sabido, la existencia de un periodo lábil de memoria vulnerable a agentes amnésicos evidencia el proceso de reconsolidación. Balderas y cols., (2013) por su parte, encontraron el mismo efecto en la memoria de reconocimiento de objetos, pues ante la presentación de dos objetos, uno familiar y uno nuevo a una rata, ésta recurrió una cantidad equivalente de tiempo a ambos objetos cuando se inyectó anisomicina en la corteza perirrinal inmediatamente después de un ensayo de evocación. Esto independientemente de que se administrará muscimol (agonista del receptor GABA_A) en corteza perirrinal antes del ensayo de evocación. Es así que la anisomicina alteró la reconsolidación ante el bloqueo de la evocación en la tarea de reconocimiento de objetos. Asimismo, Garcia-delaTorre y cols. (2014) hallaron en la amígdala basolateral en la tarea de condicionamiento aversivo al sabor que el bloqueo de la evocación no impide que un inhibidor de receptores NMDA (AP5) bloquee la reconsolidación. De ésta manera, el AP5 con o sin bloqueo de la evocación antes de la reactivación de la memoria, aumentó el consumo de una bebida con sabor asociado a

malestar por LiCl 24 horas post-evocación. Esto sugiere que la reconsolidación y evocación son dos procesos distintos e independientes.

En humanos, Cocoz y sus colaboradores (2013) han encontrado un efecto similar. Tomando en cuenta aspectos como el hecho de que la excitación emocional, el estrés leve, la privación de agua o la exposición a glucosa o fructosa pueden mejorar la memoria ante la reactivación de ésta. Los autores plantearon una tarea de memoria declarativa donde típicamente el desempeño es muy pobre evaluado a los 6 o 20 días posterior al entrenamiento. Bajo dicho paradigma, se administró o un estresor leve o glucosa al término de la prueba (reactivación), a los 6 ó 20 días señalados posteriores al periodo de entrenamiento, con lo que se observó una mejora en el recuerdo un día después a los 7 o 21 días. La importancia del estudio, radica en que el periodo en que se reactivó eficazmente la memoria excedió el periodo en que al hacer una prueba de memoria el contenido puede ser recordado. Lo anterior sugiere, *inter alia* que el acceso consciente a una memoria no es necesario para que ésta se pueda reactivar y en este caso, por tanto, mejorar.

El experimento de Cocoz y cols. (2013) abre la duda sobre si existen dos procesos distintos, uno encargado de la evocación conductual y acceso consciente al contenido de memoria y otro que simplemente reactiva una memoria sin importar si el contenido se hace consciente. Hasta el momento, los conceptos de reactivación y evocación en los estudios sobre reconsolidación han sido manejados indistintamente, cual sinónimos en varios casos, o también como procesos que van juntos y dependen uno del otro, así, por ejemplo, para que los mecanismos de actualización de una memoria se desencadenen es necesaria la

reactivación del trazo de memoria, misma que se produce por su evocación (Rossato y cols., 2007). Con esto, es evidente que falta ganar claridad acerca de los procesos implicados en la evocación y sobre qué es exactamente aquello que desencadena la reconsolidación. Lo que parecen sugerir los estudios hasta ahora, es que el proceso por el que se reestabiliza la memoria es distinto de aquel por el que se expresa una memoria conductualmente al ser evocada y estos procesos son independientes. Aunque este descubrimiento aún requiere demostrarse en varias otras tareas, principalmente en las que tienen un componente espacial o contextual.

3. PLANTEAMIENTO

El estudio de la memoria y los diferentes fenómenos que engloba generalmente aborda sus constructos teóricos-experimentales con base en tareas de memoria cuya neurobiología es altamente entendida. Ejemplos de ello son el condicionamiento aversivo al sabor, condicionamiento al miedo, evitación condicionada, reconocimiento de objetos, condicionamiento de preferencia a lugar y laberinto espacial de Morris, principalmente. Procesos y vías diferentes subyacen a cada uno de esos aprendizajes. Dada la universalidad del proceso de reconsolidación se asume que podrían encontrarse las mismas características definitorias de este fenómeno en cualquiera de las tareas mencionadas. Aún no existen datos concernientes a la memoria espacial en cuanto a la necesidad de la evocación para que ocurra la reconsolidación de la memoria. Asimismo, siendo que la estrategia común en este tipo de estudios es inhibir la síntesis de proteínas, el promoverla también es una estrategia que aporta información importante, por ejemplo, el Butirato de Sodio (NaBu),

inhibidor de deacetilasas de histonas (HDAC), tiene ese efecto. Se ha visto que la acetilación de histonas se relaciona con efectos sobre la memoria y la reconsolidación (Peixoto y Abel, 2013; Federman y cols., 2012), así pues, la inyección i.p. de NaBu antes de un condicionamiento al miedo contextual, mejoró la formación de la memoria a largo plazo en ratas (Levenson y cols., 2004). El NaBu, promueve la expresión de genes y síntesis de proteínas (Nuñez-Jaramillo y cols., 2014), favoreciendo así la mejora o mantenimiento de la memoria.

En el campo de la reconsolidación es interesante saber qué ocurre cuando la manipulación farmacológica es favorable (no amnésica) para el trazo de memoria a reconsolidar. Asimismo, falta evidencia para probar las condiciones límite (ej. independencia de la evocación y reconsolidación) que desencadenan el proceso de reconsolidación en un contexto en el que no se emplean amnésicos. Es así que el problema que a esta investigación compete es la disociación de dos procesos de memoria: evocación y reconsolidación espacial, ¿son estos procesos independientes?

Para evaluar si la reconsolidación de la memoria espacial es independiente de su evocación, en este estudio se emplea una tarea de memoria espacial en el laberinto de agua de Morris. Se administra CNQX (antagonista AMPA) previo a comenzar un ensayo de evocación (ver figura 5). Con esto, se observa si la administración de CNQX, que bloquea la evocación, afecta la posibilidad de modificar farmacológicamente (NaBu) el trazo de memoria a largo plazo (día 5) durante el periodo lábil de la reconsolidación de la memoria a no más de 6 horas después de la fase de evocación.

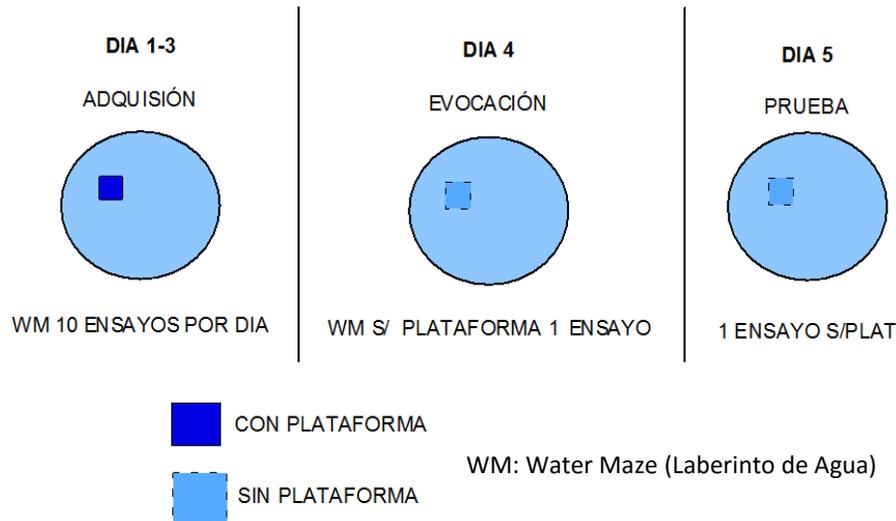


Figura 5. Diagrama de la secuencia de eventos implicados en la tarea de memoria espacial laberinto de agua.

El estudio responde a la necesidad de aportar mayor evidencia para que el conocimiento del fenómeno de reconsolidación sea más consistente (presente en varias estructuras cerebrales y especies animales), replicable y sólido (con la presencia de los controles adecuados), permitiendo de esta forma integrar tratamientos y abarcar de manera clara la amplitud del proceso. En el caso particular de la presente investigación, en la tarea de laberinto espacial de Morris dependiente de hipocampo.

