



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

PARTICIPACIÓN DEL LÓBULO TEMPOROMEDIAL EN LA CONSOLIDACIÓN DE LA MEMORIA DE RECONOCIMIENTO: OBJETOS Y CONTEXTO.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G A

P R E S E N T A :

PALOMA SALGADO TONDA

DIRECTOR DE TESIS:

LIC. EN PSIC. ARIANA ISRAELA BALDERAS MORENO



FACULTAD DE CIENCIAS
U.N.A.M.

2007



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

Hoja de Datos del Jurado.

1. Datos del alumno

Salgado

Tonda

Paloma

56 61 18 76

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Ciencias

Biología

402118561

2. Datos del tutor

Lic en Psic

Ariana Israela

Balderas

Moreno

3. Datos del sinodal 1

Dr

Luis Felipe

Jiménez

García

4. Datos del sinodal 2

Dra

María de Lourdes

Segura

Valdez

5. Datos del sinodal 3

Lic en IBB

Carlos de Jesús

Rodríguez

Ortiz

6. Datos del sinodal 4

Biol

Alberto

Camacho

Morales

7. Datos del trabajo escrito

Participación del lóbulo temporomedial en la consolidación de la memoria
reconocimiento: objetos y contexto.

29 p

2007

Agradecimientos:

Este trabajo se realizó en el laboratorio de Neurobiología del Aprendizaje y Memoria del Instituto de Fisiología Celular de la Universidad Nacional Autónoma de México, con el apoyo económico del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) 42657/A-1 y de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA-UNAM) IN220706.

Un especial agradecimiento a la Psic. Ariana Israela Balderas Moreno, quien dirigió este proyecto, por su eterna paciencia, todo su tiempo y por compartir este trabajo conmigo. Por no sólo ser una excelente tutora sino también mi amiga.

Al Dr. Federico Bermúdez Rattoni, por permitirme ser parte de este laboratorio. Muchas gracias.

Al Dr. Luis Felipe Jiménez y la Dra. Lourdes Segura, por aceptar ser parte de este trabajo y por ser de los maestros, los mejores.

Al Lic. En I.B.B. Carlos Rodríguez Ortiz y al Biol. Alberto Camacho Morales, por ser una buena guía siempre y tomarse el tiempo de enseñarme.

A todos los del laboratorio que me ayudaron tanto en el trabajo como haciendo los días más amenos. A Pachus, Pamela, Luis, Kioko, Adrian, Ilse. Por tantos días de plática y compañía.

A Vanesa, por literalmente ser mi lado derecho durante 2 años y medio. Por ser siempre risa y buen consejo. Te extraño.

A la UNAM, por ser de los orgullos más grandes de este país. Por representarnos, por acogernos, por ser una *Alma Mater* en todo sentido.

Las dedicatorias cursis

Esto es principalmente para y por mis papás. Por ser ambos, la base de toda mi historia. Por enseñarme lo incondicional.

A mis hermanos de sangre: Cusi, Pao y Ale. A Cusi por ser mi alma gemela, a Pao por nunca dejarme estar sola y confiar tanto en mí y a Ale, por ser hasta la fecha, mi compañero de juego y por entenderme como nadie. A los tres, que son lo indispensable en mi vida.

A Lucas, Emilio y Nicolás, por hacerme una persona importante en sus vidas, sin juicios ni exigencias. Por enseñarme todo un lado desconocido en mí.

A los hermanos adoptivos Lia, Martín, Daniel y Karla. Por que simplemente me cuesta acordarme de mi vida antes de que aparecieran ustedes. Por tantos años y tantas historias.

Al primo Gerardo, por crecer junto conmigo, por siempre estar.

A mi guerita, llámese Raúl, por ser mi otro yo. A la Mariposa, Atenea, Anabola, Yunuen, Yvs y Julio por estar conmigo incondicionalmente y darme mis cachetadas cuando lo he necesitado.

A Márquez, por ser de los amigos el mejor, por toda la compañía y todos los buenos ratos, por siempre quererme tanto.

A los amigos irremplazables, Valeria, Matute, Rikin, Alvaro, Cota, Santos y Maria José.

Al Pachus, ni que decir. Por tanta carcajada mano y por que no hubiera sobrevivido estos últimos años sin usted.

A Julián por todavía hacerme reír como nadie, con sólo acordarme. A Tata, por hacer de mi infancia un cuento.

A Santiago.

How happy is the blameless vestal's lot!
The world forgetting, by the world forgot.
Eternal sunshine of the spotless mind!
Each pray'r accepted, and each wish resign'd.

Alexander Pope

Índice

Resumen

1. Introducción

1.1. Aprendizaje y Memoria.....	2
1.2. Clasificación de la Memoria.....	3
1.2.1. Memoria declarativa y Memoria no declarativa.....	3
1.3. Memoria de Reconocimiento.....	4
1.4. Estructuras que participan en la memoria de reconocimiento.....	5
1.5. Paradigma de reconocimiento de objetos.	7

2. Hipótesis

2.1. Predicciones.....	9
2.2. Objetivos.....	9

3. Material y Método.

3.1. Sujetos.....	10
3.2. Cirugía.....	10
3.3. Conducta.....	10
3.4. Tarea de Reconocimiento de Objetos.....	11
3.5. Microinyecciones.....	13
3.6. Histología.....	13
3.7. Fármacos.....	13
3.8. Análisis Estadístico.....	14

4. Resultados

4.1. Estandarización del protocolo experimental.....	15
4.2. Experimentos con inyección en corteza insular.....	16
4.3. Experimentos con inyección en corteza perirrinal.....	18
4.4. Experimentos con inyección en el hipocampo.....	20
4.5. Experimentos con inyección en amígdala.....	22
4.6. Histología.....	24

5. Discusión.....

25

6. Referencias.....

29

Resumen

El lóbulo temporo-medial participa directamente en la memoria de reconocimiento y que las distintas estructuras que lo conforman participan de manera diferencial en la formación de esta memoria. La memoria de reconocimiento es la habilidad de discriminar entre lo familiar y lo novedoso y se sugiere que está formada por dos componentes: (1) el reconocimiento de lo familiar (estímulo antes experimentado) y (2) el reconocimiento de contexto (la relación espacio-temporal de los estímulos). En este trabajo se investigó la participación de las cortezas insular y perirrinal así como del hipocampo y la amígdala en la memoria de reconocimiento. En específico en la memoria de reconocimiento de objetos utilizando el paradigma propuesto por Ennaceur y Delacour (1988).

Para que la memoria de corto plazo se convierta en memoria de largo plazo, se necesita de un proceso de consolidación, el cual requiere de síntesis de proteínas. Si esta síntesis de proteínas no ocurre, la memoria no se convertirá en una memoria estable y no será de largo plazo. En este estudio se inhibió la síntesis de proteínas mediante el uso del fármaco anisomicina en las estructuras antes mencionadas con el fin de evaluar si participan en el proceso de consolidación de la memoria. Los resultados muestran que tanto en la corteza perirrinal como en la corteza insular, la inhibición de la síntesis de proteínas afecta la formación de la memoria de reconocimiento de objetos a largo plazo, mientras que en el hipocampo y la amígdala no. Con esto se puede concluir que, de las estructuras aquí estudiadas, sólo la corteza perirrinal y la corteza insular participan en la consolidación de la memoria de reconocimiento de objetos. Se discute la participación disociada de las estructuras del lóbulo temporo-medial en la formación de la memoria de reconocimiento.

Abreviaturas

AMI	Amígdala
ANI	Anisomicina
ASCF	Líquido Cefalorraquídeo Artificial
CI	Corteza Insular
HIP	Hipocampo
MCP	Memoria de corto plazo
MLP	Memoria de largo plazo
PHR	Corteza perirrinal
VH	Vehículo

Introducción

1.1. Aprendizaje Y Memoria.

Los acontecimientos del pasado son los que forman la vida en muchos aspectos. Las culturas, los individuos y las especies son formados por la memoria genética y neuronal entre otras (Dudai *et al.* 1990). La conducta de los organismos es producto de la lenta acumulación de la memoria. Sin embargo, la capacidad de aprender provoca una alteración de esta memoria que es resultado de la experiencia de cada uno de ellos (Dudai *et al.* 1990).

Diversos organismos al estar expuestos a cambios climáticos, en el suministro alimenticio, a depredadores y demás permutaciones del ambiente, necesitan de un ajuste en su conducta para sobrevivir. Este ajuste ocurre a través del aprendizaje, es por eso que éste es considerado uno de los procesos que promueven la supervivencia (Chance *et al.* 1999).

El aprendizaje es definido como el proceso por el cual se adquiere conocimiento del ambiente (Kandel *et al.* 2000). Hay una gran posibilidad, que la habilidad de aprender se haya desarrollado evolutivamente porque provee a los organismos de un inmenso potencial de adaptación (Dudai *et al.* 1990). Para esto, el aprendizaje tiene que ser almacenado y evocado. Al almacenamiento de la información es a lo que denominamos memoria (Kandel *et al.* 2000).

