



Modulación catecolaminérgica en evocación y actualización de la memoria espacial

Para optar por el grado de
Maestra en Ciencias Bioquímicas

Presenta

Mildred Salgado Ménez

Tutor :

Dr. Federico Bermúdez Rattoni
Instituto de Fisiología Celular

Comité :

Dr. Fatuel Tecuapetla
Instituto de Fisiología Celular
Dra. Angélica Zepeda Rivera
Instituto de investigaciones Biomédicas

Ciudad de México a 25 de Enero del 2019



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.

Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Neurobiología del aprendizaje y la memoria a cargo del Dr. Federico Bermúdez Rattóni, en el departamento de Neurociencia Cognitiva de la División de Neurociencias del Instituto de Fisiología Celular, UNAM. Apoyado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) CB 250870 y por el Programa de Apoyos a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT-UNAM) IN208616.

*Time present and time past
are both perhaps present in time future
and time future contained in time past.
If all time is eternally present
all time is unredeemable.
What might have been is an abstraction
remaining a perpetual possibility
only in a world of speculation.
What might have been and what has been
point to one end, which is always present.
Footfalls echo in the memory
down the passage which we did not take
towards the door we never opened
into the rose-garden. My words echo
thus, in your mind.*

*But to what purpose
disturbing the dust on a bowl of rose-leaves
I do not know.*

T S Eliot, Burnt Norton (1935)

ABREVIATURAS

DA Dopamina
NA Noradrenalina
D1 Receptor dopaminérgico tipo 1
D5 Receptor dopaminérgico tipo 5
NAB1 Receptor noradrenérgico tipo beta 1
NAB2 Receptor noradrenérgico tipo beta 2

OLM Memoria de Localización de Objeto
MWM Laberinto acuático de Morris
TTE Tiempo total de exploración
IR Índice de reconocimiento

HIP Hipocampo
AMY Amígdala
PER Corteza Perirhinal
CI Corteza Insular
CA1 Cuerno de Ámon 1
CA3 Cuerno de Ámon 2
DG Giro Dentado

CONTENIDO

RESUMEN

1 INTRODUCCIÓN

1.1 Definición y estudio de la memoria.	8
1.2 Participación del hipocampo.	10
1.3 Protocolos experimentales dependientes del hipocampo.	12
1.4 Bases neuronales, sinápticas y moleculares de la memoria.	14

2 ANTECEDENTES

2.1 Actualización de la memoria.	17
2.2 Neurotransmisión en la memoria contextual y espacial.	20
2.3 Dopamina y actualización.	25
2.4 Noradrenalina y actualización.	25

3 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

3.1 Hipótesis	29
3.2 Objetivo	29
3.3 Objetivos particulares	29

4 MÉTODOS

4.1 Sujetos experimentales.	30
4.2 Cirugía y fármacos.	30
4.3 Memoria de localización de objetos.	30
4.4 Laberinto acuático de Morris.	31
4.5 Análisis histológico de Inmunohistoquímica.	31
4.6 Análisis estadístico.	32

5 RESULTADOS

5.1 Prueba contextual	33
5.2 Prueba espacial	37

6 DISCUSIÓN

40

REFERENCIAS

43

Resumen

El hipocampo procesa diferentes tipos de información, entre ellas el componente contextual de la memoria de reconocimiento. Se han realizado muchos avances relacionados a los circuitos que rigen este procesamiento, a los tipos celulares y a la comunicación neuroquímica que ocurre durante la codificación de la información. En este trabajo estudiamos algunos de estos aspectos propios de la actualización de la memoria, usando una tarea de reconocimiento contextual.

En este laboratorio observamos que, en ausencia de terminales catecolaminérgicas, el hipocampo es incapaz de reconocer información contextual novedosa, la cual es clave para dar inicio a la actualización de la memoria. Más tarde, se comprobó la presencia de altas concentraciones de dopamina y norepinefrina durante la actualización de la memoria contextual. Por lo que nos llevó a pensar que estos dos neurotransmisores juegan un papel importante en la actualización memoria.

Se inyectaron Propranolol (antagonista de receptores β_1/β_2 noradrenérgicos) y SCH23390 (antagonista de receptores tipo D1 dopaminérgicos) en el área CA1 de hipocampo, en sujetos de grupos separados durante un protocolo de memoria de reconocimiento para evaluar la actualización. Como resultado se observa un efecto negativo en la evocación y actualización cuando se bloquean los receptores dopaminérgicos, mientras que al bloquear los receptores noradrenérgicos sólo se ve afectada la etapa de evocación.

Por otro lado, en un protocolo de laberinto acuático de Morris, se quiso comprobar la acción de estos neurotransmisores, ya que esta tarea supone diferencias en la motivación de la tarea. Se observó que ambos antagonistas tienen efectos negativos sobre la extinción de la memoria.

En conclusión, estos resultados indican que los neurotransmisores tanto dopamina y como norepinefrina están involucradas en mecanismos moleculares y de plasticidad neuronal que son importantes durante el periodo de labialización de la memoria.

1. Introducción.

La memoria es el proceso mental requerido para aprender, almacenar o recordar información de todo tipo. Los procesos de la memoria son actos del uso de la información de forma específica para mantenerla disponible o para traer de regreso información dentro del procesamiento de los pensamientos. El aprendizaje es el proceso biológico de adquirir nuevos conocimientos acerca del mundo, y la memoria es el proceso de retener y reconstruir ese conocimiento con el paso del tiempo.