4. JUSTIFICACIÓN

Algunos estudios han comenzado a presentar evidencia sobre que la evocación de la memoria no es necesaria para su reconsolidación y por tanto para su actualización. Hasta el momento se conoce la independencia de ambos procesos de memoria (evocación y reconsolidación) en la corteza insular, la corteza perirrinal y la amígdala en las tareas de reconocimiento de objetos, condicionamiento aversivo al sabor y condicionamiento al

miedo (Ver sección 2.7). En cambio, no existen reportes que aborden la independencia entre la evocación y la reconsolidación en el hipocampo en la memoria espacial y resulta un aporte al campo de investigación de la memoria añadirla al cuerpo de evidencia de tal manera que la hipótesis se contraste en resultados ante la varianza que representa el empleo de distintos protocolos en cada estudio. Esto a su vez permitirá comprender mejor las bases moleculares de la estabilización y desestabilización de la memoria, demarcando la cascada de eventos que preceden a la reconsolidación. Además, que entender el proceso de reconsolidación en el hipocampo es de fundamental importancia, dado que ésta área es particularmente plástica y sus mecanismos de plasticidad sináptica han sido ampliamente estudiados, lo que aporta información de primera mano para el entendimiento de la memoria humana.

En el sentido práctico, el entendimiento de las bases de la labilización de la memoria permitirá mejorar la estructuración necesaria para que tratamientos de trastornos como el de estrés postraumático o de las adicciones mismas, devengan más efectivos.

También cabe destacar que la mayoría de los estudios sobre reconsolidación utilizan agentes amnésicos para identificar el fenómeno, siendo novedoso y complementario a la evidencia el empleo de facilitadores de la memoria como lo son los inhibidores de las deacetilasas de histonas (HDACs). Por último, las investigaciones que emplean fármacos inhibidores de HDACs generalmente son vía intraperitoneal, lo que deja poco para concluir en relación a una estructura cerebral particular y su correlato conductual.

5. OBJETIVOS

5.1. General: Estudiar si la reconsolidación de una memoria es independiente de su evocación en un modelo de memoria espacial, mediante la manipulación farmacológica de HDACs y los receptores glutamatérgicos AMPA en el hipocampo de ratas.

5.2. Corroborar el efecto de CNQX sobre la evocación de la conducta en una tarea de memoria espacial.

5.3. Evaluar el efecto del inhibidor de HDACs, el NaBu, sobre la memoria a largo plazo espacial.

5.4. Evaluar el efecto de la administración intrahipocampal de NaBu sobre la memoria a largo plazo en un protocolo de reconsolidación de la memoria espacial en que la reactivación se bloquea con CNQX.

6. HIPOTESIS

Si una memoria espacial en reconsolidación puede ser actualizada independientemente de que la evocación de la memoria en cuestión sea bloqueada o no, los procesos de evocación y reconsolidación representarán procesos distintos.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1. Animales

Se utilizaron 32 Ratas macho Wistar de 280 a 320 g obtenidas del Bioterio del Instituto de Fisiología Celular y mantenidas individualmente en cajas de acrílico estándar a 21°C en un

ciclo luz/oscuridad de 12 horas. Los procedimientos se llevaron a cabo durante la fase de luz. El alimento se encontró disponible *ad libitum* durante todo el experimento.

7.2. Procedimiento conductual: *Laberinto acuático de Morris*

La tarea se realizó en una alberca negra circular de 1.5 m de diámetro y 1.0 m de altura. La alberca se colocó en un cuarto cerrado, con luz tenue y con señales espaciales alrededor que se mantuvieron constantes. Una plataforma cuadrada de 12.0 cm por lado se localizó en una posición constante en la alberca 1.0 cm por debajo del agua. La temperatura del agua fue de $21\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante cada una de las fases de experimentación.

La tarea conductual consta de 3 etapas, en la primera etapa (día 1-3), se realizó un entrenamiento con 10 ensayos cada día. Cada ensayo constó del ingreso de la rata a la alberca en una posición semialeatoria y se dejó nadar al animal hasta que encontrara la plataforma o cuando el tiempo dentro fuera igual a 60 s (un tiempo mayor dentro de la alberca podría ser contraproducente para establecer un trazo de memoria, pues la rata se fatiga y deja de nadar). Una vez que la rata encontraba la plataforma y se colocaba en ella, se contaban 30 s antes de retirar el animal de la alberca. Posterior a esto, se colocaba la rata durante otros 30 s en una caja de descanso y se procedía al siguiente ensayo en su caso. Si alguna rata no encontraba la plataforma en el tiempo establecido dentro de la alberca, se le guiaba con la mano. En la segunda fase (día 4), 24 horas después de la tercera sesión de entrenamiento se realizó un ensayo de evocación, con la excepción de que ésta vez no hubo plataforma y el animal se retiraba donde se encontrara a los 60 s de haber ingresado. Finalmente, la tercera etapa (día 5), 24 horas después del ensayo de evocación (día 5) se

realizó un ensayo de prueba en las mismas condiciones, sin la plataforma de escape, con el fin de evaluar la reconsolidación de la información adquirida (ver figura 5).

7.3. Cirugía e infusiones

Los animales fueron anestesiados (i.p.) con una dilución de ketamina (90mg/kg) y xilacina (10mg/kg). Posteriormente fueron implantados bilateralmente en el hipocampo dorsal con cánulas (23 ga) de acero inoxidable de 8.0 mm. Las coordenadas desde bregma según el atlas de Paxinos y Watson (1998) fueron: posterior 3.6 mm, lateral ± 3.0 mm y ventral 1.3 mm a partir del cráneo. Las cánulas se fijaron al cráneo con cemento acrílico dental a la vez soportado por dos tornillos quirúrgicos colocados en el cráneo. Todos los procedimientos conductuales se llevaron a cabo al menos 14 días después de la cirugía. Para las microinyecciones bilaterales, se insertaron inyectores (30 ga) en cada cánula 2.0 mm debajo de la punta de ésta. Se administró 1.0 μ l de fármaco por hemisferio cuando correspondía, a una tasa de 1.0 μ l/minuto, y se permitió que el inyector permaneciera en su posición por un minuto más para que difundiera el fármaco. Para controlar la correcta difusión del fármaco, se revisó que al momento de retirar la microjeringa el líquido no regresara a la jeringa o saliera por el borde de la cánula.

7.4. Drogas

Se infundió el antagonista de receptores AMPA, CNQX (SIGMA C239-100MG), 20 minutos antes de la evocación de la memoria espacial en una concentración de 3.0 mM (Winters y Bussey, 2005). Por su parte, el butirato de sodio (NaBu-303410-100G), inhibidor de las HDACs I, II y III, se infundió inmediatamente después de terminado el

ensayo de evocación en una dosis de 10.0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ (Nuñez-Jaramillo y cols., 2014). Se empleó como vehículo solución salina (0.9 %).

7.5. Diseño experimental

Con el fin de evaluar la independencia del efecto del bloqueo de la evocación sobre el efecto que promueve la reconsolidación del trazo de memoria espacial, se dividieron (previo a las manipulaciones experimentales) a las 32 ratas en los siguientes 4 grupos:

1.- Grupo SAL-SAL (N= 8): Recibe inyección intrahipocampal de solución salina (1 $\mu\text{l}/\text{min}$ bilateral) 20 minutos antes e inmediatamente después de la evocación de la memoria espacial. Corresponde a un grupo control para demostrar que la inyección en sí misma y el estrés que acarrea, no producen el efecto que el fármaco tiene sobre la evocación.

2.- Grupo SAL-BUT (N= 8): Administración de solución salina (1 $\mu\text{l}/\text{min}$ bilateral) 20 minutos antes del ensayo de evocación en la tarea espacial y NaBu (1 $\mu\text{l}/\text{min}$ bilateral) inmediatamente después. Corresponde al grupo que demuestra si el NaBu por sí solo (sin afectar la evocación) es capaz de modificar la memoria a largo plazo en reconsolidación.

3.- Grupo CNQX-SAL (N= 8): CNQX (1 $\mu\text{l}/\text{min}$ bilateral) 20 minutos antes de la evocación y solución salina (1 $\mu\text{l}/\text{min}$ bilateral) inmediatamente después. Corresponde al grupo que demuestra el efecto de bloqueo de evocación sin consecuencias hacia el trazo de memoria a largo plazo.

4.- Grupo CNQX-BUT (N= 8): Se administró CNQX (1 $\mu\text{l}/\text{min}$ bilateral) antes del ensayo de evocación e inmediatamente después de terminado el mismo ensayo se inyectó NaBu (1

µl/min bilateral). Corresponde al grupo en que se observa si al bloquear la evocación es posible aún modificar el trazo de memoria a reconsolidarse.

7.6. Histología

Una vez terminados los procedimientos conductuales, los animales se sacrificaron con una sobredosis (0.063 g/kg, i.p.) de pentobarbital sódico (Pisabental) y se perfundieron con solución salina (0.9 %). Posteriormente, se removieron los cerebros y se almacenaron en viales individuales con formaldehído al 4.0 % por al menos 24 horas. Acto seguido, se cambiaron los cerebros a un gradiente de sacarosa del 10, 20 y 30 %, y se procedió a hacer cortes coronales por congelación de 40.0 µm en micrótopo. Los cortes resultantes fueron teñidos con violeta de cresilo para corroborar la correcta localización de las cánulas bajo el microscopio óptico. Para esto se comparó la imagen de las coordenadas objetivo del hipocampo en el atlas estereotáxico con la localización de la cánula observada en el corte. Solamente los animales con un adecuado proceso y localización de cánula se incluyeron en los análisis estadísticos.