1.2. Clasificación de Memoria

Uno de los modelos más aceptados referentes a la memoria es que hay dos formas en la que ésta es almacenada: una es la memoria de corto plazo (MCP) y la otra es la memoria de largo plazo (MLP). La MCP es un sistema que retiene información temporalmente mientras se transfiere a un estado más estable y potencialmente permanente, el cual denominamos como MLP (Squire *et al.* 1987).

La formación de la memoria está conformada por 3 distintas fases: la adquisición (aprendizaje), la consolidación y la evocación. La consolidación es considerada como un proceso de estabilización, el cual requiere tanto de la expresión de genes como de la síntesis de proteínas (Kandel *et al.* 2000, Suzuki *et al.* 2004).

Se le considera como un proceso de estabilización, por que es el proceso mediante el cual la memoria se mantiene a largo plazo. Si la síntesis de proteínas es bloqueada, la consolidación no se dará, por ende la MLP tampoco (Squire *et al.* 1987). La evocación permite el uso del aprendizaje previo para algo en el presente.

1.2.1. Memoria declarativa y memoria no declarativa.

La MLP se subdivide en dos tipos: memoria declarativa y memoria no declarativa (Squire *et al.* 1996). La memoria declarativa o explícita es el recuerdo “conciente” del conocimiento, sobre otros organismos, lugares o cosas. A su vez, la memoria no declarativa o implícita es el recuerdo no conciente del conocimiento, como son las habilidades motoras (Bailey *et al.* 1996).

La memoria declarativa se subdivide en dos tipos. La primera es la memoria episódica, la cual se refiere a la capacidad de recordar eventos del pasado o eventos que ocurrieron en un contexto espaciotemporal específico. La segunda es la memoria semántica la cual se refiere a la capacidad de recordar hechos y datos de conocimiento general sobre el mundo (Squire, *et al.* 1998).

Por ejemplo, cuando uno platica como le fue en el fin de semana y como estuvieron las fiestas utiliza la memoria episódica, mientras que si le preguntan la capital de algún país utiliza la memoria semántica.

1.3. Memoria de Reconocimiento.

La memoria de reconocimiento es la habilidad para afirmar la familiaridad de las cosas previamente experimentadas (Brown y Aggleton, 2001).

El reconocimiento es un proceso por el cual se tiene conciencia que un estímulo ha sido previamente experimentado. Este proceso requiere que se perciban eventos, que se discriminen, se identifiquen y se comparen con otros (Steckler *et al.* 1998). Por lo cual, a la memoria de reconocimiento se le considera una memoria declarativa (Brown y Aggleton, 2001).

La memoria de reconocimiento no es un proceso unitario, este depende de muchos tipos diferentes de información. Por ejemplo, cuanto tiempo ha pasado del encuentro con un estímulo, si se ha experimentado antes, el lugar donde se experimentó, el tiempo y otras asociaciones con experiencias previas (Brown y Xiang, 1997). Se sugiere que la memoria de reconocimiento, a su vez, está formada por dos componentes; la familiaridad y el contexto (espacio-temporal) (Brown y Aggleton, 2001).

El nivel de familiaridad de un estímulo juega un papel muy importante en el procesamiento de la memoria ya que brinda la capacidad de diferenciar entre lo que puede ser favorable o no para el organismo. Los eventos novedosos atraen más nuestra atención que los eventos familiares, además la habilidad para responder rápidamente a los eventos novedosos es fundamental para la supervivencia, ya que esta brinda el poder de diferenciar lo seguro de lo que pudiese llegar a ser dañino.

1.4. Estructuras que participan en la memoria de reconocimiento.

El creciente interés por definir las regiones cerebrales responsables de la memoria de reconocimiento ha llevado a la realización de una serie de estudios electrofisiológicos y con lesiones. La mayoría de los estudios sobre la memoria de reconocimiento en ratas, han utilizado estímulos visuales como objetos; estímulos espaciales como laberintos; o estímulos gustativos como sacarina (Steckler, T. et al. 1998).

Las estructuras que principalmente se han estudiado en este tipo de memoria son parte del lóbulo temporomedial. Hay evidencia que sugiere que este juega un papel crítico en la memoria declarativa, de manera más específica, se ha sugerido que el lóbulo temporomedial participa principalmente en la memoria de reconocimiento (Holdstock 2005, Squire *et al.* 2005).

Una de las principales características de algunos síndromes amnésicos como consecuencia de lesiones o enfermedades neurodegenerativas es la incapacidad de discriminar los estímulos o eventos familiares de los novedosos (Brown y Aggleton, 2001). Muchos estudios sobre la memoria de reconocimiento están basados en pacientes con síndromes amnésicos, como ha sido el caso del paciente H.M. El paciente H.M. sufrió, como tratamiento contra un caso grave de epilepsia, la extracción de la mayor parte del lóbulo temporomedial. La extracción incluyó al hipocampo, la amígdala y las cortezas que rodeaban a esta zona. El daño que resultó de esta operación fue una amnesia anterógrada y de manera específica, de la memoria explícita. Por ejemplo, si se le presentaban objetos éstos eran recordados sólo si el paciente mantenía su atención sobre ellos (Milner *et al.* 1998, Brown y Xiang, 1998). Pruebas en H.M. mostraron que podía aprender ciertas tareas sin ningún sentido de familiaridad (Milner *et al.* 1998).

Se ha propuesto que el hipocampo (HIP) y la corteza perirrinal (PHR) funcionan como componentes de un mismo sistema de memoria de reconocimiento (Brown y Aggleton, 2001). Sin embargo, en la actualidad hay un

gran número de evidencia, que sugiere que sus contribuciones al sistema son diferentes y pueden disociarse (Brown y Aggleton, 2001).

Hay evidencia que indica que un sistema centrado en la PHR, se encarga de la discriminación de la familiaridad de los estímulos que se presentan individualmente. Por otro lado la evidencia relacionada con el HIP es más fuerte en lo que concierne al arreglo espacial en el que se presentan los estímulos. El HIP es importante para la discriminación de la familiaridad de un conjunto de estímulos, la cual es necesaria para la memoria episódica, que involucra asociaciones entre estímulos individuales (Brown y Aggleton, 2001).

Se sugiere que el HIP participa en la formación de la memoria de reconocimiento de contexto, sin embargo su participación en la memoria de reconocimiento de objetos no es clara (Broadbent *et al.* 2004).

La participación de otras regiones del cerebro, en este tipo de memoria, ha sido poco estudiada. Sin embargo, existe evidencia experimental que indica la participación de otras estructuras, como es el caso de la corteza insular (CI). La CI está conectada con las PHR y entorrinal (Kolb, *et al.* 1990). Además se ha mostrado que la CI tiene un papel importante en la formación de la memoria de la novedad/familiaridad de un estímulo a largo plazo (Bermudez-Rattoni *et al.* 2005). Esto sugiere, que la CI podría tener un papel en la consolidación de memorias de reconocimiento.

Estudios previos indican que la CI está involucrada en el proceso de reconocimiento a largo plazo de sabores (Bermudez-Rattoni, 2005). A su vez estudios recientes sugieren que la CI está involucrada en la memoria de reconocimiento de objetos, ya que al inhibir los receptores muscarínicos justo después de la adquisición, no se llevó a cabo la discriminación entre el objeto novedoso y el familiar durante la prueba de MLP, sugiriendo que hay una participación de la CI en el proceso de consolidación (Bermudez-Rattoni *et al.* 2005).

Otra de las regiones que se ha estudiado en este tipo de memoria es la amígdala (AMI). Mishkin y cols. (1978) realizaron una investigación donde al lesionar la amígdala, encontraron deficiencias en la memoria de reconocimiento

de objetos, usando como modelo animal al chango. Pero las lesiones en este caso no eran específicas de la AMI, lo que dio pie a que el grupo de Mishkin, en 1986 realizara otro proyecto donde se lesionó de manera específica tanto la AMI junto con la corteza rinal adyacente ó solamente la corteza rinal. Se encontró que sólo si se lesionaba la AMI en conjunto con la corteza rinal es que había una severo deficiencia en la memoria de reconocimiento. También se encontró que la sola lesión de la corteza rinal producía un deterioro en la memoria de reconocimiento. Por lo que este estudio sugiere que la AMI no participa dentro de la memoria de reconocimiento de objetos (Mishkin *et al.* 1986).

1.5. Paradigma de reconocimiento de objetos.

Con el fin de aprender más sobre el funcionamiento de los organismos y su conducta, se han creado diversos modelos experimentales, con los cuales se abordan las diversas preguntas que surgen en este campo.

Las ratas se han utilizado frecuentemente como modelo de estudio ya que presentan características que son comparables con las del hombre, como la capacidad de discriminar entre un objeto peligroso y uno que no lo es.

Los roedores tienen la tendencia natural de explorar más los objetos novedosos que los familiares, gracias a lo cual, Ennaceur y Delacour (1988) desarrollaron el paradigma de reconocimiento de objetos.