Definición y estudio de la memoria

El estudio riguroso de la memoria no comenzó sino hasta el siglo XIX, en esta breve introducción se hablará de algunas ideas que ayudaron a darle forma a lo que conocemos como la neurociencia de la memoria de hoy en día.

El psicólogo Théodule Ribot, quien aunque no era un experimentalista fue un pionero en el estudio de la mentalidad humana, se basó en casos médicos y enfermedades que ayudarían a formar teorías de la función psicológica. Años después, Hermann Ebbinghaus, realizó los primeros estudios experimentales sobre las etapas de la memoria, recordado por su descubrimiento de la curva de olvido y la curva del aprendizaje. De principios a mediados del siglo XX, emergió una corriente del pensamiento basada en dos formas de condicionamiento, propuestas por los psicólogos Ivan Pavlov y Edward Thondike, hubo gran interés por estudiar estas formas de aprendizaje y las implicaciones que tenían en la memoria. Propusieron que aunque el funcionamiento de la mente no puede ser observado, el comportamiento sí.

La memoria se almacena en el cerebro, pero el cerebro es un lugar complejo, entonces, ¿dónde exactamente está la memoria? ¿Es posible ubicar memorias específicas en el cerebro? Este fue el trabajo de Karl S. Lashley, quien buscaba entender la conexión entre estructuras físicas del cerebro y procesos psicológicos de la memoria y el aprendizaje, realizó experimentos basados en ratas con lesiones inducidas quirúrgicamente, y propuso que, distintas partes del cerebro son usadas durante el procesamiento de la memoria.

Además de entender cómo y para qué funcionan distintas partes del cerebro, es importante cómo se crean las memorias. Es decir, ¿cómo las interconexiones entre neuronas influyen el procesamiento de información?. Donald Hebb, fundador de la neurociencia computacional, y el modelamiento matemático de la actividad cerebral, pensaba que las memorias eran codificadas en el sistema nervioso en dos etapas. La primera, donde la

excitación neuronal provocada por un estímulo, reverbera alrededor de ensambles de células. En la segunda etapa, las conexiones formadas por estas neuronas cambiarán físicamente bajo la regla “*neurons that fire together, wire together*” que significa que, aquellas neuronas que emiten disparos de forma sincronizada sufrirán cambios morfo fisiológicos que les permitirán facilitar su comunicación en el futuro.

En la neurociencia actual se estudia la memoria por medio de procesos separados comenzando por la entrada de información desde los inputs sensoriales, donde se almacena el procesamiento de información de *corto plazo*, que es necesario para detectar secuencias tales como el orden de los sonidos que forman una palabra. Este tipo de memoria dura menos de 1 min, y se caracteriza por almacenar poca información. Después, con los estímulos adecuados esta información pasa a formar parte de la *memoria de largo plazo*, la cual comprende una amplia variedad de datos y asociaciones que se guarda por horas, días, meses o incluso años. Más tarde, la memoria es expresada en forma de conducta, al evocarse. Así como existe la clasificación de la memoria por su temporalidad, también se le clasifica por tipo (**Fig. 1.1**).

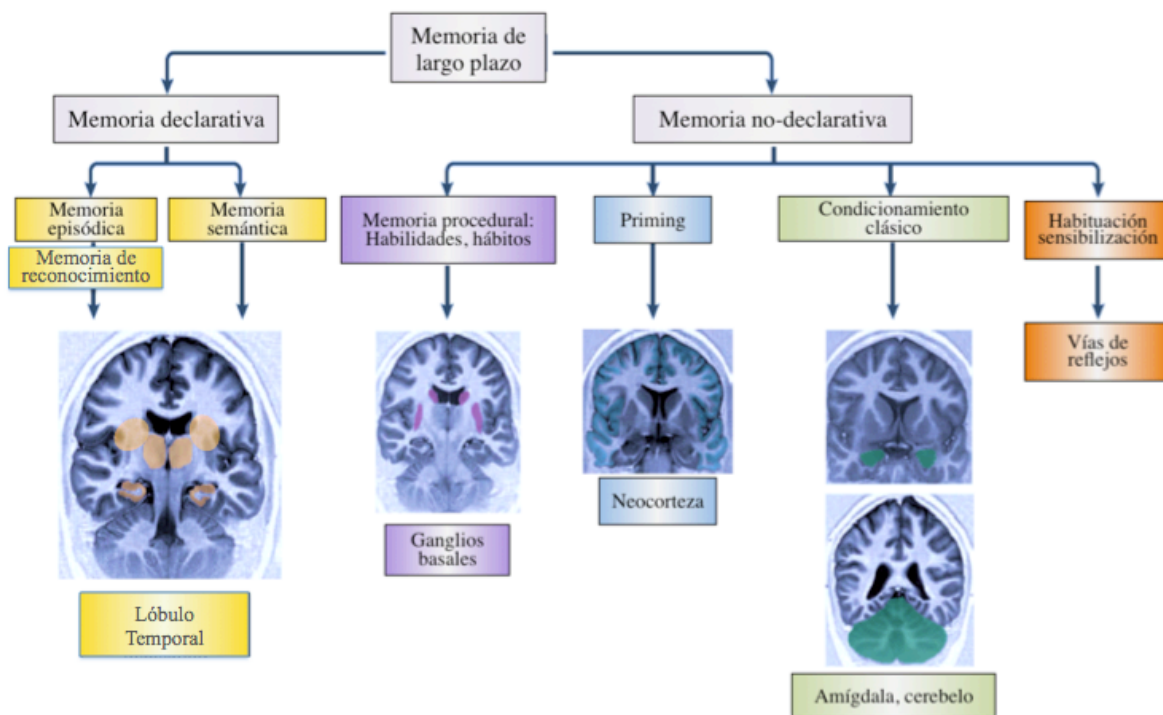


Figura 1.1 La división de los sistemas de memoria de largo plazo. (Modificado de Katharina Henke, *Nature Neuroscience*, 2010).