7.7. Análisis Estadístico

Previo a las manipulaciones experimentales se comparó con ANOVA de una vía que los 4 grupos de ratas (asignadas a cada grupo aleatoriamente) tuvieran valores similares de latencia (tiempo de llegada a la plataforma) en la adquisición a manera de demostrar la homogeneidad entre los grupos. Para comparar las latencias a la plataforma para cada grupo a través de los ensayos (1-10) en los días de entrenamiento se utilizó un análisis de varianza (ANOVA). También se efectuó un ANOVA de una vía para comparar los cruces, cantidad

de veces que una rata cruza sobre el área de la plataforma en la alberca, durante la evocación y la prueba entre cada uno de los grupos: 1) SAL-SAL, 2) SAL-BUT, 3) CNQX-SAL y 4) CNQX-BUT. Se estimó una $p \leq 0.01$ como significativa. Por último, se efectuaron t de Student para las fases de reactivación y prueba para evaluar el efecto del CNQX y NaBu por sí solos en comparación con la administración de solución salina. Para cada uno de los análisis se evaluaron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas con las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y de Levene respectivamente.

8. RESULTADOS

Una vez realizadas las histologías y confirmada la correcta localización de la cánula implantada sobre el hipocampo dorsal, se excluyeron de los resultados y análisis las ratas cuya cánula no se encontraba sobre el área de interés o cerebros de ratas que se hallaban infectados o con un área extensa de gliosis. Por estas causas se excluyeron 5 ratas del análisis, los grupos quedaron conformados de la siguiente forma: SAL-SAL (n= 8), SAL-BUT (n= 7), CNQX-SAL (n= 7) y CNQX-BUT (n= 5).

8.1. Las latencias a la plataforma disminuyeron del día 1 al 3 del protocolo experimental

El diseño experimental constó de tres fases, 1) Entrenamiento, 2) Evocación y 3) Prueba. En la fase de entrenamiento las ratas redujeron su *latencia* a la plataforma del día 1 al 3, siendo significativas las diferencias en la *latencia* entre los 3 días ($F_{(2,75)} = 52.8$, $p < 0.05$). La prueba post hoc de Fisher demostró diferencias entre el día 1 y 2, $p < 0.01$, día 1 y 3, $p < 0.05$, y día 2 y 3, $p < 0.05$. Asimismo, del ensayo 1 al 10, principalmente del primer día, se

observa una mejora en el tiempo de llegada a la plataforma, patrón que hacia el día 3 resulta en la estabilización de las *latencias* a lo largo de los ensayos 1-10 (Ver fig. 6).

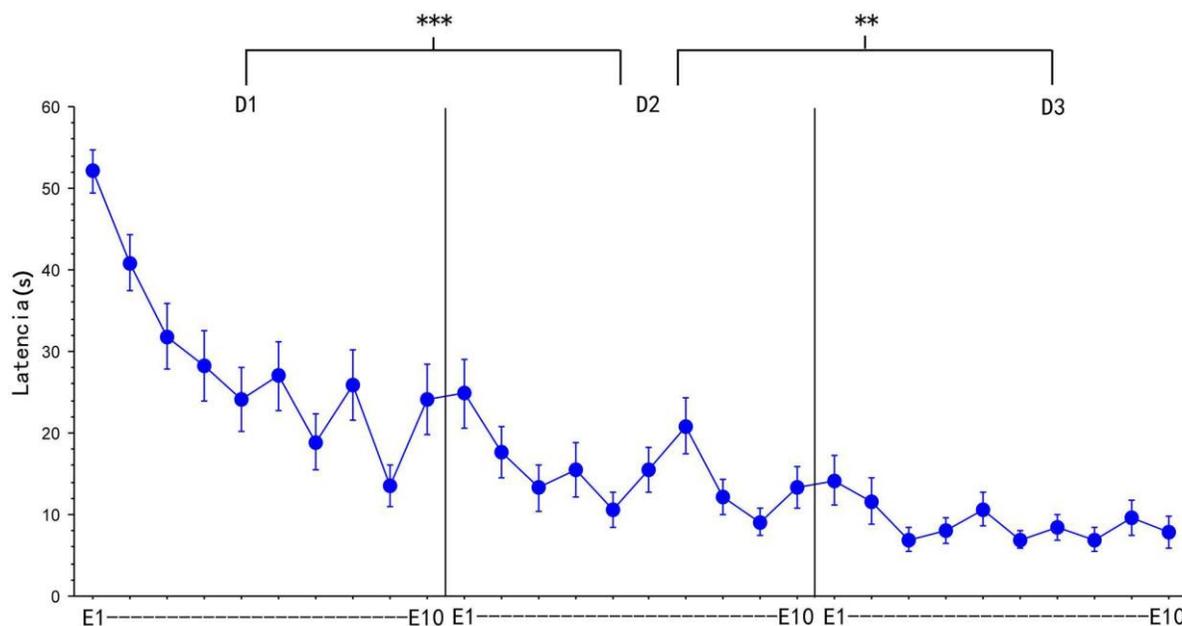


Figura 6. Fase de entrenamiento. Se muestra la latencia (s) hacia la plataforma desde el ingreso a la alberca por parte de las ratas a lo largo de los 3 días de entrenamiento (D1, D2 Y D3). Cada uno de los ensayos, del E1 al E10, representa el promedio de latencia (\pm DS) para dicho ensayo por todas las ratas del diseño experimental ($n=27$, $*** < 0.001$, $** < 0.01$). E= ensayo y D= día.

8.2. La magnitud en latencia entre grupos es homogénea antes de las manipulaciones farmacológicas

Antes de realizar las manipulaciones experimentales, se dividió a las ratas ya entrenadas en 4 grupos con el número de ratas disponible para cada grupo: SAL-SAL ($n= 8$), SAL-BUT ($n= 7$), CNQX-SAL ($n= 7$) y CNQX-BUT ($n= 5$). Con un ANOVA de una vía se comparó a los 4 grupos tomando el promedio de *latencia* de los ensayos del tercer día de entrenamiento para evaluar que el estado del trazo de memoria espacial fuera homogéneo

para los distintos grupos y así, asegurarse de que las diferencias observadas dados los fármacos no son debidas a diferencias ya existentes desde el entrenamiento. Para poder efectuar el ANOVA paramétrico se comprobó que los 4 grupos mostraron una distribución normal usando la prueba Kolmogorov-Smirnov con corrección de Lilliefors: Estadístico para SAL-SAL= 0.262, $p= 0.157$; Estadístico para CNQX-SAL= 0.273, $p= 0.123$; Estadístico para SAL-BUT= 0.293, $p= 0.116$; Estadístico para CNQX-BUT= 0.236, $p= 0.200$. A su vez, con la prueba de Levene se demostró que las varianzas de los grupos fueran homogéneas: estadístico de Levene= 0.276 y $p= 0.842$.

Del ANOVA se obtuvo ($F_{(3,22)} = 0.605$, $p= 0.6186$), lo que demuestra que entre los 4 grupos experimentales no existen diferencias significativas en los promedios de *latencia* del día 3 (Ver figura 7).