La tarea de reconocimiento de objetos surgió por la necesidad de realizar una tarea en la que fuera más sencillo medir la respuesta del animal hacia los estímulos en donde se emplean intervalos cortos de retención, por lo que con esta tarea se mide memoria de corto plazo (Xiang Y Brown, 2004). Sin embargo, estudios recientes, han mostrado que también la tarea de reconocimiento de objetos es una tarea efectiva para el estudio de MLP (Bermudez-Rattoni *et al.* 2005, Izquierdo *et al.* 2007)

Esta tarea consiste, de manera general, en presentar al animal dos objetos iguales para que los pueda explorar por un determinado tiempo. Después, se le presenta a la rata una copia del objeto antes presentado y un

objeto nuevo, se mide el tiempo de exploración de cada objeto para determinar si el animal muestra preferencia por el objeto novedoso sobre el objeto familiar.

Se ha propuesto que esta tarea mantiene una cercana analogía con las pruebas de reconocimiento que son extensamente usadas en humanos para evaluar la memoria y que sirven para caracterizar los síndromes amnésicos ya que proveen un índice exacto de la severidad del daño de la memoria declarativa (Reed y Squire, 1997).

2. Hipotesis.

2.1.1 Predicciones.

Dados los antecedentes, se espera que tanto la corteza perirrinal como la corteza insular participen en la consolidación de la memoria de reconocimiento de objetos. Sin embargo no se espera que ni el hipocampo ni la amígdala consoliden este tipo de memoria.

2.1.2 Objetivos

Determinar:

1. Si la inhibición de síntesis de proteínas en la CI afecta la memoria de reconocimiento de objetos de corto plazo.
2. Si la inhibición de síntesis de proteínas en la CI afecta la memoria de reconocimiento de objetos de largo plazo.
3. Si la inhibición de síntesis de proteínas en la PHR afecta la memoria de reconocimiento de objetos de corto plazo.
4. Si la inhibición de síntesis de proteínas en la PHR afecta la memoria de reconocimiento de objetos de largo plazo.
5. Si la inhibición de síntesis de proteínas en el HIP afecta la memoria de reconocimiento de objetos de corto plazo.
6. Si la inhibición de síntesis de proteínas en el HIP afecta la memoria de reconocimiento de objetos de largo plazo.
7. Si la inhibición de síntesis de proteínas en la AMI afecta la memoria de reconocimiento de objetos de corto plazo.
8. Si la inhibición de la síntesis de proteínas en la AMI afecta la memoria de reconocimientos de largo plazo.

3. Material y Método.

3.1. Sujetos

Se utilizaron ratas macho Wistar de 250-300g. de peso al tiempo de la cirugía, que se obtuvieron del bioterio del Instituto de Fisiología Celular, de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Los animales se mantuvieron en cajas individuales, con un ciclo de 12/12 hrs de luz/oscuridad, con agua y comida sin restricciones. Los experimentos se realizaron durante la fase de luz.

3.2. Cirugía

Las ratas fueron operadas bajo el efecto de la anestesia ketamina (83.49 mg/kg) y el relajante muscular xilacina (8.58 mg/kg). Se implantaron cánulas bilaterales en la zona cerebral de interés, mediante cirugía estereotáxica, basada en las coordenadas del atlas del cerebro de la rata Paxinos y Watson (1986).

En este estudio se analizó la participación de cuatro estructuras, las cuales tienen como coordenadas del sitio de inyección con respecto a Bregma: Corteza Insular (CI): Anteroposterior (Ap) = + 1.2mm, Mediolateral (L)= \pm 5.5mm, Dorsoventral (DV)= -6.5mm; Corteza Perirrinal (PRH): Ap= -3mm, L= \pm 6.5, DV= 5mm; Hipocampo (HIP): Ap= -3.6mm, L= \pm 3.0mm, DV= -3.3mm; Amígdala (AMI): Ap= -2.8mm, L \pm 5mm, Dv= -8.5mm. A cada cánula se le colocó un mandril para prevenir que se tapara. Las cánulas fueron fijadas al cráneo con cemento dental mediante dos tornillos. Después de la cirugía, las ratas tuvieron una semana de recuperación.

3.3. Conducta

Después de la recuperación de la cirugía, las ratas se entrenaron y examinaron en la tarea conductual. Se utilizó como aparato experimental una caja de campo abierto (50x50x50 cm), la cual estuvo ubicada en un cuarto semi amortiguado en contra del sonido y con una iluminación controlada. Durante la tarea conductual, se limpiaron los objetos con alcohol al 70 %, también se limpió

el aparato experimental de residuos de los animales para evitar que los estímulos olfativos afectaran el resultado del experimento.

Se utilizaron como objetos focos blancos opacos (6 cm de diámetro y 11 cm de longitud) y frascos de vidrio transparentes, vacíos y no etiquetados (5.5 cm de diámetro y 5 cm de altura). Ambos objetos tienen características físicas similares, tal como una parte de metal y colores no llamativos; pero a su vez, con distintas formas geométricas y características individuales (Figura 1).

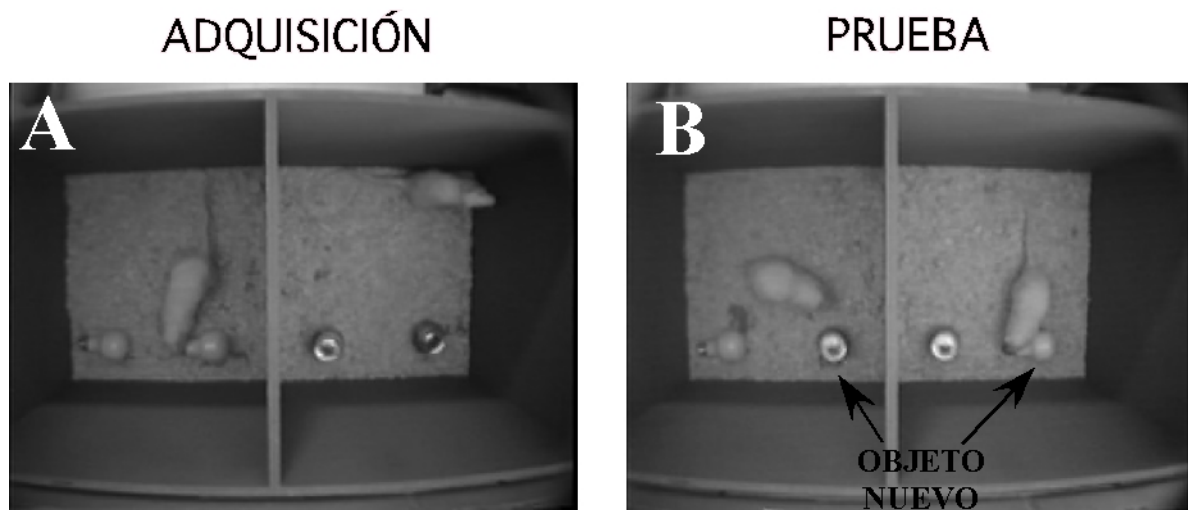


Figura 1. Fotos del aparato experimental. En la fase de adquisición (A) las ratas exploran dos objetos iguales. En la fase de la prueba (B) los animales exploran una copia del objeto antes presentado y un objeto nuevo.

3.4. Tarea de Reconocimiento de Objetos.

La tarea comenzó con la fase de habituación la cual se realizó durante 5 días. Esta fase consistió de dos partes: la manipulación que fue estar en contacto con el animal, con el fin de que este se familiarizara con la persona que experimentó con ellos y una exploración libre, sin objetos, dentro de la caja.

Posteriormente, se prosigió con la adquisición de la tarea, donde se colocó a la rata dentro del aparato, siempre viendo hacia el lado opuesto de los objetos. Se le permitió explorar durante 10 minutos dos objetos idénticos (A1 y A2). Después de transcurridos los 10 minutos se retiró a la rata del aparato y se

regresó a su caja. La inyección se realizó justo después de la fase de la adquisición.

Para medir la MCP se realizó una prueba 90 minutos después de la adquisición, y para medir MLP, se realizó una prueba a las 24 hrs. La prueba consistió en 1 minuto de manipulación después de lo cual se introdujo a la rata en la caja experimental y se le permitió explorar durante 3 minutos una copia del objeto familiar (A3), presentado anteriormente en la adquisición, y un objeto nuevo (B1) (Figura 2).

Tanto en la adquisición, como en la prueba, se registró la conducta del animal, por medio de una cámara colocada encima de la caja. Esto con el fin, de analizar posteriormente el tiempo de exploración de los objetos. Se consideró como exploración cuando los animales dirigen la nariz hacia el objeto y está a menos de 2 cm de distancia. El sentarse sobre el objeto o tocarlo con alguna otra parte del cuerpo no se considera como tiempo de exploración.