A grandes rasgos los distintos tipos de información almacenados en la memoria se podrían dividir en explícitos o implícitos. La memoria declarativa se refiere a recuerdos sobre hechos y datos que pueden ser explicados en palabras, a su vez este tipo de memoria se divide en **memoria semántica** y en **memoria episódica**. Depende del circuito del lóbulo

temporal, en el que está incluido el hipocampo y la corteza insular. La memoria semántica se refiere a la generalización de conocimiento y no está sujeto a un tiempo o lugar específicos. La segunda se compone de información sobre nuestras vidas que sí dependen del tiempo y espacio en los que fueron experimentados, como es el caso de la memoria de reconocimiento. Por el contrario la memoria no declarativa se refiere a las memorias que no pueden ser articuladas de la misma manera (Tulving, 1972). Estructuras como los ganglios basales son los intermediarios de la **memoria procedural**, la adquisición de habilidades motoras y hábitos (Knowlton et al. 1996). El sistema que incluye a la amígdala interviene con la **memoria emocional** que modula la consolidación de memorias en otros sistemas, así como el condicionamiento clásico (Cahill et al. 1995). Las regiones corticales son importantes para la **memoria de corto plazo** (Crowder et al. 1992) o memoria de trabajo, y el **priming** de estímulos recientemente experimentados (Tulving & Schacter 1990) así como de la memoria de largo plazo.

Participación del hipocampo

La información que entra en el cerebro a menudo es identificada con sentimientos de familiaridad o de novedad. Estas experiencias se basan en la actividad concertada de un conjunto de áreas cerebrales en el *lóbulo temporal* (LT), (Squire 2004). La cual incluyen las áreas perirhinal, parahipocampal, entorhinal así como la formación hipocampal. El sistema del LT, no es una vía de paso de la información sino un sistema con componentes distribuidos que interactúan entre sí. Estudios recientes demuestran que la corteza insular junto con la corteza cingulada forman una red de conexiones que responden a estímulos sobresalientes. Esta red llamada “red de saliencia”, se encarga de segregar lo más relevante de los estímulos internos y externos con el fin de guiar el comportamiento. De acuerdo a esta teoría el papel de la corteza insular es el de intervenir en otras redes involucradas en la atención y la cognición relacionada al individuo (Menon & Uddin 2010).

Por otra parte el hipocampo no es requerido para adquirir habilidades que se pueden expresar de manera inconsciente. Múltiples fuentes de evidencia llevó a los investigadores a deducir que el hipocampo está asociado a la formación de la memoria declarativa. Estas conclusiones fueron reforzadas por estudios contemporáneos de fMRI que demuestran que existe activación hipocampal dependiente de reconocimiento espacial y formación de memoria episódica (Clark & Squire 2013).

El hipocampo está anatómicamente situado para recibir información altamente procesada de regiones corticales, así como de otras proyecciones directas fuera del lóbulo temporal (**Fig. 1.2**). La vía principal de transmisión de información sensorial al hipocampo se hace a través de la corteza entorhinal. La capa II entorhinal provee el mayor input al hipocampo, por medio de la *vía perforante* a las *células granulares* del Giro Dentado (Dentate Gyrus, DG por sus siglas en inglés), el cual a su vez provee del mayor input a la región del *cuerno de Amón 3* (CA3) a través de la proyección de *fibras musgosas*, constituida por *células musgosas* y *células piramidales*. También existe una proyección desde la capa II entorhinal hacia CA3, donde los axones de esta región forman conexiones recurrentes extensas a través de fibras que se inervan a sí mismas, por lo que se encuentran asociaciones recurrentes entre neuronas. Es CA3 quien provee de input al *cuerno de Amón 1* (CA1), a

través de la vía *colateral de Shaffer* o *vía comisural*. CA1 también recibe proyecciones directas de la capa III entorhinal, así como del subículo (la vía *temporoamónica*), por ello se dice que recibe un input trisináptico. Finalmente CA1 proyecta hacia el subículo, pero también hacia la capa V entorhinal. A su vez, el subículo manda proyecciones a la capa IV y V entorhinales (Clark & Squire 2013)

Tal región parece estar bien capacitada para formar asociaciones entre contextos y estímulos en la memoria, lo que permite recordar un estímulo complejo cuando solo una parte del estímulo está presente (O'Reilly *et al.* 1994). Las neuronas hipocampales están más involucradas en el re-establecimiento de representaciones corticales detalladas, que en ordenar los detalles de estas representaciones. Además las iteraciones repetitivas entre la corteza y el hipocampo (con el área parahipocampal como intermediario) sirven para co-activar áreas corticales extensas para que mas tarde éstas desarrollen enlaces entre memorias detalladas sin la intervención del hipocampo. De esta manera las conexiones que provee el hipocampo también pueden ser la base de su función temporal en la consolidación de memorias corticales (Eichenbaum 2000).