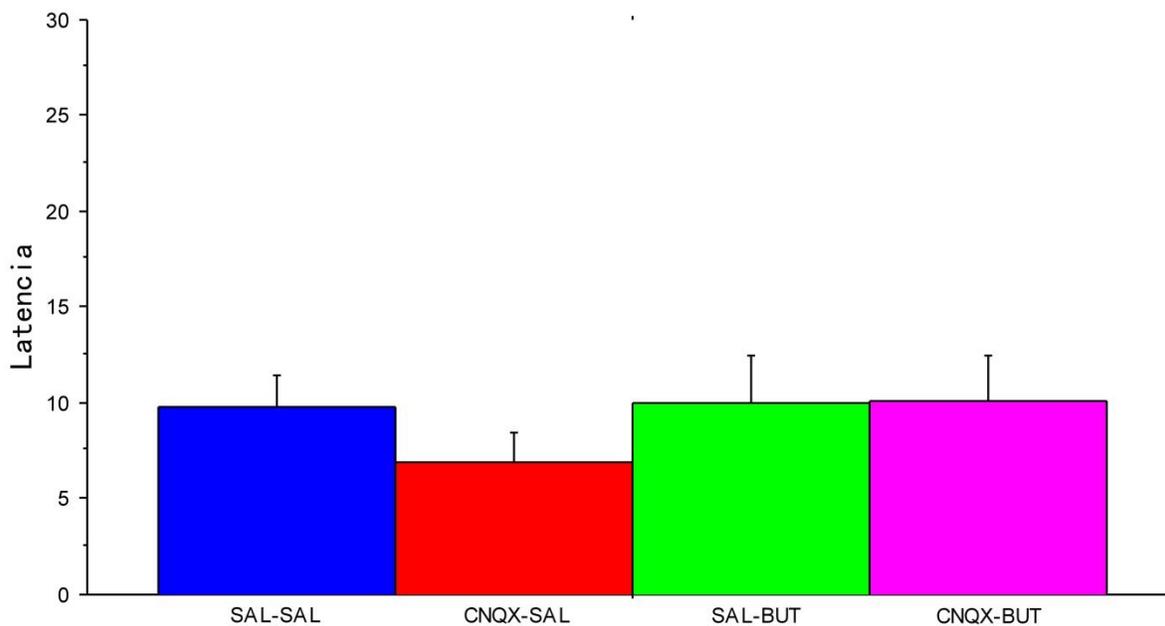


Figura 7. Comparación de medias de latencia (\pm DS) hacia la plataforma para el tercer día de entrenamiento. El promedio de tiempo de llegada a la plataforma en el último día de entrenamiento fue equivalente entre los grupos SAL-SAL, CNQX-SAL, SAL-BUT y CNQX-BUT, con una latencia media aproximada y estable de 10 s. Los datos de las ratas aquí representadas corresponden a animales que aún no han tenido ninguna manipulación farmacológica (n=27; SAL-SAL=8, CNQX-SAL=7, SAL-BUT=7 y CNQX-BUT=5).

8.3. Evocación: CNQX redujo la cantidad de cruces

En la fase de evocación o reactivación se eliminó la plataforma de escape de la alberca, y se dividió el total de 27 ratas en dos grupos para corroborar el efecto del CNQX sobre la memoria de la ubicación de la plataforma de escape. Los dos grupos fueron: ratas inyectadas 20 minutos antes de evocación con solución salina (SAL), y las ratas a las que se les administró CNQX. Para evaluar la normalidad de ambos grupos se aplicó la prueba Kolmogorov-Smirnov, obteniendo un valor de estadístico de 0.179 con una $p= 0.200$ para el grupo SAL (n=15) y un estadístico de 0.253 con una $p < 0.05$ para CNQX. Esto indica

que el grupo CNQX (n=12) no cumple el criterio de normalidad, por lo que se procedió a emplear estadística no paramétrica para el análisis del efecto de CNQX sobre la memoria espacial.

Una prueba U de Mann-Whitney reveló diferencias significativas entre ambos grupos SAL y CNQX en los *cruces* sobre el espacio en que días atrás se encontraba la plataforma ($U=16$, $p < .05$, rango medio SAL= 18.93 y CNQX= 7.83), por lo que la evocación de la memoria asociada a la tarea de laberinto mostró un mejor desempeño conductual para las ratas inyectadas con Salina (Ver figura 8). Maei y sus colegas (2009) han demostrado que los *cruces* son uno de los mejores predictores de memoria espacial en la tarea de laberinto de agua cuando no se posee tecnología de rastreo de punta.

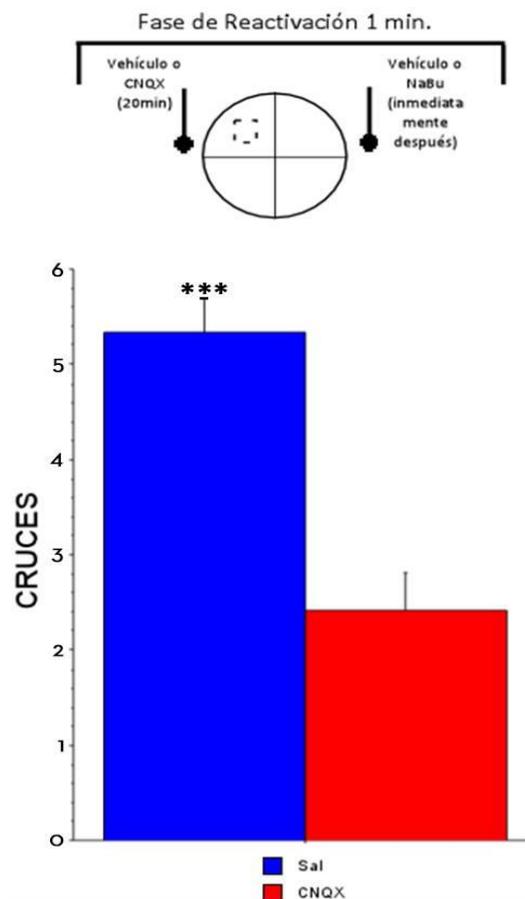


FIGURA 8. Fase de Evocación. Comparación de cruces de espacio de plataforma ante la reactivación de la memoria espacial. El grupo con inyección intrahipocampal con CNQX 20 minutos antes de la fase de evocación demostró menor cantidad de cruces sobre la ubicación de la plataforma de manera significativa en comparación con el grupo inyectado con salina (n=27; SAL=15 y CNQX=12, *** < 0.001).

8.4. Comparación de evocación a prueba en cantidad de cruces

Para poder conocer el cambio en la memoria espacial de la fase de evocación a la de prueba para cada uno de los 4 grupos del diseño experimental con las manipulaciones farmacológicas, se realizaron t de Student pareadas. La tabla 1 comprueba que los supuestos para la utilización de estadística paramétrica se cumplen.

Tabla 1. Comprobación de supuestos para usar estadística paramétrica. Los datos correspondientes a los grupos que conforman la fase de evocación y prueba son normales y la homogeneidad de varianzas es similar entre los grupos. Es posible utilizar estadística paramétrica. Se estima $p < .05$ * como significativa.

Fase	Grupo	Prueba	Estadístico	Significancia	Conclusión
Evocación Cruces	SAL-SAL n=8	Kolmogorov Smirnov	0.172	0.200	Distribución normal
	CNQX-SAL n=7	Kolmogorov Smirnov	0.296	0.063	Distribución normal
	SAL-BUT n=7	Kolmogorov Smirnov	0.176	0.200	Distribución normal
	CNQX-BUT n=5	Kolmogorov Smirnov	0.261	0.200	Distribución normal
		Levene	1.879	0.161	Las varianzas entre los grupos son homogéneas
Prueba Cruces	SAL-SAL n=8	Kolmogorov Smirnov	0.173	0.200	Distribución normal
	CNQX-SAL n=7	Kolmogorov Smirnov	0.257	0.181	Distribución normal
	SAL-BUT n=7	Kolmogorov Smirnov	0.302	0.094	Distribución normal
	CNQX-BUT n=5	Kolmogorov Smirnov	0.246	0.200	Distribución normal
		Levene	0.214	0.886	Las varianzas entre los grupos son homogéneas

En las pruebas t pareadas el grupo SAL-SAL mostró diferencias significativas en la cantidad de *cruces* en la fase de evocación en comparación con la fase de prueba ($t = 5.24$, p

< 0.05). Por otro lado, los grupos restantes no mostraron diferencias estadísticamente significativas en memoria espacial de la fase de evocación a la de prueba ($t= 0.168$, $p= 0.8692$ para el grupo SAL-BUT, $t= -1.75$, $p= 0.1056$ para CNQX-SAL y $t= -1.23$, $p= 0.251$ para CNQX-BUT). Los grupos CNQX-SAL, SAL-BUT y CNQX-BUT demostraron un mantenimiento del estado de la memoria espacial de la fase de evocación a la de prueba, mientras que el grupo SAL-SAL evidenció una disminución del desempeño de memoria (Ver figura 9).