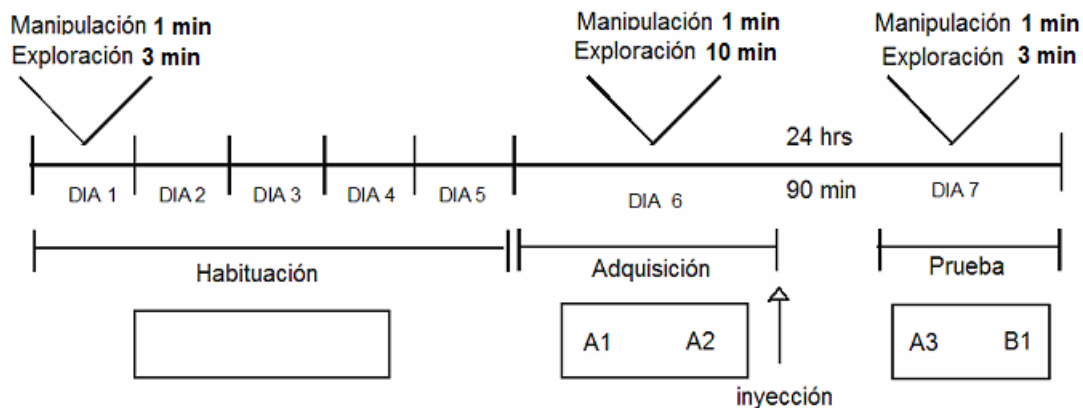


Figura 2. Diagrama de protocolo experimental. Por 5 días, durante la fase de habitación, se manipuló a los animales 1 minuto después de lo cual se introdujeron al aparato experimental sin objetos para que exploraran durante 3 minutos. Durante la fase de adquisición, la cual se realizó en el día 6, se introdujeron a los animales en la caja experimental y se les permitió explorar dos objetos idénticos por 10 min. En la prueba, se introdujeron a los animales al aparato experimental donde se les permitió explorar durante 3 minutos, una copia del objeto anteriormente presentado y un objeto nuevo.

3.5. *Microinyecciones*

Para poder efectuar las microinyecciones, los mandriles fueron removidos de las cánulas y se insertaron agujas dentales, que llegaron 2 mm por debajo de la cánula. Estas agujas estaban conectadas a microjeringas Hamilton de 10 μL vía una tubería de polietileno. A cada rata se le inyectó el fármaco correspondiente un volumen de 1 μL por hemisferio cerebral a una tasa de 1 $\mu\text{L}/\text{min}$ en la CI, PHR e HIP y 0.5 μL a una tasa de 0.5 $\mu\text{L}/\text{min}$ en la AMI. Las agujas se mantuvieron dentro durante un minuto más después de la inyección, para lograr una mejor difusión del fármaco.

3.6. *Histología*

Terminada la tarea conductual, los animales fueron sacrificados con una sobredosis de pentobarbital (1mL) y profundidas transcárdicamente con una solución de NaCl (0.9%). Los cerebros se removieron y se colocaron en una solución de paraformaldehído al 4% por 24 hrs. Posteriormente los cerebros fueron cambiados a sacarosa al 30% por un periodo aproximado de 3 días. Se realizaron cortes coronales de 40 micras de la zona en donde se implantaron las cánulas, estos cortes fueron montados sobre laminillas para ser teñidos con violeta de cresilo. Los cerebros fueron estudiados bajo el microscopio de luz, y se obtuvieron fotos las cuales sirvieron para verificar que el sitio de inyección fuera el correcto (Figura 8).

3.7. *Fármacos.*

Se utilizó anisomicina (ANI) como inhibidor de la síntesis de proteínas, la cual se diluyó en ACSF (por sus siglas en inglés, Artificial Cerebral Spinal Fluid): NaCl (125mM), KCl (5mM), $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{H}_2\text{O}$ (1.25mM), $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (1.5 mM), NaHCO_3 (26 mM), glucosa (10 mM), CaCl_2 (2.5 mM) ajustado a un pH de 7.4, y se agregó una cantidad equimolar a la ANI de HCL. En todas las estructuras, se inyectó una dosis de 120mg/mL. En los grupos vehículo (VH) se inyectó ACSF.

3.8. Análisis Estadístico.

El análisis se realizó calculando el índice de reconocimiento para los objetos, el cual se calculó como el tiempo de exploración del objeto nuevo entre el tiempo total de exploración de los dos objetos. Si se obtiene un índice de 0.5 significa que no hay preferencia por alguno de los objetos; sin embargo, si se obtiene un índice mayor a 0.5 significa que hay preferencia por el objeto novedoso.

Los datos están presentados como medias + el error estándar. Para establecer las diferencias entre los grupos se utilizó la prueba *t-student* no pareada. En los grupos controles, donde se determinó si los grupos eran diferentes al nivel de azar (0.5) se utilizó la prueba *t* de una sola muestra.

4. Resultados

4.1 Estandarización del protocolo experimental.

En la fase de adquisición (familiarización) los animales no mostraron preferencia por ninguno de los objetos, ni en el grupo de 90 min ($n=8$, $t_{(7)}=0.04$, $p>0.05$) ni en el de 24 hrs ($n=14$, $t_{(13)}=0.08$, $p>0.05$) (Figura 3). Los resultados mostraron que los animales lograron discriminar el objeto novedoso del familiar cuando se realizaron ambas pruebas (Figura 3). A los 90 min ($t_{(13)}=3.79$, $p<0.01$) y a las 24 hrs ($t_{(13)}=7.75$, $p<0.001$). Lo que indica que en estas condiciones experimentales es posible realizar pruebas tanto de memoria de MCP como de MLP.

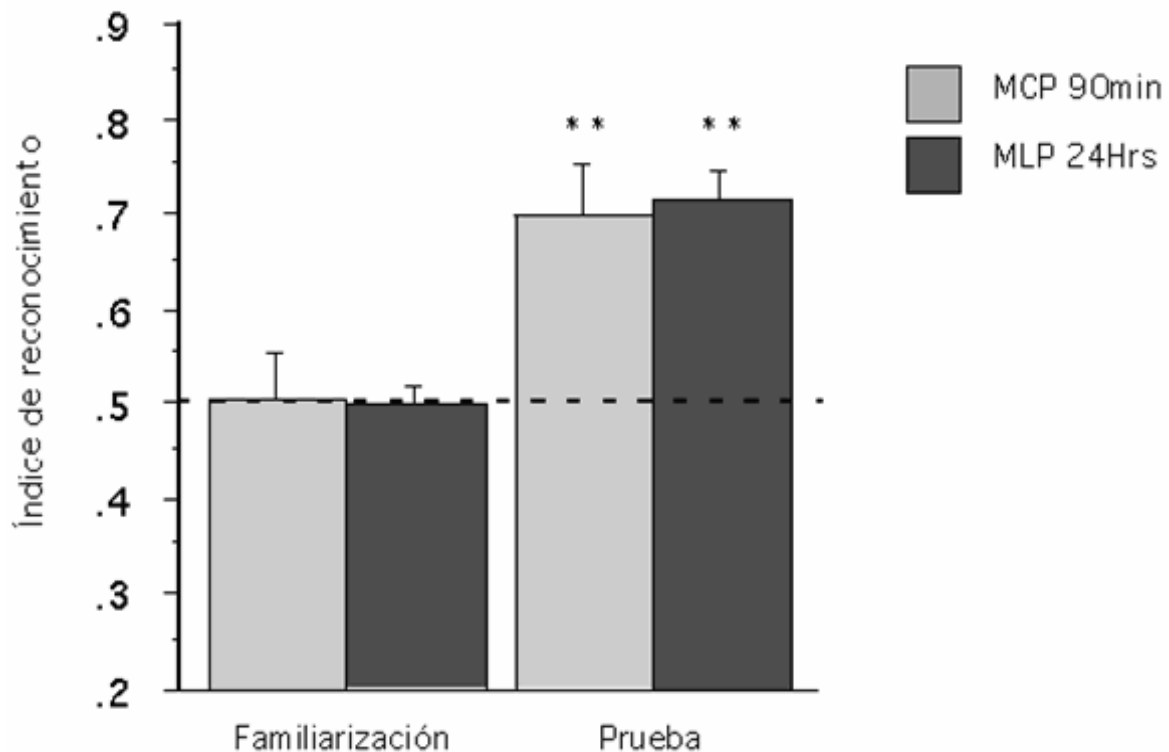


Figura 3. Conducta de los animales intactos. Se muestra la fase de familiarización (adquisición), la prueba a los 90 min (MCP) y la prueba a las 24 hrs (MLP). Los datos se presentan como la media + error estándar de la proporción del tiempo de exploración. Índice de reconocimiento: $[\text{OBJETO NUEVO}/(\text{OBJETO FAMILIAR} + \text{OBJETO NUEVO})]$. La línea punteada representa la ejecución del azar (0.5 = no hay preferencia por algún objeto). (** $p<0.01$).

Corteza Insular

MCP.- En la fase de familiarización de los grupos de MCP, los animales no mostraron preferencia por ninguno de los dos objetos, grupo VH ($t_{(5)}= 1.1$, $p> 0,05$) y ANI ($t_{(4)}= 0.26$, $p>0.05$). Cuando la prueba se realizó a los 90 minutos, no existieron diferencias entre los grupos ($t_{(9)}= 0.96$, $p> 0.05$). Grupo tratado con VH ($n=6$), grupo con ANI ($n=5$). Los animales de ambos grupos mostraron preferencia por el objeto novedoso (Figura 4).