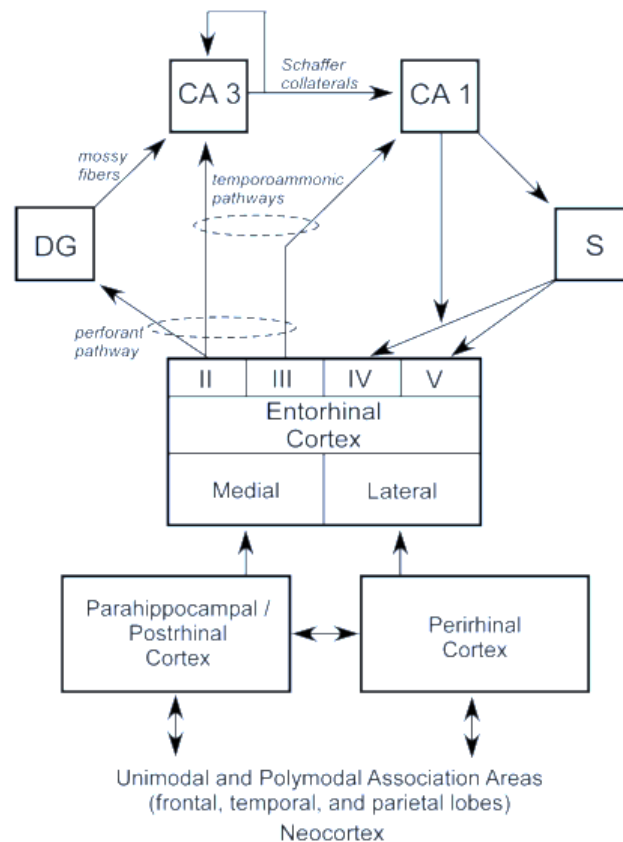


Figura 1.2. Esquema de conexiones en el sistema del lóbulo medial temporal.

El hipocampo definido como el DG, CA3, Ca1, y subiculum (S), recibe información altamente procesada de regiones neocorticales a través de tres áreas corticales temporales: entorhinal, perirhinal, y parahipocampal. Así como a través de otras proyecciones fuera el lóbulo temporal. La figura muestra una forma simplificada de entender la forma en la que entra la información al hipocampo, de las capas entorhinales II y III y fluye de forma unidireccional hasta regresar hacia las capas entorhinales IV y V. (Modificado de R. E. Clark and L. R. Squire, 2013 *PNAS*)

Protocolos experimentales dependientes del hipocampo

En humanos la memoria declarativa es expresada a través del recuerdo consciente, esto significa que se puede acceder y expresar memorias declarativas para resolver problemas por medio de inferencias. Por ello una forma de estudiar la creación del espacio de una memoria por sobre otras experiencias, y de hacer inferencias del conocimiento asociado, es entrenar a sujetos en diferentes experiencias que comparten elementos comunes y después comprobar si estas experiencias han sido asociadas a la memoria para resolver nuevos problemas. Se puede aplicar este acercamiento a varios dominios relevantes en la vida de los animales, como por ejemplo, las relaciones espaciales entre estímulos en un ambiente específico.

La memoria espacial es el proceso cognitivo de reconocer, codificar y evocar puntos de referencia en el entorno, para permitir al organismo navegar y existir en el mundo. Es del dominio del hipocampo y del lóbulo medial temporal con conexiones a la corteza retrosplenial y parietal. Estudios en humanos y animales han demostrado el papel importante que juega el hipocampo en la navegación del mundo alrededor de nosotros. En humanos el daño al lóbulo temporal causa perturbaciones en la navegación espacial (Burgess et al. 2002). En paralelo, a través de múltiples manipulaciones tales como, lesiones, estudios electrofisiológicos y optogenéticos, el hipocampo ha demostrado ser igual de importante para la memoria espacial animal. Perturbaciones en el tejido hipocampal o silenciamiento de neuronas en el hipocampo lleva a déficits en la memoria espacial (Yamamoto et al. 2014; Ferbinteanu et al. 2003) Este rol paralelo del hipocampo tanto en humanos como en animales nos permite realizar experimentos en animales con el propósito de extrapolar los descubrimientos en humanos.

En varios protocolos, la necesidad de sintetizar muchas experiencias sobrepuestas es suficiente para requerir función hipocampal. Un caso de aprendizaje espacial, es el del **Laberinto Acuático de Morris (Fig. 1.3)**. En esta tarea, las ratas o ratones nadan en una piscina de agua opaca, donde aprenden a llegar a una plataforma escondida, lo cual actúa como un reforzador positivo. Es importante subrayar que, el entrenamiento convencional de la tarea involucra la variabilidad de cuatro sesiones que difieren en los puntos de salida. El objeto es que el animal aprenda a orientarse basándose en las claves contextuales intra- y extra- laberínticas creando un mapa cognitivo, así que, de manera independiente de los puntos de salida siempre llega a su meta. Después de entrenar, la plataforma de escape es removida y la memoria es evaluada. Se espera que los animales pasen un mayor porcentaje de tiempo en el cuadrante donde se encontraba la meta. La localización de la plataforma puede cambiar para investigar la flexibilidad cognitiva y la reversión del aprendizaje. Bajo esta condición los animales con daño hipocampal típicamente fallan en adquirir la tarea. Pero si se le permite al animal empezar cada sesión desde un mismo punto, los animales con daño hipocampal adquieren la tarea casi tan eficientemente como los animales normales, lo cual indica que la navegación del mapa mental creado con base en claves contextuales depende del hipocampo, y la memorización del camino para llegar hacia la señal donde esta la plataforma depende más bien del estriado, importante durante la memoria procedural (McDonald & White 1994; D'Hooge & De Deyn 2001).