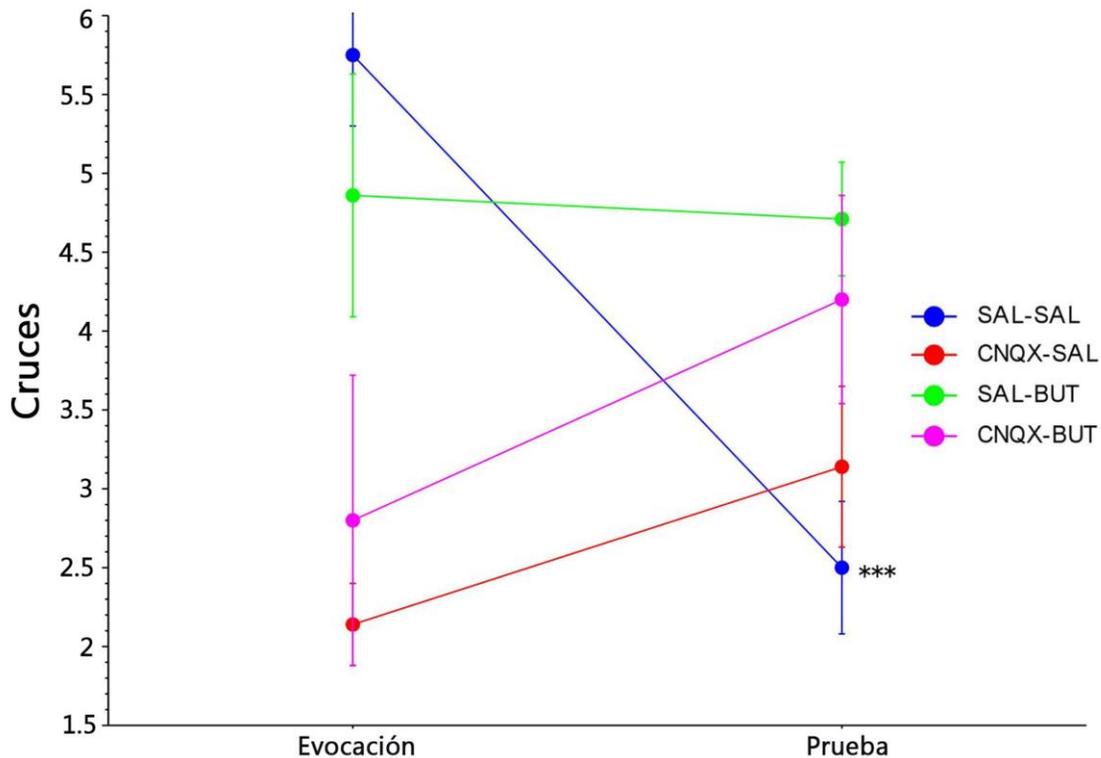


FIGURA 9. Comparación evocación-prueba para cada uno de los grupos del diseño experimental.

Todos los grupos excepto el Sal-Sal, no evidenciaron diferencias estadísticamente significativas entre los cruces sobre el área de la plataforma de escape en la fase de evocación en comparación con la fase de prueba ($n=27$; SAL-SAL=8, CNQX-SAL=7, SAL-BUT=7 y CNQX-BUT=5, *** < 0.001).

8.5. Comparación en cantidad de cruces para la fase de prueba

Por último, se evaluó la independencia de la evocación de la reconsolidación y, por lo tanto, si la memoria en la fase de prueba mejora independientemente de si antes fue administrado CNQX. Se compararon las diferencias en los *cruces* sobre el área de plataforma de escape entre los 4 grupos del diseño experimental con un ANOVA de una vía (los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas se comprobaron, ver tabla 1). Las diferencias entre los grupos experimentales resultaron estadísticamente significativas ($F_{(3, 23)} = 4.71$, $p < 0.05$), por lo que se realizó la prueba de Fisher Post Hoc:

Tabla 2. Estadística de Pruebas Post Hoc para la comparación de cruces en la fase de prueba. Se estima $p \leq 0.05$ * como significativa.

Medias y ESM por grupo	Comparación por Grupos	Valor de p
SAL-SAL= 2.5 ESM= 0.423	SAL-SAL < SAL- BUT	0.0021 **
SAL-BUT= 4.71 ESM= 0.360	SAL-SAL < CNQX- BUT	0.0241 *
CNQX-SAL= 3.143 ESM= 0.508	CNQX-SAL = CNQX-BUT	0.1573
CNQX-BUT= 4.2 ESM= 0.663	CNQX-SAL < SAL- BUT	0.0260 *
	SAL-SAL = CNQX- SAL	0.3250
	SAL-BUT = CNQX- BUT	0.4842

Los análisis demostraron que los grupos inyectados con NaBu postevocación, SAL-BUT y CNQX-BUT, fueron significativamente distintos en los *cruces* en la fase de prueba en comparación con los grupos inyectados con Salina al término de la evocación, SAL-SAL y CNQX-SAL. Excepción de lo anterior es la comparación entre los grupos CNQX-SAL y CNQX-BUT, que no obtuvo diferencias significativas a pesar que el gráfico (figura 10) indica una tendencia cualitativa a menores *cruces* por parte del grupo CNQX-SAL. Por su parte, las comparaciones en *cruces* entre SAL-SAL vs. CNQX-SAL y SAL-BUT vs. CNQX-BUT, obtuvieron *cruces* equivalentes, pues no tuvieron diferencias significativas.

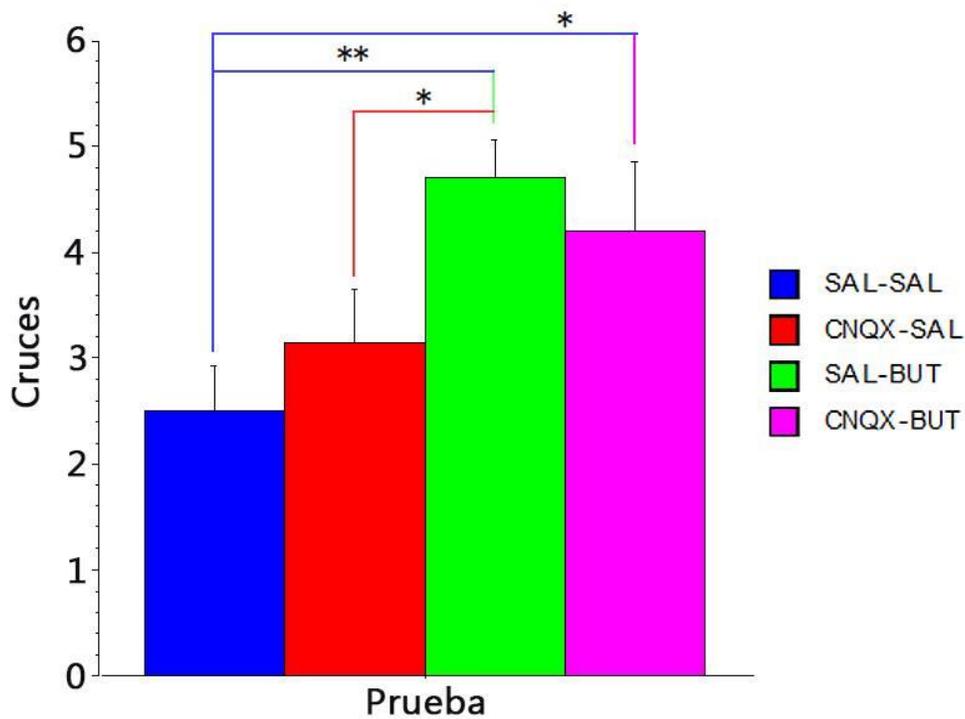


FIGURA 10. Fase de prueba. Comparación de memoria espacial entre los 4 grupos experimentales en la fase prueba. Los grupos inyectados con NaBu postevocación demuestran mayor cantidad de cruces y memoria espacial que los inyectados con Salina (n= 27; SAL-SAL=8, CNQX-SAL=7, SAL-BUT=7 y CNQX-BUT=5, * < 0.05, ** < 0.01).

9. DISCUSIÓN

En aras de derivar conclusiones de las manipulaciones farmacológicas y sus efectos sobre la conducta, es importante primero evidenciar que el protocolo de laberinto de agua empleado resulta en un aprendizaje para las ratas sometidas a la tarea de memoria. La adquisición del aprendizaje espacial fue satisfactoria dado que, 1) las latencias a la plataforma del primer día disminuyen significativamente del ensayo 1 al 10, y 2) hacia el tercer día la latencia es significativamente menor en comparación con el primer día, y además se llega a una asíntota donde del ensayo 1 al 10 ya no existen diferencias significativas. Esto sugiere un aprendizaje estable por parte de las ratas del experimento. A su vez, el aprendizaje, dado el promedio de latencias de tiempo a la plataforma del día 3 de entrenamiento, es equivalente entre los diferentes grupos antes de las manipulaciones farmacológicas (ver figura 7).