MLP.- Durante la fase de familiarización de los grupos de MLP, los animales no mostraron preferencia por ninguno de los objetos, grupo vehículo ($t_{(10)}= 1.18$, $p> 0.05$) y anisomicina ($t_{(10)}=0.22$, $p> 0.05$). Cuando la prueba se realizó a las 24 hrs, los animales con microinyección de ANI, no mostraron preferencia por ninguno de los objetos al ser comparados con los animales del grupo VH ($t_{(20)}= 3.9$, $p< 0.01$). Grupo tratado con VH ($n=11$) y grupo con ANI ($n=11$) (Figura 4).

Estos resultados indican que la inhibición de la síntesis de proteínas en la CI afecta la memoria de reconocimiento a largo plazo pero no a corto plazo.

Corteza Insular

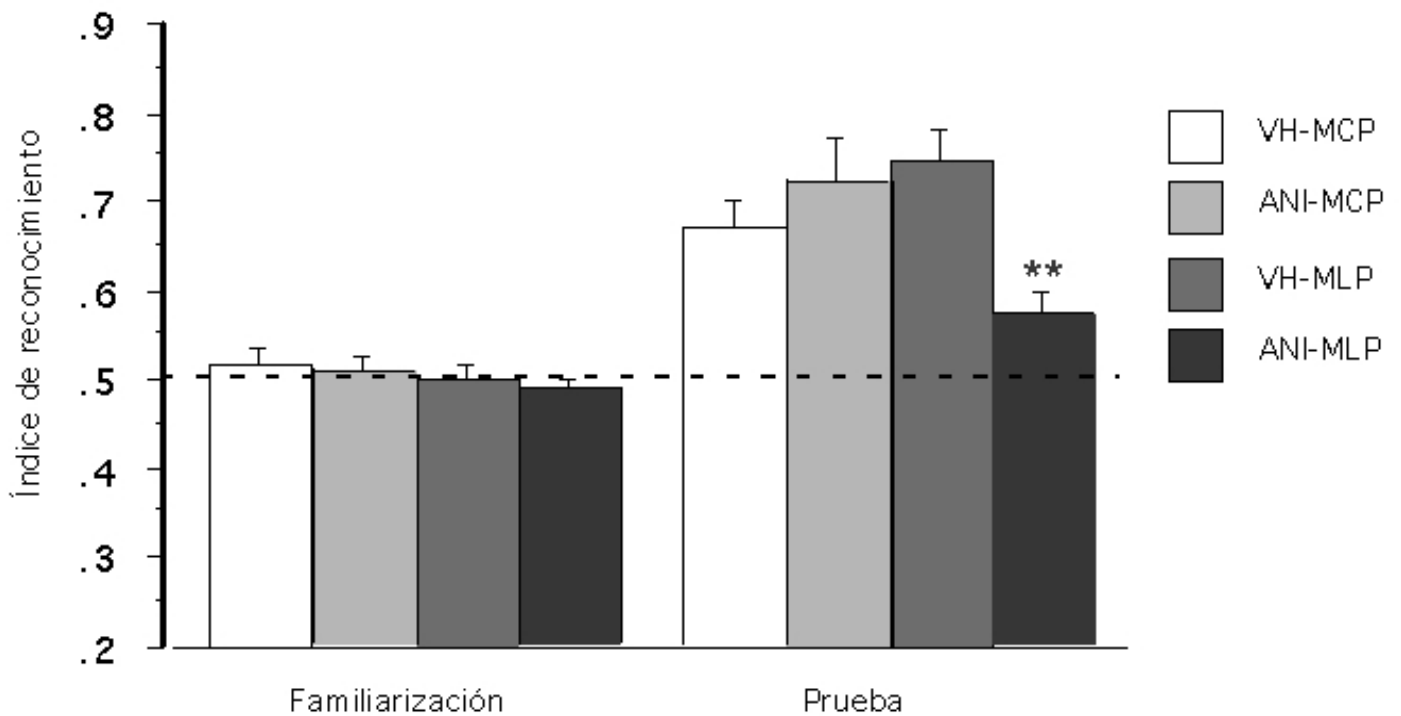


Figura 4. Conducta de los animales con microinyección de solución VH o ANI en la CI. Se muestra la fase de familiarización (adquisición), la prueba a los 90 min (MCP) y la prueba a las 24 hrs (MLP). Los datos se presentan como la media + error estándar de la proporción del tiempo de exploración. Índice de reconocimiento: [OBJETO NUEVO/(OBJETO FAMILIAR + OBJETO NUEVO)]. La línea punteada representa la ejecución del azar (.5 = no hay preferencia por algún objeto). (** $p < 0.01$). VH=Vehículo, ANI= Anisomicina.

Corteza Peririnal

MCP.- En la fase de familiarización de los grupos de MCP, los animales no mostraron preferencia por ninguno de los dos objetos, grupo VH ($t_{(3)} = 1.2$, $p > 0.05$) y ANI ($t_{(6)} = 1.3$, $p > 0.05$). Cuando la prueba se realizó a los 90 minutos, no existieron diferencias entre los grupos ($t_{(9)} = 0.75$, $p > 0.05$). Grupo tratado con VH ($n=4$), grupo con ANI ($n=7$). Los animales de ambos grupos mostraron preferencia por el objeto novedoso (Figura 5)

MLP.- Durante la fase de familiarización de los grupos de MLP, los animales no mostraron preferencia por ninguno de los objetos, grupo VH ($t_{(8)} = 0.25$, $p > 0.05$) y ANI ($t_{(9)} = 0.55$, $p > 0.05$). Cuando la prueba se realizó a las 24 hrs, los animales con microinyección de ANI, no mostraron preferencia por ninguno de los objetos al ser comparados con los animales del grupo VH ($t_{(17)} = 5.9$, $p < 0.01$). Grupo tratado con VH ($n=9$) y grupo con ANI ($n=10$) (Figura 5). Estos resultados indican que la inhibición de la síntesis de proteínas en la PHR afecta la memoria de reconocimiento de largo plazo pero no la de corto plazo.

Corteza Perirrinal

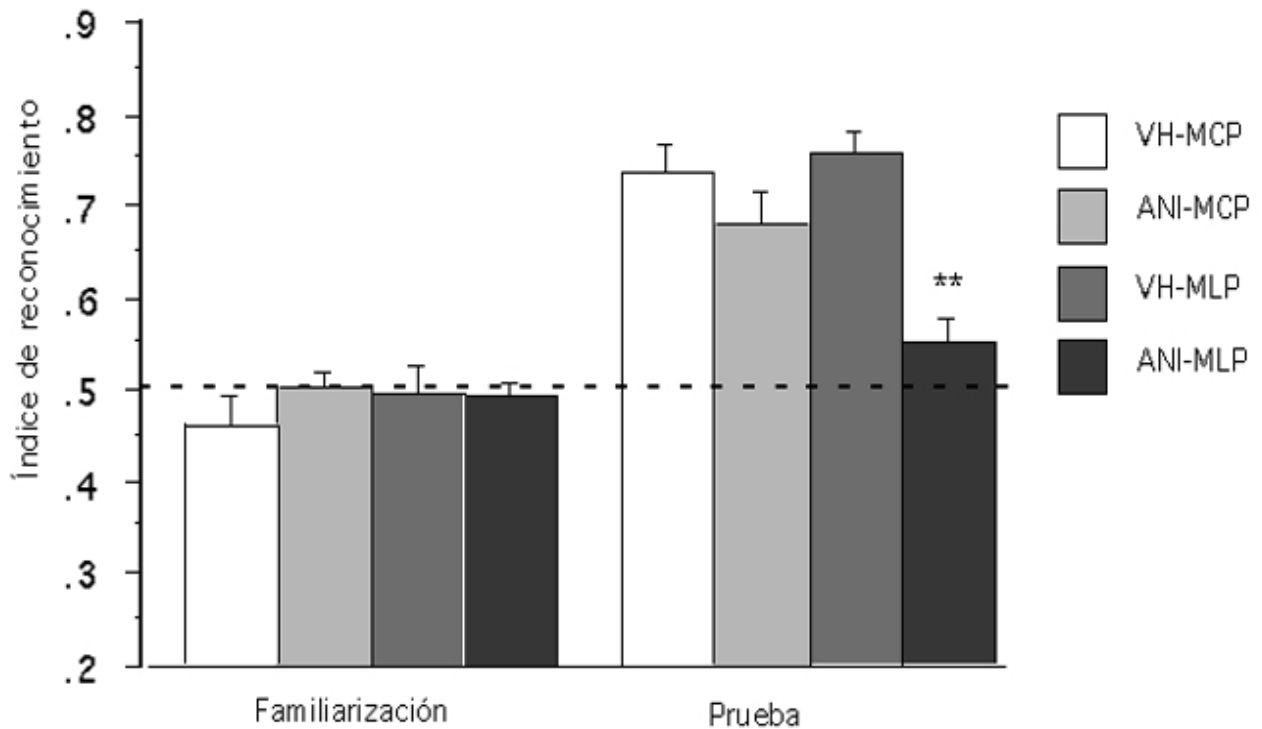


Figura 5. Conducta de animales con microinyección de solución vehículo o anisomicina en la PHR. Se muestra la fase de familiarización (adquisición), la prueba a los 90 min (MCP) y la prueba a las 24 hrs (MLP). Los datos se presentan como la media + error estándar de la proporción del tiempo de exploración. Índice de reconocimiento: [OBJETO NUEVO/(OBJETO FAMILIAR + OBJETO NUEVO)]. La línea punteada representa la ejecución del azar (0.5 = no hay preferencia por algún objeto). (** $p < 0.01$) VH=Vehículo, ANI= Anisomicina.