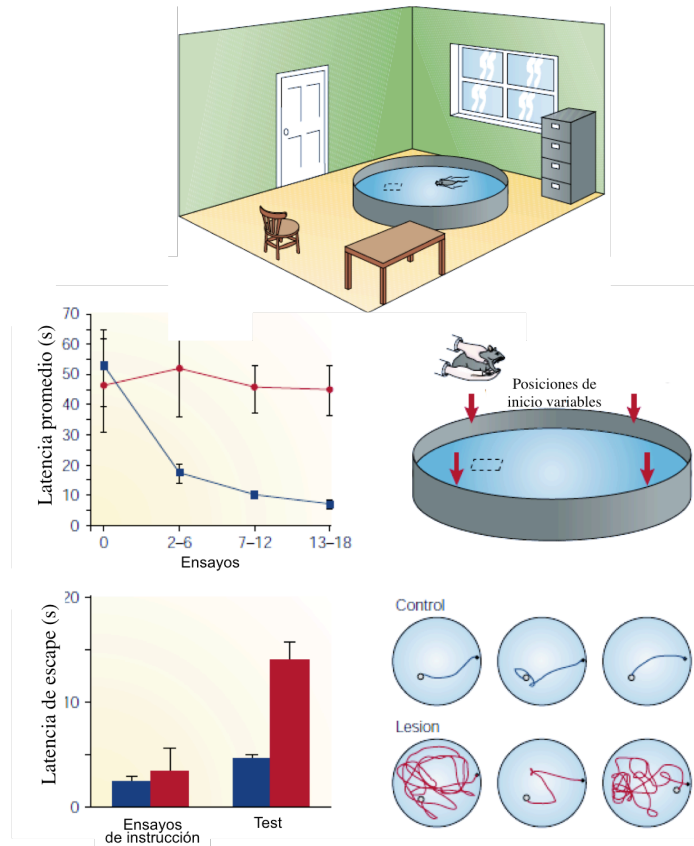


Figura 1.3. Ilustración del laberinto acuático de Morris, y claves ambientales típicas. La plataforma de escape, sumergida debajo del agua no puede ser vista por el ratón. El animal empieza cada sesión en una de las cuatro posiciones, y se mide el tiempo que requirió para encontrar la plataforma. En la versión convencional de la tarea los ratones mejoran sus tiempos de latencia de llegada a la plataforma (línea azul), mientras que aquellos ratones con daño hipocampal no lo hacen (línea roja). Durante el test, sólo los ratones normales (línea azul), localizan la plataforma de escape rápidamente. Ejemplos de trayectos de nado en nuevos ensayos por ratones normales (azul) y ratones con daño del hipocampo (rojo). Ratones normales nadan hacia la plataforma, pero los ratones con daño hipocampal están severamente dañadas. (Modificado de H. Eichenbaum, 2000, Nature Reviews).

Existe otra tarea dependiente del hipocampo llamada Memoria de Localización de Objeto, donde se evalúa la memoria contextual y espacial formada. A diferencia del laberinto acuático esta tarea se basa en la creación de sistemas tanto de codificación espacial dependientes del punto de vista del sujeto (egocéntrica), como de punto invariable (alocéntrica) (Fig. 1.4).

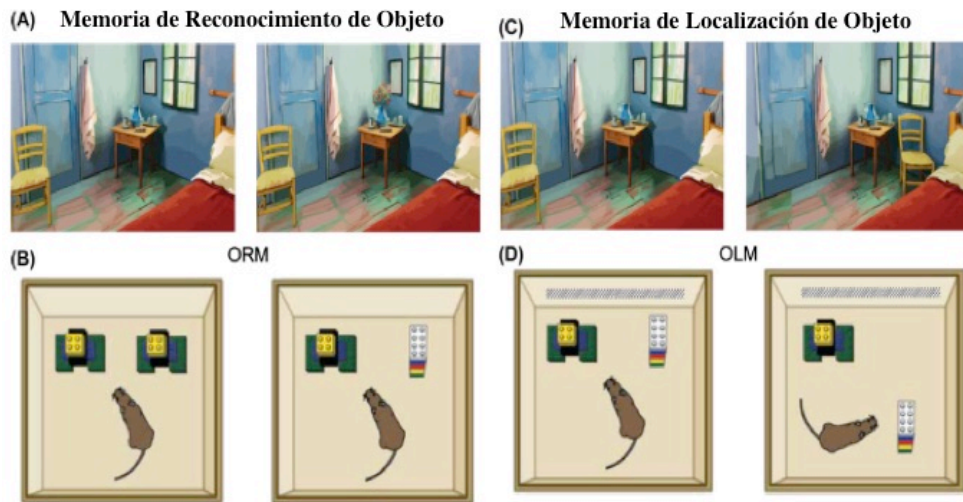


Figura 1.4. Componentes de la memoria de reconocimiento y su evaluación en roedores. (A) Representación esquemática de memoria de reconocimiento de objetos novedosos en humanos; (B) La habilidad de reconocer objetos novedosos puede ser evaluada en roedores con la introducción de un objeto novedoso en un ambiente al que ya han sido expuestos previamente (ORM, Object recognition memory); (C) Representación esquemática de memoria de localización de objeto novedosa en humanos; (D) La habilidad de reconocer la localización novedosa del objeto puede ser evaluada en roedores presentando un objeto familiar en una localización novedosa (OLM, Object location memory). Modificado de Moreno-Castilla et al. 2018.

Este protocolo es derivado de otro llamado Memoria de Reconocimiento de Objeto (ORM por sus siglas en inglés), que consiste en que, después de que el sujeto se habitúa al entorno en sesiones previas, aprende a identificar un par de objetos. El día de la prueba, se evalúa la memoria al cambiar uno de los objetos por otro nuevo, y se observa si el sujeto nota este cambio a través de la exploración. En cambio, en la Memoria de Localización de Objeto (OLM por sus siglas en inglés), se evalúa si el sujeto es capaz de recordar el “dónde”, en lugar del “qué” de los objetos. Entonces, el día de la prueba se cambia la localización de los objetos mas no su identidad.