En cuanto al efecto del CNQX, que bloquea los receptores AMPA, se corroboró el efecto que otros estudios han observado que posee sobre la evocación de la conducta, es decir, el desempeño conductual en la tarea de laberinto espacial se vio reducido en la fase de evocación para las ratas microinyectadas en el hipocampo dorsal con CNQX, en comparación con aquellas inyectadas con solución salina. Por lo que la microinyección en sí misma y el estrés que pudiera acarrear la manipulación, no produjo el efecto que el fármaco tiene sobre la evocación. A su vez, el NaBu, demostró que al ser administrado intrahipocampalmente se logró obtener un efecto sobre la memoria a largo plazo cuando se realiza la microinyección intrahipocampal inmediatamente después de un ensayo de

evocación. En particular, las ratas administradas con NaBu mostraron un mejor desempeño conductual de cruces por el área de la plataforma en la fase de prueba que las ratas administradas con vehículo (ver figura 10). Esto sugiere que el NaBu, inhibidor de deacetilasas de histonas, mejora el recuerdo de una tarea espacial que se encuentra en reconsolidación, por lo que al reactivarse la memoria no sólo es posible lograr la amnesia, sino también una mejora o mantenimiento de la memoria. Evidencia misma del desencadenamiento del proceso de reconsolidación es que la memoria fue susceptible de modificarse y resultó en una memoria a largo plazo actualizada distinta del grupo control. A lo anterior es importante destacar que la magnitud del efecto sobre la memoria del fármaco CNQX es mayor que el de NaBu, por lo que CNQX tiene un efecto más robusto sobre la manifestación conductual de la memoria.

Una observación detallada de los datos indica que el efecto del NaBu sobre la reconsolidación representa un mantenimiento del trazo de memoria, más que un efecto de mejora de la misma, ya que las ratas inyectadas con NaBu no demuestran una variación significativa en los cruces del ensayo de evocación al de prueba, mientras que las ratas del grupo SAL-SAL, por ejemplo, reducen significativamente los cruces al área de la plataforma de la fase de evocación a la de prueba. Por otro lado, en la figura 9, aunque el grupo CNQX-BUT no mostró diferencias significativas del ensayo de evocación al de prueba en la medida de memoria espacial, cruces; tuvo un estado de memoria equivalente al grupo SAL-BUT en la fase de prueba (comparación estadística en figura 10), lo que refuerza la idea de una función de mantenimiento de la memoria por parte del NaBu.

La figura 9 resulta interesante, pues en primer lugar indica que el protocolo de laberinto de agua empleado lleva a la extinción de la conducta de cruces (ensayos sin plataforma de escape) de la fase de evocación a la de prueba, como se observa en el grupo SAL-SAL. En segundo lugar, se observa que el grupo CNQX-SAL en la fase de prueba tiene una cantidad de cruces equivalente a la del grupo SAL-SAL (comparación estadística en figura 10). Esto sugiere que el proceso de extinción desencadenado normalmente en las ratas inyectadas con vehículo hacia la fase de prueba, también se presenta en las ratas cuya evocación conductual fue bloqueada por CNQX. El proceso de extinción puede surgir con independencia de que el ensayo de extinción (no hay plataforma de escape) resulte en una evocación explícita de lo aprendido. Es probable que la memoria del trazo espacial se esté reactivando, aun cuando no hay evidencia conductual del mismo. De hecho, en el campo de la extinción algunos autores han propuesto el término extinción más allá del cero para hablar de la idea de que el aprendizaje puede continuar más allá del punto en que la conducta aún se expresa, lo que implica que no es necesario un correlato conductual para que persista el aprendizaje (Lattal y Wood, 2013), incluso cuando dicho correlato conductual representa la evocación de una memoria consolidada.

La investigación sugiere que existen dos procesos implicados en la evocación de una memoria, uno que reactiva el trazo y otro que da acceso para su manifestación conductual. A pesar de ser el laberinto de agua una tarea dependiente del hipocampo, es posible que la reactivación este dada por coparticipación con otras áreas cerebrales, o que las partes no infundidas con el fármaco hayan sido suficientes para reactivar la memoria. En cualquier caso, se ha visto incluso en tareas no dependientes del hipocampo como la de

reconocimiento de objetos que el hipocampo tiene una participación en la reconsolidación (Rossato y cols., 2007), lo que sugiere que la memoria consolidada consta de vías de participación de varias áreas que necesariamente se implican en el proceso de reconsolidación al reactivar la memoria. Así, la vía de una memoria reconsolidante conforma varios procesos y áreas que reactivan y dan acceso a la expresión conductual de la memoria. Aún está por investigarse exactamente cómo se controlan dichos procesos. Recuérdese, también, que la visión de sistemas de reconsolidación indica que hay un momento en que una memoria consolidada siendo inicialmente dependiente del hipocampo para su integración, se independiza de ésta área, regresando su participación solamente ante la reactivación y reintegración de información al trazo de memoria (Debiec, LeDoux y Nader, 2002). De esto último resulta interesante que al estar bloqueados los receptores AMPA del hipocampo dorsal durante la fase de evocación del laberinto de agua en la presente investigación, se logré reactivar la memoria de manera que es posible actualizar el trazo y llevarlo a la extinción. Otra área cerebral o del mismo hipocampo podría ser responsable de la reactivación ocurrida. Lo que es claro es que el empleo de los términos reactivación y evocación requiere mayor cuidado y especificación, pues la evidencia indica que constan de procesos distintos. Asimismo, mientras la evocación conductual puede no presentarse para que una memoria pueda ser reactivada, sí es requerida la reactivación del trazo de memoria, pues hasta ahora las investigaciones solamente han bloqueado conductualmente la evocación, pero no hay evidencia de que la memoria realmente no se encuentre activa.

En cuanto a la comparación de los cruces en la fase de prueba para cada uno de los 4 grupos de interés del diseño experimental, es de observar que la ausencia de diferencias significativas en los cruces sobre el área de la plataforma de escape entre el grupo CNQX-SAL y SAL-SAL en la fase de prueba demuestra que el bloqueo agudo de la evocación conductual con un inhibidor de receptores AMPA no tiene consecuencias hacia el trazo de memoria a largo plazo. También es posible observar en la figura 10 que los grupos inyectados con NaBu postevocación, SAL-BUT y CNQX-BUT resultaron significativamente distintos en cruces en la fase de prueba cuando se compararon con los grupos inyectados con Salina al término de la evocación, SAL-SAL y CNQX-SAL, a excepción de la comparación del grupo CNQX-SAL con CNQX-BUT. Estos datos merecen tomarse con precaución, pues lo encontrado demuestra una necesidad de mayor claridad para ser concluyentes. Mientras que dos datos sugieren que el proceso de reconsolidación se desencadena a pesar de estar bloqueada la evocación conductual: 1) el grupo CNQX-BUT es significativamente distinto en cruces del grupo SAL-SAL en la fase de prueba, y 2) el grupo CNQX-BUT en la misma fase no difiere significativamente en cruces del grupo SAL-BUT; otro dato sugiere lo contrario, el hecho de que el grupo CNQX-BUT no se distinguió de manera significativamente en memoria espacial del grupo CNQX-SAL. El contraste de evidencia impide llegar a una conclusión definitiva, sin embargo, las tendencias de los gráficos de las figuras 9 y 10 parecen indicar que los grupos de ratas microinyectadas con NaBu poseen una inclinación a mejor memoria espacial en la fase de prueba que los grupos inyectados con solución salina. La independencia de la evocación conductual del desencadenamiento de la reconsolidación se ha probado en varias tareas y

áreas (Ben Mamou, Gamache y Nader, 2006; Balderas, Rodriguez-Ortiz y Bermúdez-Rattoni, 2013; Barreiro y cols., 2013; Cocoz y cols., 2013; Garcia-delaTorre, Pérez-Sánchez, Guzmán-Ramos y Bermúdez-Rattoni, 2014), por lo que la evidencia preliminar de este estudio parece indicar que también la condición límite de independencia de evocación conductual y reconsolidación aplica para la memoria espacial. Evidencia añadida es que incluso con la evocación conductual bloqueada, se pudo modificar una memoria consolidada de manera significativa en el caso del grupo CNQX-SAL, que extinguió su conducta.

Algunas de las ideas que podrían explicar la falta de una mayor claridad en la fase de prueba para distinguir en su medida de memoria espacial al grupo CNQX-BUT del CNQX-SAL son: 1) La magnitud del efecto (no tan robusto) de NaBu sobre la conducta y el trazo de la memoria. Ante el protocolo presente en que el ensayo de reactivación posee las características de un protocolo de extinción (no hay plataforma de escape-estímulo condicionado), el efecto de NaBu sobre la reconsolidación de la memoria favoreció el trazo adquirido durante el entrenamiento (que indica que si hay una plataforma de escape), lo que indica que puede haber dos trazos en competencia ante la actualización, más que la simple integración de información añadida al trazo de memoria original. Este hecho posiblemente limite la magnitud del efecto del NaBu sobre la memoria, pues hay dos trazos incompatibles que pueden mejorarse. 2) La cantidad de ratas final en el grupo CNQX-BUT, que tuvo pocas ratas (5) en comparación con los demás grupos. 3) El empleo de indicadores de memoria espacial que pierden datos importantes. Maei, Zaslavsky, Teixeira y Frankland (2009) han indicado que siendo los cruces una buena medida de la memoria espacial, la

mejor medida posible es la media de proximidad a la plataforma de escape, ya que toma en cuenta mayor cantidad de datos que reflejan memoria espacial sin necesidad de tocar precisamente el área donde se encontraba la plataforma durante el entrenamiento. 4) Y finalmente, quizás una reactivación por modificación de señales distales, además del retiro de la plataforma, ayude a desencadenar mejor la reconsolidación al tener más recursos nuevos a actualizar.