Hipocampo

MCP.- En la fase de familiarización de los grupos de MCP, los animales no mostraron preferencia por ninguno de los dos objetos, grupo VH ($t_{(5)} = 0.93$, $p > 0.05$) y ANI ($t_{(4)} = 1.5$, $p > 0.05$). Cuando la prueba se realizó a los 90 minutos, no existieron diferencias entre los grupos ($t_{(11)} = 0.08$, $p > 0.05$). Grupo tratado con VH ($n=8$) y con ANI ($n=5$). Los animales de ambos grupos mostraron preferencia por el objeto novedoso (Figura 6).

MLP.- Durante la fase de familiarización de los grupos de MLP, los animales no mostraron preferencia por ninguno de los objetos, grupo VH ($t_{(6)} = 0.09$, $p > 0.05$) y ANI ($t_{(11)} = 0.26$, $p > 0.05$). Cuando la prueba se realizó a las 24 hrs, los animales con microinyección de ANI, mostraron preferencia por el objeto novedoso al igual que con los animales del grupo VH ($t_{(19)} = 0.83$, $p > 0.05$). Grupo tratado con VH ($n=9$) y con ANI ($n=12$) (Figura 6). Estos resultados muestran que la inhibición de síntesis de proteínas en el hipocampo no afecta a la memoria de reconocimiento de objetos de corto plazo así como tampoco a la de largo plazo.

Hipocampo

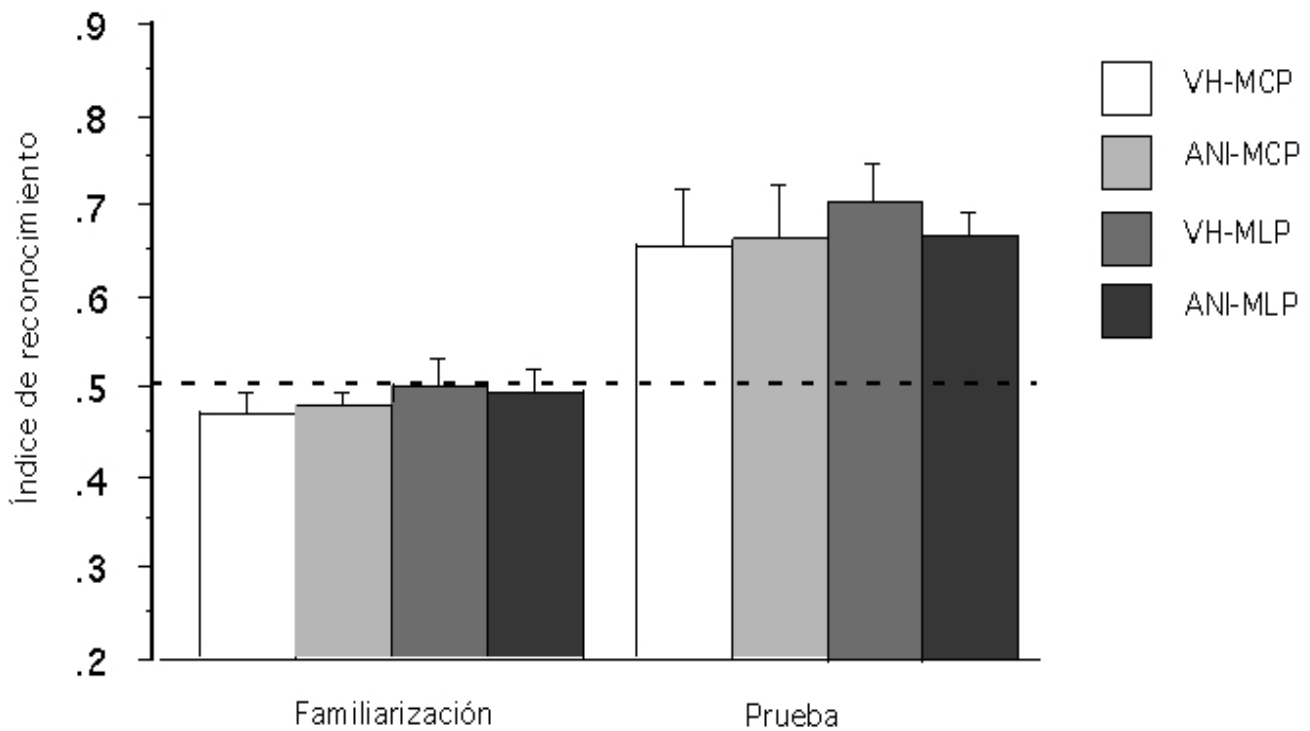


Figura 6. Conducta de los animales con microinyección de solución VH o ANI en el HIP. Se muestra la fase de familiarización (adquisición), la prueba a los 90 min (MCP) y la prueba a las 24 hrs (MLP). Los datos se presentan como la media + error estándar de la proporción del tiempo de exploración. Índice de reconocimiento: $[\text{OBJETO NUEVO}/(\text{OBJETO FAMILIAR} + \text{OBJETO NUEVO})]$. La línea punteada representa la ejecución del azar (0.5 = no hay preferencia por algún objeto). VH=Vehículo, ANI= Anisomicina.

Amígdala

MCP.- En la fase de familiarización de los grupos de MCP, los animales no mostraron preferencia por ninguno de los dos objetos, grupo VH ($t_{(6)} = 1.7$, $p > 0.05$) y ANI ($t_{(6)} = .18$, $p > 0.05$). Cuando la prueba se realizó a los 90 minutos, no existieron diferencias entre los grupos ($t_{(13)} = 0.25$, $p > 0.05$). Grupo tratado con VH ($n=7$) y grupo con ANI ($n=8$). Los animales de ambos grupos mostraron preferencia por el objeto novedoso (Figura 7).

MLP.- Durante la fase de familiarización de los grupos de MLP, los animales no mostraron preferencia por ninguno de los objetos, grupo VH ($t_{(7)} = 1.4$, $p > 0.05$) y ANI ($t_{(5)} = 0.56$, $p > 0.05$). Cuando la prueba se realizó a las 24 hrs., los animales con microinyección de ANI, mostraron preferencia por el objeto novedoso al igual que con los animales del grupo VH ($t_{(12)} = 0.92$, $p > 0.05$). Grupo tratado con vehículo ($n=8$) y grupo tratado con anisomicina ($n=6$) (Figura 7). Estos resultados muestran que la inhibición de la síntesis de proteínas en la AMI no afecta a la memoria de reconocimiento a corto plazo, así como tampoco a la de largo plazo.