Bases neuronales, sinápticas y moleculares

Se propuso un modelo para los mapas espaciales construido por poblaciones de células especializadas en la formación hipocampal que disparan con relación directa a los lugares (células de lugar). El flujo de información espacial en este modelo empieza con estímulos sensoriales y contextuales del neocórtex moviéndose hacia la corteza entorrhinal donde la formación egocéntrica es codificada. La señal después se mueve hacia el DG, donde se cree que esta mezcla de información es organizada y mandada a CA3 y CA1. Aquí es donde la construcción del mapa espacial se piensa que es acomodado en trazos neuronales. Este modelo le abrió las puertas a la investigación de células especializadas tales como “células de dirección” en la corteza entorrhinal y CA1 en el post-subículo (Taube et al. 1990), “células frontera” en el subículo (Hartley et al. 2000), “células cuadrícula” en la corteza

entorhinal (Hafting et al. 2005), “células de velocidad” en la corteza entorhinal medial (Kropff et al. 2015). Las células de lugar se someten a un “rearrreglo” y adoptan nuevas representaciones cuando los animales son expuesto a ambientes novedosos. El mapa aloentróico resultante incluye localizaciones predominantemente independientes del camino para llegar ahí (Buzsáki & Moser 2013).

A la par del descubrimiento de las células de lugar también se descubrió en el hipocampo un mecanismo para explicar cómo es que se asocian diferentes poblaciones de neuronas para representar la información, un fenómeno llamado *long-term potentiation*, (*LTP*), el cual, se propuso como un mecanismo de *plasticidad sináptica* dependiente de la experiencia (Lømo 1966). Sólo las sinapsis que están activas cuando la célula post-sináptica es despolarizada son potenciadas específicamente, y por el otro lado sinapsis inactivas no son potenciadas. Por lo tanto, aquellas uniones entre grupos de sinapsis que son activas de forma coordinada y contribuyen juntas a la activación de la neurona blanco post sináptica serán reforzadas. Esto provee de un mecanismo por el cual ensambles de neuronas codifican diferentes características del ambiente que se presentan juntas formando asociaciones en la memoria.

Los mecanismos de inducción inicial de LTP varían en diferentes regiones del hipocampo y en la misma región con diferentes patrones de estimulación. En la región CA1, una estimulación de 100 Hz induce una forma de LTP que es dependiente de la activación de los receptores NMDA. Además las propiedades de este receptor podrían explicar las cualidades asociativas y dependientes de actividad del LTP. Los receptores NMDA de voltaje y de unión a ligando pueden volverse activos, requieren de la depolarización de la membrana post-sináptica, además de la liberación de glutamato de la terminal pre-sináptica. Por lo tanto los receptores NMDA son funcionales solo en sinapsis activas y cerca de la liberación de neurotransmisores. Los receptores NMDA activados producen un fuerte flujo de Ca^{2+} , que es requerido para inducir el LTP. Esta señal de calcio puede activar un amplio rango de vías de señalización incluyendo CAMKII, PKC, PKA, MAPK, cada una implicadas en la inducción del LTP así como su estabilización (Lisman et al. 2012; Kessels & Malinow 2009; Kerchner & Nicoll 2008; Huang et al. 2013; Malenka & Bear 2004). Estas vías moleculares de señalización también son alteradas por transmisores tales como la dopamina, requerida para establecer el LTP de CA1 (Frey et al. 1991). Un estudio donde se explora el papel de las células de lugar en la memoria espacial sugiere que el almacenamiento y evocación de las células es modulado por un proceso cognitivo que va de lo general a lo específico, y que estas células funcionan como correlatos neuronales de la memoria espacial. Este input modulador heterosináptico requerido para su estabilidad es dado por la dopamina a través de receptores tipo D1/D5.

La dopamina contribuye a la regulación del procesamiento de información y control del comportamiento. Es importante para procesos de consolidación de la memoria, y para la adaptación de respuestas aprendidas con base en la experiencia.

Estos datos sugieren que la dopamina que actúa sobre los receptores D1/D5 presentes en hipocampo modula tanto la adquisición como la consolidación de la extinción dependiente de contexto. En contraste el receptor D2, tal vez contribuye con aspectos independientes al

contexto en este tipo de aprendizaje (Agnès et al. 2016). Se sabe que la proporción de receptores dopaminérgicos en hipocampo es más grande para los de tipo D1/D5, y mucho más pequeña para los D3, D4, mientras que los D2 se encuentran de manera presináptica.

La infusión de dopamina dispara la sincronización entre neuronas principales y el hipocampo en frecuencia theta, lo cual podría facilitar la formación de ensambles de células y el almacenaje a largo plazo de la información. Estos mecanismos podrían ser parte de procesos que controlan cuál es la información que se almacena en la memoria. Una posibilidad es que aquellas trayectorias de conexiones nerviosas menos visitadas podrían provocar más señales de novedad (comunicada por neuromoduladores) que podría dar lugar a actividad sincronizada entre poblaciones neuronales, y por lo tanto, a la estabilización de trazos de memoria (Cheng & Frank 2008).

2. Antecedentes.

Actualización de la memoria

La visión tradicional del almacenamiento de la memoria establece que cada vez que recordamos una experiencia pasada, la memoria original es evocada. Esta visión ha sido retada por datos que demuestran que cuando las memorias son evocadas se hacen susceptibles a cambios, tales que, en evocaciones futuras hacen uso de esta información cambiada. A eso se le conoce como **actualización**. ¿Qué es, cómo ocurre y que significa en términos de la teoría de la memoria ya establecida?, son muchas de las preguntas que son investigadas en este tema.