Sirvan los resultados en relación al NaBu de esta investigación como evidencia preliminar de la plausibilidad de la independencia de los procesos de evocación y reconsolidación en la memoria espacial. Poniéndose de manifiesto, hasta ahora, que la administración de NaBu intrahipocampal ante la reactivación de una memoria espacial consolidada, es capaz de mantener el estado de la misma estable a largo plazo sin importar que el ensayo de reactivación se encuentre bloqueado por CNQX (figura 9). Por otro lado, sirvan los datos como comprobación que un trazo de memoria puede actualizarse hacia la extinción con independencia de una reactivación explícita. En futuras investigaciones será importante tomar un fármaco promotor de la memoria que posea un efecto más robusto sobre la memoria reconsolidante, probar protocolos en los que se modifique la ubicación de la plataforma ante la reactivación de manera que pueda observarse si un promotor de memoria irrumpe con el trazo de memoria original o el de la nueva ubicación de la plataforma y ahondar en los procesos moleculares subyacentes a la reactivación de memoria que no tiene un correlato conductual externo.

10.CONCLUSIÓN

El papel del bloqueo de los receptores AMPA en el hipocampo en la disminución de evidencia de evocación conductual de la memoria queda de manifiesto en la tarea de laberinto espacial. Lo que no implica que se esté bloqueando, a su vez, la reactivación en sí de la memoria. Los procesos de reactivación y evocación manifiesta de la memoria son distintos, y hace falta mayor investigación al respecto a cómo se da la reactivación y cuáles son sus marcadores a nivel celular.

La administración de NaBu intrahipocampal, por su parte, demostró que ante la reactivación de una memoria espacial consolidada, es capaz de mantener el estado de la misma estable a largo plazo sin importar que el ensayo de reactivación incorpore información que lleve a la extinción. Esto sugiere que ante trazos de memoria en competencia, el que posee mayor entrenamiento anterior resulta favorecido por un promotor de memoria ante la reconsolidación.

De manera importante, la presente investigación demuestra también que la información espacial ya consolidada puede ser reactivada y actualizada, incluso hacia la extinción, independientemente de que el trazo de memoria se exprese conductualmente. Puede ocurrir la extinción aun cuando el ensayo de reactivación correspondiente a un ensayo de extinción sea bloqueado conductualmente. Sin embargo, sólo hay evidencia preliminar que indica que ante el bloqueo de la evocación conductual es posible promover la memoria con la administración de NaBu intrahipocampal. Otros fármacos con efectos más robustos sobre el aumento de la memoria podrían resultar en datos más contundentes. Los datos, en su

conjunto, demuestran que la evocación conductual de la memoria y el desencadenamiento del proceso de reconsolidación son independientes en la memoria espacial.

Aún hay mucho que entender sobre las particularidades del desencadenamiento de la reconsolidación. Está claro cuáles son las ventanas por las cuales hace falta nueva investigación, involucrando por ejemplo los mecanismos moleculares subyacentes a memorias que no se expresan conductualmente, pero están activas, comenzar a evaluar la participación conjunta de varias áreas en un mismo trazo en reconsolidación, y evaluar el efecto de modificadores de memoria ante trazos de memoria en competencia cuando se reactiva la memoria, sentando las bases de cómo el sistema elige qué información actualizar y cómo ocurre.

11.REFERENCIAS

Alberini CM. 2005. Mechanisms of memory stabilization: are consolidation and reconsolidation similar or distinct processes? *TINS* **28**: 51-56.

Anggono, V. y Huganir RL. 2012. Regulation of AMPA receptor trafficking and synaptic plasticity. *Curr op neurobiology* **22**: 461-469.

Balderas I, Rodriguez-Ortiz CJ y Bermudez-Rattoni F. 2013. Retrieval and Reconsolidation of Object Recognition Memory are Independent Processes in the Perirhinal Cortex. *Neuroscience* **253**: 398-405.

Barreiro KA, Suárez LD, Lynch VM, Molina VA y Delorenzi A. 2013. Memory expression is independent of memory labilization/reconsolidation. *Neurobiol Learn Mem* **106**: 283-291.

Bast T, da Silva BM y Morris RG. 2005. Distinct contributions of hippocampal NMDA and AMPA receptors to encoding and retrieval of one-trial place memory. *J Neurosci* **25**: 5845-5856.

Bear MF, Connors BW y Paradiso MA. 2007. *Neuroscience: Exploring the Brain*. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore.

Ben Mamou C, Gamache K y Nader K. 2006. NMDA receptors are critical for unleashing consolidated auditory fear memories. *Nat Neurosci* **9**: 1237-1239.

Boccia M, Freudenthal R, Blake M, de la Fuente V, Acosta G, Baratti C y Romano A. 2007. Activation of hippocampal nuclear factor-kappa B by retrieval is required for memory reconsolidation. *J Neurosci* **27**, 13436-13445.

Carlson NR. 2005. Fisiología de la Conducta. España: Pearson Addison-Wesley.

Cocoz V, Sandoval AV, Stehberg J, y Delorenzi A. 2013. The temporal dynamics of enhancing a human declarative memory during reconsolidation. *Neuroscience* **246**: 397-408.

Curran, HV. 2014. Declarative and Nondeclarative Memory. In *Encyclopedia of Psychopharmacology*, pp.1-7. London, UK: Springer.

Daumas S, Halley H, Francés B y Lassalle JM. 2005. Encoding, consolidation, and retrieval of contextual memory: Differential involvement of dorsal CA3 and CA1 hippocampal subregions. *Learn mem* **12**: 375-382.

Debiec J, LeDoux JE y Nader K. 2002. Cellular and Systems Reconsolidation in the Hippocampus. *Neuron* **36**, 527-538.

De la Fuente V, Freudenthal R y Romano A. 2011. Reconsolidation or extinction: transcription factor switch in the determination of memory course after retrieval. *J Neurosci* **31**, 5562-5573.

Dudai Y. 2004. The neurobiology of consolidation, or, how stable is the engram? *Annu Rev Psychol* **55**: 51-86.

Dudai Y. 2006. Reconsolidation: the advantage of being refocused. *Curr Opin Neurobiol* **16**: 174-178.

Dudai Y. 2012. The Restless Engram: Consolidations Never End. *Annu Rev Neurosci* **35**: 227-247.

Eichanbaum H. 2011. *The Cognitive Neuroscience of Memory: An introduction*. Oxford University Press, UK.

Eichenbaum H, Schoenbaum G, Young B y Bunsey M. 1996. Functional organization of the hippocampal memory system. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **93**: 13500-13507.

Eichenbaum H, Stewart C y Morris RG. 1990. Hippocampal representation in place learning. *J Neurosci* **10**: 3531-3542.

Eldridge LL, Knowlton BJ, Furmanski CS, Bookheimer SY y Engel SA. 2000. Remembering episodes: a selective role for the hippocampus during retrieval. *Nat Neurosci* **3**: 1149-1152.

Ellis O. 2013. Learning, Cognition and Memory. In *Essentials of Educational Psychology*, third edition, pp. 17-53. Pearson, University of Northern Colorado.

Federman N, Fustiñana MS y Romano A. (2012). Reconsolidation involves histone acetylation depending on the strength of memory. *Neuroscience* **219**: 145-156.

Garcia-de-la-Torre P, Pérez-Sánchez C, Guzmán-Ramos K y Bermúdez-Rattoni F. 2014. Role of glutamate receptors of central and basolateral amígdala nuclei on retrieval and reconsolidation of taste aversive memory. *Neurobiol Learn Mem* **111**: 35-40.

Good M. 2002. Spatial Memory and Hippocampal Function: Where are we now? *Psicológica* **23**: 109-138.

Hebb D. 1949. *The Organization of Behavior. A Neuropsychological Theory*. John Wiley & Sons, USA.

Henke K. 2010. A model for memory systems based on processing modes rather than consciousness. *Nat Rev Neurosci* **11**: 523-532.