Amígdala

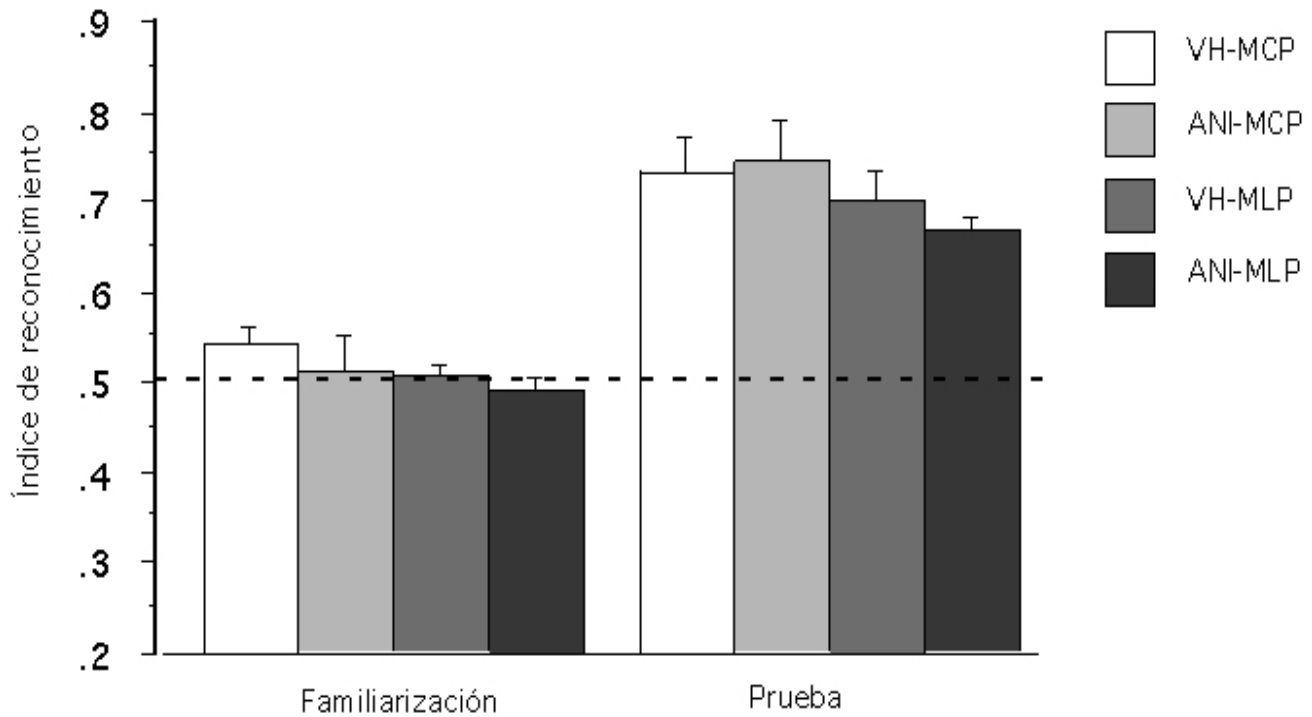


Figura 7. Conducta de los animales con microinyección de solución VH o ANI en la AMI. Se muestra la fase de familiarización (adquisición), la prueba a los 90 min (MCP) y la prueba a las 24 hrs (MLP). Los datos se presentan como la media + error estándar de la proporción del tiempo de exploración. Índice de reconocimiento: $[\text{OBJETO NUEVO}/(\text{OBJETO FAMILIAR} + \text{OBJETO NUEVO})]$. La línea punteada representa la ejecución del azar (0.5 = no hay preferencia por algún objeto). VH=Vehículo, ANI= Anisomicina.

Histología.

En la figura 8 se muestran los cortes cerebrales en donde se aprecia el trayecto de la aguja. De esta manera se verificó el sitio de inyección para todos los animales.

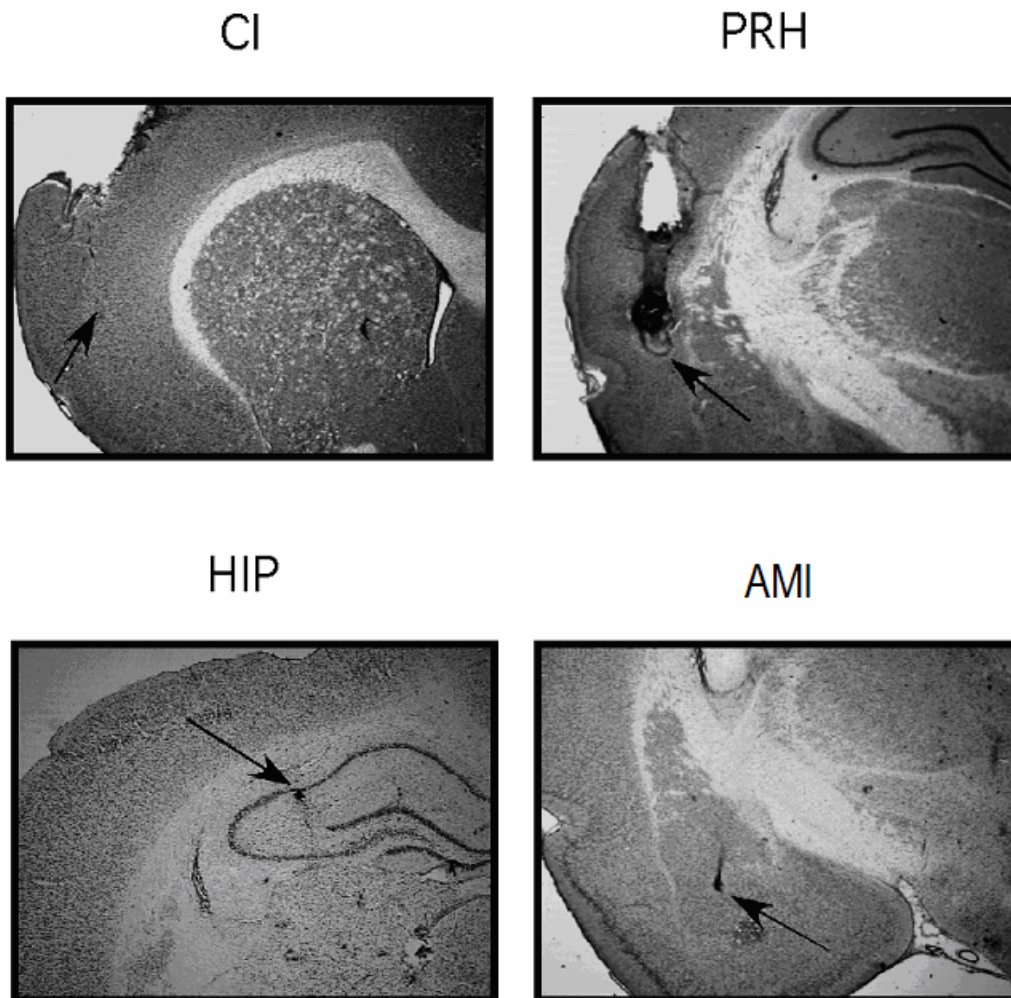


Figura 8. Fotografías representativas de cortes cerebrales donde se muestra el sitio de inyección en cada estructura, indicado con la flecha. CI= Corteza Insular, PRH= Corteza Perirrinal, HIP= Hipocampo, AMI= Amígdala.

5. Discusión

Los resultados obtenidos en los animales intactos demuestran que ésta tarea es adecuada para la medición de la memoria de reconocimiento tanto de corto como de largo plazo. Esto se refleja en que todos los grupos de animales intactos, mostraron preferencia por el objeto nuevo sobre el objeto familiar al momento de la prueba, lo cual nos indica que no hubo variables en la tarea que interrumpieran o afectaran el desempeño de los animales (Figura 3).

Uno de los objetivos de este trabajo fue determinar si las estructuras del lóbulo temporomedial tienen participaciones diferenciales en la consolidación de la memoria de reconocimiento. En este sentido los resultados de nuestros experimentos muestran que la PHR participa en la consolidación de la memoria de reconocimiento de objetos, lo cual se vio reflejado en que cuando se inyectó ANI en ésta estructura y se realizó la prueba de MLP, no lograron discriminar entre un objeto familiar y uno novedoso, comprobando que el proceso de consolidación no se realizó (Figura 5).

Los resultados de los experimentos realizados en el HIP, muestran que ésta estructura no participa en la consolidación de la memoria de reconocimiento de objetos, ya que al realizar la prueba de MCP, los animales a los que se les inyectó ANI lograron discriminar entre el objeto novedoso y el familiar (Figura 6).

Estos datos apoyan a los antecedentes que sugieren que tanto el HIP como la PHR participan de manera diferente en la memoria de reconocimiento, y que no forman un mismo sistema de memoria. Se ha sugerido que el HIP está involucrado en memorias espacio-temporales mientras que la PHR participa en la discriminación de lo familiar. (Brown y Aggleton, 2001).

Se ha visto que la PHR participa en el proceso del reconocimiento de los objetos por sus características individuales y que ésta no es necesaria para la asociación de diversos estímulos a menos que éstos tengan que ver con la discriminación entre varios objetos (Moses *et al.* 2005). Sin embargo, varias teorías de la función del HIP comparten que esta estructura es crítica para las

asociaciones entre estímulos, como ocurre en el aprendizaje espacial (Moses *et al.* 2005).

Como se mencionó en la introducción, las ratas tienen una tendencia natural a explorar más los objetos novedosos que los objetos familiares, lo cual es la base del paradigma de reconocimiento de objetos (Ennaceur y Delacour, 1988). Sin embargo, estos animales también muestran una preferencia por explorar objetos familiares en un ambiente donde nunca los han explorado. Es en esta última función donde se piensa que el HIP puede estar involucrado (Mumby *et al.* 2002).

Mumby y cols. (2002) demostraron que el HIP está involucrado en la memoria espacial. Luego de hacer lesiones citotóxicas en el HIP observaron que la memoria espacial o de contexto estaba afectada, mientras que la memoria de reconocimiento de objetos estaba relativamente intacta.

Por otra parte Broadbent y cols. (2004), haciendo lesiones en el HIP, mostraron que se necesita la completa integridad de esta estructura para realizar tareas espacio-temporales mientras que para tareas no espaciales, en específico, para la tarea de reconocimiento de objetos, no es necesaria la integridad del HIP. Estos reportes sugieren que la memoria espacial es completamente dependiente del HIP mientras que la de reconocimiento no.

Los datos presentados en este trabajo, en referencia a la PHR y al HIP son importantes, ya que son evidencia de la disociación de la participación de ambas estructuras. Además, ya que sus antecedentes lo relacionan más con las tareas espacio-temporales, se sugiere que el HIP puede tener un papel dentro de la memoria de reconocimiento, pero que éste podría estar relacionado con la consolidación de la memoria de reconocimiento del contexto donde se presentan los estímulos.