Desde hace casi 15 años, una gran cantidad de estudios han demostrado que las memorias consolidadas, que deberían ser insensibles a agentes amnésicos, se revierten a un estado vulnerable si son evocadas (es decir, se reactiva el trazo de memoria). Estas memorias activas (lábilis), pueden entonces atravesar otro periodo de consolidación, que en muchas maneras es similar (mas no idéntico) a la formación de una nueva memoria. A este proceso se le ha denominado actualización (**Fig. 2.1**).

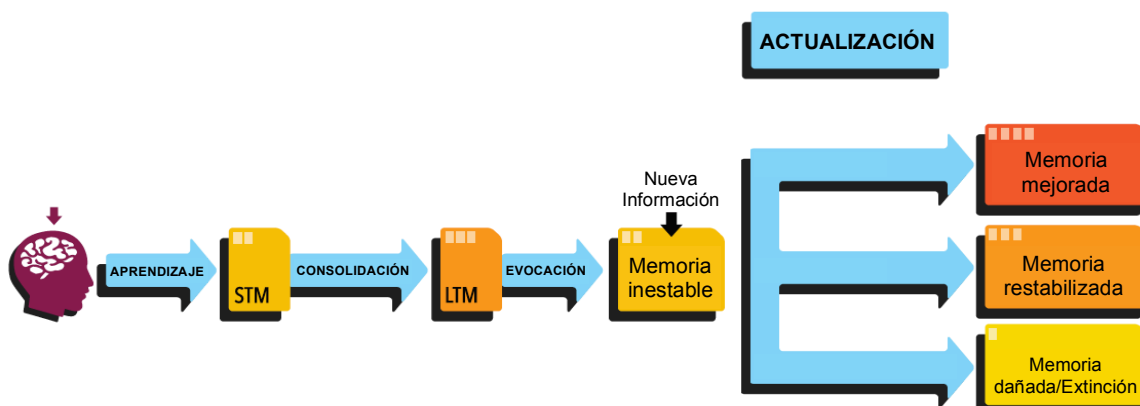


Figura 2.1. Esquematación de las etapas de la memoria. STM (short term memory), LTM (long-term memory). Imagen modificada a partir de Bermúdez-Rattoni & McGaugh 2017.

La hipótesis subyacente propone que las memorias pueden ser estabilizadas y desestabilizadas y re-estabilizadas. Por lo tanto el almacenamiento de la memoria es un proceso dinámico. Pero un aspecto importante de esta modulación, es que las memorias pueden modificarse y modularse: pueden ser debilitadas, interrumpidas, o mejoradas, y ser asociadas a trazos similares (**Fig. 2.1**).

La ventaja general de la actualización es que provee de la habilidad de responder en una manera flexible y adaptativa a cambios ambientales. Pero con base en los descubrimientos contradictorios que existen sobre la actualización, se ha propuesto una serie de factores limitantes, llamadas *condiciones límite*. La cuales son la edad de la memoria (el tiempo que

ha transcurrido desde que se entrenó al animal), la fuerza del trazo de memoria (o cantidad de entrenamiento), y la duración del test de reactivación, son factores determinantes para que ocurran las modificaciones a la memoria ya antes mencionadas. Memorias nuevas y fuertes son más susceptibles a manipulaciones post-evocación, y sesiones de reactivación cortas son más propensas a la actualización. También, la cantidad de nueva información, es decir el componente de “novedad” puede funcionar como condición límite de la actualización. La disponibilidad de nueva información puede ser necesaria para que ocurra la actualización. Se han identificado los correlatos moleculares de algunas condiciones límite, por ejemplo, en condicionamiento contextual asociado al miedo, las reactivaciones cortas que inician la actualización resultan en un incremento en la especie fosforilada de CREBP, a diferencia de lo observado durante sesiones de reactivación largas.

Algunos autores discuten si la evocación es mediadora de la actualización. Haciéndolo a través de experiencias novedosas presentadas junto con memorias reactivadas, mientras que otros proponen que, aunque la reactivación del trazo de memoria es esencial y es mediador de su actualización, las experiencias novedosas que difieren de la original pero que ocurren con la memoria reactivada puede en su lugar, desencadenar un nuevo proceso de consolidación. Por lo tanto la memoria actualizada constituye una nueva memoria que coexiste en paralelo con la antigua. Dado que ambos procesos son susceptibles a los mismos tratamientos amnésicos, usarlos no ayuda a distinguir si es un mismo trazo o son trazos paralelos.

Un modelo que explica porqué la similitud entre eventos presentes en la evocación de la memoria y la experiencia previamente almacenada puede dar como resultado la competencia entre el nuevo aprendizaje y actualización de la memoria (por medio de actualización) ha sido propuesto para memorias dependientes de hipocampo. Sugiere que la baja similitud entre la experiencia antigua y la nueva llevan a nuevo aprendizaje, pero que la alta similitud podría llevar a la actualización de la memoria original.