Holt W y Maren S. 1999. Muscimol inactivation of the Dorsal Hippocampus Impairs Contextual Retrieval of Fear Memory. *J Neurosci* **19**, 9054-9062.

Kahana MJ, Howard MW y Polyn SM. 2008. Associative retrieval processes in episodic memory. In *Cognitive psychology of memory. Vol. 2 of Learning and memory: A comprehensive reference*. Elsevier, Oxford.

Kiernan JA. 2012. Anatomy of the Temporal Lobe. *Epilepsy Res Treat* **2012**:1-12.

Kentros C, Hargreaves E, Hawkins RD, Kandel ER, Shapiro M y Muller RV. 1998. Abolition of long-term stability of new hippocampal place cell maps by NMDA receptor blockade. *Science* **280**: 2121-2126.

Kumaran D. 2008. Short-Term Memory and the Human Hippocampus. *J Neurosci* **28**: 3837-3838.

Lattal KM y Wood MA. 2013. Epigenetics and persistent memory: implications for reconsolidation and silent extinction beyond the zero. *Nat Neurosci* **16**, 124-129.

Lee J y Hynds RE. 2013. Divergent cellular pathways of hippocampal memory consolidation and reconsolidation. *Hippocampus* **23**: 233-244.

Lee LC. 2009. Reconsolidation: maintaining memory relevance. *TINS* **32**, 413-420.

Lee LC. 2013. Mechanisms and Functions of Hippocampal Memory Reconsolidation. In *Memory Reconsolidation*, p.p. 43-68. Academic Press, UK.

Levenson JM, O'Riordan KJ, Brown KD, Trinh MA, Molfese DL y Sweatt DJ. (2004). Regulation of histone acetylation during memory formation in the hippocampus. *JBC* **279**: 40545-40559.

Liang KC, Hon W, Tyan YM, y Liao WL. 1994. Involvement of hippocampal NMDA and AMPA receptors in acquisition, formation, and retrieval of spatial memory in the Morris water maze. *Chinese J Physiol* **37**: 201–212.

Lopez J, Gamache K, Schneider R y Nader K. 2015. Memory Retrieval Requires Ongoing Protein Synthesis and NMDA Receptor Activity-Mediated AMPA Receptor Trafficking. *J Neurosci* **35**, 2465-2475.

Maei HR, Zaslavsky K, Teixeira CM y Frankland PW. 2009. What is the most sensitive measure of water maze probe test performance? *Front Int Neurosci* **3**, 1-9.

McGaugh JL. 2000. A century of consolidation. *Science* **287**: 247-251.

Milekic MH y Alberini CM. 2002. Temporally graded requirement for protein synthesis following memory reactivation. *Neuron* **36**, 521-525.

Milner B, Squire LR y Kandel ER. 1998. Cognitive Neuroscience and the Study of Memory. *Neuron* **20**: 445-468.

Misanin JR, Miller RR y Lewis DJ. 1968. Retrograde amnesia produced by electroconvulsive shock after reactivation of a consolidated memory trace. *Science* **324**, 554-555.

Morgado Bernal I. 2005. Psicobiología del aprendizaje y la memoria. *CIC* **10**: 221-233.

Morris RG. 1981. Spatial localization does not require the presence of local cues. *Learn Motiv* **12**: 239-260.

Nader K y Einarsson EO. 2010. Memory reconsolidation: an update. *Ann Ny Acad Sci* **1191**: 27-41.

Nader K y Hardt O. 2009. A single standard for memory: the case for reconsolidation. *Nat Rev Neurosci* **10**: 224-234.

Nader K, Schafe GE y LeDoux JE. 2000. The labile nature of consolidation theory. *Nat Rev Neuroscience* **1**: 216-219.

Núñez-Jaramillo L, Reyes-López J y Miranda MI. 2014. Sodium butyrate into the insular cortex during conditioned taste-aversion acquisition delays aversive taste memory extinction. *Neuroreport* **25**: 386-390.

Paller KA. 2009. Memory consolidation: systems. In *Encyclopedia of Neuroscience*, pp. 741-749. Academic Press, Oxford.

Paxinos G y Watson C. 1998. *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Academic Press, California.

Peixoto L y Abel T. (2013). The role of histone acetylation in memory formation and cognitive impairments. *Neuropsychopharmacology* **38**: 62-76.

Purves D. 2008. *Neurociencia*. Madrid: Panamericana.

Ramón y Cajal S. 1909. *Histologie du Système Nerveux de L'homme & des Vertébrés*. A. Maloine, Paris.

Riccio DC, Millin PM y Bogart AR. 2006. Reconsolidation: a brief history, a retrieval view, and some recent issues. *Learn Memory* **13**: 536-544.

Rodríguez-Ortiz CJ, García-DeLaTorre P, Benavidez E, Ballesteros MA y Bermúdez-Rattoni F. 2008. Intrahippocampal anisomycin infusions disrupt previously consolidated spatial memory only when memory is updated. *Neurobiol Learn Mem* **89**: 352-359.

Rodríguez-Ortiz CJ. 2007. Memory Reconsolidation or Updating Consolidation? In *Neural Plasticity and Memory: From Genes to Brain Imaging*. CRC Press, Boca Raton.

Rossato JI, Bevilacqua LR, Myskiw JC, Medina JH, Izquierdo I y Cammarota M. 2007. On the role of hippocampal protein synthesis in the consolidation and reconsolidation of Object Recognition Memory. *Learning & Memory* **14**, 36-46.

Rugg MD y Wilding EL. 2000. Retrieval processing and episodic memory. *Trends Cogn Sci* **4**: 108-115.

Sasaki T, Leutgeb S y Leutgeb JK. 2015. Spatial and memory circuits in the medial entorhinal cortex. *Curr opin neurobiology* **32**: 16-23.

Schafe GE y LeDoux JE. 2000. Memory Consolidation of Auditory Pavlovian Fear Conditioning Requires Protein Synthesis and Protein Kinase A in the Amygdala. *J Neurosci* **20**: 1-5.

Schultz C y Engelhardt M. 2014. Anatomy of the hippocampal formation. *Front Neurol Neurosci* **34**: 6-17.

Shapiro LM y Eichenbaum H. 1999. Hippocampus as a Memory Map: Synaptic Plasticity and Memory Encoding by Hippocampal Neurons. *Hippocampus* **9**: 365-384

Shema R, Sacktor TC y Dudai, Y. 2007. Rapid erasure of long-term memory associations in the cortex by an inhibitor of PKM zeta. *Science* **17**: 951-953.

Shors TJ y Matzel LD. 1997. Long-term potentiation: What's learning got to do with it? *Behav brain sci* **20**: 597-655.

Smith EE y Kosslyn SM. 2006. *Cognitive Psychology*. USA: Pearson.

Soeter M y Kindt M. 2011. Disrupting Reconsolidation: Pharmacological and Behavioral manipulations. *Learn Memory* **18**: 357-366.

Sprenger M. 1999. *Learning & Memory. The Brain in Action*. Association for Supervision and Curriculum Development, USA.

Squire LR. 2004. Memory systems of the brain: A brief history and current perspective. *Neurobiol Learn Mem* **82**: 171-177.

Sternberg RJ y Sternberg K. 2012. *Cognitive Psychology*. USA: Wadsworth Cengage Learning.

Taubenfeld SM, Milekic MH, Monti B y Alberini CM. 2001. The consolidation of new but not reactivated memory requires hippocampal C/EBP beta. *Nat Neurosci* **4**, 813-818.

Tronson NC y Taylor JR. 2007. Molecular mechanisms of memory reconsolidation. *Nat Rev Neurosci* **8**: 262-275.

Tulving E. 2000. Memory: An overview. In *Encyclopedia of psychology*, Vol. 5, pp. 161–162. American Psychological Association, Washington.

Vorhees CV y Williams MT. 2006. Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of memory. *Nat Protoc* **1**: 848-858.

White NM y McDonald RJ. 2002. Multiple parallel memory systems in the brain of the rat. *Neurobiol Learn Mem* **77**: 125–184.

Wiltgen BJ, Zhou M, Cai Y, Balaji J, Guzman Karlson M, Parivash SN, Li W y Silva AJ. 2010. The hippocampus plays a role in the retrieval of detailed context memories. *Curr Biol* **20**: 1336-1344.

Winters BD y Bussey TJ. 2005. Glutamate Receptors in Perirhinal Cortex Mediate Encoding, Retrieval, and Consolidation of Object Recognition Memory. *J Neurosci* **25**: 4243-4251.

Yasoshima Y, Yamamoto T y Kobayashi K. 2005. Amygdala-dependent Mechanisms Underlying Memory Retrieval of Conditioned Taste Aversion. *Chem Senses* **30**: 158-159.