Otro de los objetivos de este trabajo fue determinar si la CI participa dentro de la consolidación de la memoria de reconocimiento de objetos.

Se sabe que la CI tiene conexiones recíprocas con la PHR (Kolb *et al.* 1990) la cual, tiene antecedentes que sugieren su participación en la memoria de reconocimiento. Además, la CI se ha visto involucrada en procesos de memoria

de reconocimiento de sabores. Gutierrez y cols. (2003), al hacer un experimento de reconocimiento gustativo, observaron que, aplicando un antagonista de los receptores muscarínicos en la CI, se prevenía que el sabor se convirtiera en familiar. Por otra parte, Bermudez-Rattoni y cols. (2005) mostraron que en la tarea de memoria de reconocimiento de objetos, al inhibir los receptores muscarínicos en la CI justo después de la adquisición, no ocurría la discriminación entre los estímulos novedosos y familiares en una prueba de largo plazo, sugiriendo la participación de la CI en la consolidación de la memoria de reconocimiento de objetos.

Estos datos indican que la CI no sólo está involucrada en la memoria de reconocimiento de los sabores, sino que podría tener un papel más general en la memoria de reconocimiento.

En nuestros resultados se puede observar que el grupo que fue inyectado con ANI justo después de la adquisición y al que se le hizo la prueba a las 24 hrs (MLP) presentó un índice de reconocimiento similar al del azar (0.5). Estos datos indican, que las ratas no lograron discriminar el objeto novedoso del familiar (Figura 4). Sin embargo, el grupo VH, al que se le inyectó ACSF reportó un índice de reconocimiento por arriba del azar, lo cual indica que las ratas mostraron preferencia por el objeto novedoso (Figura 4).

Sin embargo, cuando se hizo la prueba a los 90 min (MCP), el índice de reconocimiento fue por arriba del azar, lo cual indica que las ratas si pudieron discriminar entre un objeto novedoso y uno familiar, esto se observó en el grupo al que se le inyectó ANI como en el grupo VH (Figura 4).

Nuestros datos apoyan las ideas antes establecidas de que la CI no sólo participa en la memoria de reconocimiento de los sabores sino que juega un papel importante en la memoria de reconocimiento en general. Se concluye entonces que la CI participa en la consolidación de la memoria de reconocimiento de objetos.

Los resultados obtenidos con inyecciones en AMI muestran que esta estructura no tiene participación en la consolidación de la memoria de reconocimiento de objetos. Anteriormente se pensaba que la AMI podía tener participación en la memoria de reconocimiento de objetos; sin embargo, posteriormente se observó que sólo se veía afectada este tipo de memoria si se dañaba la AMI junto con la corteza rinal adyacente (Mishkin *et al.* 1986). A su vez, hay evidencia que sugiere que la AMI modula la consolidación de memorias de carácter emocional o de aversión. (McGaugh *et al.* 2004). Con nuestros resultados se confirma que la AMI no participa en la consolidación de la memoria de reconocimiento de objetos, aunque queda por explorarse si, al igual que podría ocurrir con el HIP y las características espacio-temporales, con la integración de características emocionales en la tarea de reconocimiento de objetos, se vería la participación de la AMI en la memoria de reconocimiento de objetos.

Los resultados de este trabajo no sólo son importantes por el hecho de que se aportan evidencias a favor de ideas previamente sugeridas, además ayudan a entender en que proceso de memoria participan las distintas estructuras del lóbulo temporomedial. Con nuestros datos, el paradigma de reconocimiento de objetos, que antes sólo se utilizaba para el estudio de la MCP, se puede utilizar también de manera exitosa para estudiar la MLP. También se propone que diversas estructuras del lóbulo temporomedial trabajan de manera disociada en la formación de la memoria de reconocimiento. Por último se establece que la CI forma parte de un sistema de memoria en el que antes no se sabía de su participación, lo cual no solo es innovador sino imperativo para seguir ampliando poco a poco, el conocimiento que tenemos sobre el funcionamiento del sistema nervioso central. Esto en búsqueda no sólo de que sirva de conocimiento, sino que también en un futuro, sirva de antecedente para investigaciones de enfermedades neurodegenerativas que podrían afectarnos a todos.

6. Referencias.

- Bailey, C.H., Bartsch, D., y Kandel, E.R.** (1996). *Toward a molecular definition of long-term memory storage*. Proc Natl Acad Sci USA. 26;93(24),13445-52
- Bermudez-Rattoni F., Okuda S., Roozental B. y McGaugh J.L.** (2005) *Insular cortex is involved in consolidation of object recognition memory*. Learn Mem, 12, 447-449.
- Broadbent, N.J., Squire, L.R. y Clark, R.E.** (2004) *Spatial memory, recognition memory, and the hippocampus*. Proc Natl Acad Sci USA, 101, 14515-14520.
- Brown, M.W. y Aggleton, J.P.** (2001) *Recognition memory: what are the roles of the perirhinal cortex and the hippocampus?* Nat Rev Neurosci, 2, 51-61.
- Brown, M.W. y Xiang, J.Z.** (1998) *Recognition memory: neuronal substrates of the judgement of prior occurrence*. Prog Neurobiol. 55, 149-189.
- Chance, P.** (1999) Learning and Behavior. USA: Brooks-cole publishing company.
- Dudai, Y.** (1990) The Neurobiology of Memory. USA: Oxford University Press.
- Ennaceur, A. y Delacour, J.** (1988) *A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. 1: Behavioral data*. Behav Brain Res. 31, 47-59.
- Gutierrez, R., Tellez, L.A. y Bermudez-Rattoni, F.** (2003) *Blockade of cortical muscarinic but not NMDA receptors prevents a novel taste from becoming familiar*. Eur J Neurosci, 17, 1556-1562.
- Holdstock, J.S.** (2005) *The role of the human medial temporal lobe in object recognition and object discrimination*. Q J Exp Psychol B, 58, 326-339.
- Rossato, J.I., Bevilaqua, R.M.L., Myskiw, J.C., Medina, J.H., Izquierdo, I. y Cammarota, M.** (2007) *On the role of hippocampal protein synthesis in the consolidation and reconsolidation of object recognition memory*. Learn. Mem. 14, 36-46.
- Kandel, E.R., Schwartz, J.H. y Jessel, M.T.** (2000) Principles of Neural Science. USA, McGraw Hill Companies.

Kolb, B., Tees, R.C. (1990) *The cerebral cortex of the rat*. USA: MIT Classic Series.

McGaugh, J.L. (2004) *The amygdala modulates the consolidation of memories of emotionally arousing experiences*. *Annu. Rev. Neurosci.* 27,1-28.

Milner, B., Squire, L.R. y Kandel, E.R. (1998) *Cognitive neuroscience and the study of memory*. *Neuron*, 20, 445-468.

Moses, S.N., Cole, C., Driscoll, I., y Ryan, J.D. (2005) Differential contributions of hippocampus, amygdala and perirhinal cortex to recognition of novel objects, contextual stimuli and stimulus relationships. *Brain Res Bull*, 67, 62-76.

Mumby, D.G., Gaskin, S., Glenn, M.J., Schramek, T.E. y Lehmann, H. (2002) *Hippocampal damage and exploratory preferences in rats: memory for objects, places and contexts*. *Learn Mem*, 9, 49-57.

Murray, E.A. y Mishkin, M. (1986) Visual recognition in monkeys following rhinal cortical ablations combined with either amygdectomy or hippocampectomy. *J Neurosci*, 6, 1991-2003.

Paxinos, G., y Watson., C. (1986) *The rat brain in stereotaxic coordinates* (3rd ed.). San Diego.: Academic Press.

Reed, J.M. y Squire L.R. (1997) *Impaired recognition memory in patients with lesions limited to the hippocampal formation*. *Behav Neuroscience*, 111,667-675.

Squire L.R., Stark, C.E.L. y Clark, R.E. (2004) *The medial temporal lobe*. *Annu. Rev. Neurosci.* 27, 279-306.

Squire, L.R. y Zola, S.M. (1996) *Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 93, 13515-13522.

Squire, L.R. y Zola, S.M. (1998) *Episodic memory, semantic memory, and Amnesia*. *Hippocampus*, 8, 205-211.

Steckler, T., Drinkenburg, W., Sahgal, A., y Aggleton, J. (1998) *Recognition Memory in Rats -1. Concepts and Classification*. *Progress in Neurobiology*. 54,313-332

Suzuki, A., Josselyn, S.A., Frankland, P.W., Shoichi, M., Silva, A.J. y Kida, S. (2004) *Memory reconsolidation end extinction have distinct temporal and biochemical signatures.* Journal of Neuroscience 24(20), 4787-4795.

Tulving, E. (1987). **Multiple memory systems and consciousness.** Human Neurobiol 6,67-80.

Xiang, J.Z. y Brown, M.W. (2004) *Neuronal responses related to long-term recognition memory processes in prefrontal cortex.* Neuron. 42: 817-829.