Numerosos mecanismos se han implicado en la actualización que difieren dependiendo de la estructura donde sean analizados pero, en general, la mayoría de los mecanismos críticos en la actualización también están asociados a la consolidación. Pocos procesos moleculares, tales como aquellos que involucran a CREBP y Zif268 y la cinasa ERK, se ha demostrado que son reclutados diferencialmente durante la actualización, pero es probable que estas diferencias estén dadas por las áreas cerebrales involucradas, ventanas de tiempo diferentes, o dosis. Pero podría haber mecanismos selectivos para cada proceso: la maquinaria de traducción requerida para la síntesis de nuevas proteínas en la amígdala parece diferir durante la consolidación y actualización del condicionamiento asociado al miedo. Antes de que ocurra la síntesis de proteínas puede haber un proceso de de-consolidación, donde, dependiendo del tipo de memoria y región cerebral, requiere de la degradación de

proteínas, receptores canabinoides, señalización histamínica, y receptores NMDA. Después de la deconsolidación, la actualización involucra canales de calcio tipo L regulados por voltaje (L-VGCCs) para promover la plasticidad sináptica así como muchos mecanismos de plasticidad conocidos que llevan a la actualización de la memoria. Estos incluyen a la activación de vías de transducción de señales como las que están mediadas por ERK, PKA y CamKII, que lleva a la regulación de la traducción y transcripción de proteínas. Patrones de expresión genética en plasticidad sináptica de largo plazo y consolidación de la memoria como esas mediadas por factores de transcripción como CREB, C/EBP y Zif268, son requeridos para la actualización de la memoria, implicando que, así como en la consolidación, durante la actualización ocurren cambios sinápticos morfológicos. Mecanismos que son reguladores generales de expresión genética, como modificación epigenética, regulación hormonal, controlan la actualización de la memoria. No es posible proponer un modelo que explique todos los fenómenos que ocurren en las diferentes estructuras neuronales durante la actualización. Sin embargo, se puede concluir que la actualización parece un proceso que vuelve a iniciar un proceso de consolidación.

Existen dos hipótesis que derivan del proceso de la consolidación para explicar la actualización. Se ha insinuado que este fenómeno sirve como un *mecanismo de almacenamiento*, donde la evocación de una memoria a largo plazo da como resultado un período lábil adicional que requiere actualización, un proceso similar pero diferente a la consolidación. Esta hipótesis propone que la actualización después de la evocación actúa como una fase tardía de consolidación, y que continúa hasta que la memoria es totalmente consolidada. Otra posibilidad es que la actualización involucra tanto el almacenamiento como la formación de “conexiones de evocación” que permiten evocar la memoria. Estas conexiones son lo que permiten mantener la capacidad de la memoria para ser evocada a largo plazo. Este concepto supone que la “evocabilidad” y el “almacenamiento” son componentes separados del proceso de actualización.

Debido a la evidencia creciente que sugiere que la actualización es un fenómeno separado de la consolidación se ha propuesto que la actualización se compone de dos procesos independientes. Uno que es el responsable de la expresión de la memoria (la cual es evaluada en los protocolos de memoria como evocación), llamado *ejecutor*, y otro es el encargado de incluir la nueva información en el sistema estabilizando el nuevo trazo de memoria llamado, *integrador* (Rodríguez-ortiz & Bermudez-Rattoni 2016).

Neurotransmisión en la memoria contextual y espacial.

Se ha demostrado que la actualización ocurre en diferentes paradigmas de la memoria y sistemas neuronales tales como: memoria aversiva (Debiec et al. 2002), apetitiva, memorias neutrales, en tareas simples y complejas, en memorias emocionales, declarativas (Rossato et al. 2007), incidentales, espaciales (Rossato et al. 2007; Balderas et al. 2013), memorias asociadas a drogas (Milekic 2006), memorias motrices, y en hipocampo, amígdala y memorias dependientes de la corteza (por ejemplo, corteza insular) en muchos organismos.

Para estudiar la actualización en la memoria declarativa, se usa un protocolo de Memoria de Reconocimiento de Objetos. Esta tarea mantiene una analogía cercana a las tareas de reconocimiento usadas en humanos para evaluar impedimentos en la memoria. En este protocolo se puede incluir una fase de evocación o reactivación, y de actualización. De hecho, un estudio realizado en nuestro grupo se enfoca en la evocación y actualización de los procesos que toman lugar en la corteza perirhinal durante la reactivación de la memoria de reconocimiento de objetos (Balderas et al. 2013) **Fig. 2.2**. Lo hacen por medio de la infusión del agonista del receptor GABA, muscimol (musc), porque reportes previos han demostrado que la inactivación temporal de estructuras cerebrales, como el hipocampo y la corteza prefrontal revela efectivamente si estas estructuras son esenciales para el proceso de evocación de diferentes tipos de memoria. Además ha sido demostrado que las infusiones de muscimol en el hipocampo afectan la evocación de memoria espacial sin afectar el proceso de nuevo aprendizaje. Por lo tanto, para evaluar la evocación se usó el muscimol para inactivar temporalmente la corteza perirhinal y por otro lado, también se usó anisomicina (ani) que fue aplicada para explorar sus efectos sobre la actualización.

Este trabajo explora la dicotomía entre la evocación y la actualización, la primera podría no ser necesaria para la segunda. Además, refuerza la teoría acerca de los procesos diferentes que se llevan a cabo en la etapa de reactivación.

En otro trabajo realizado por nuestro grupo de investigación, (Santoyo-Zedillo et al. 2014) también se propuso que la actualización de memoria de reconocimiento es independiente de la evocación en la corteza perirhinal (**Fig. 2.3**), y además demuestra que la participación de los receptores NMDA y AMPA en esta estructura durante este fenómeno está dissociada. Esto se demostró evaluando el efecto de la inhibición farmacológica por CNQX, inyectándolo antes de la reactivación de la memoria (lo que también se le conoce como evocación), así como el efecto de AP5 justo al finalizar la reactivación. Al evaluar al día siguiente, cuando se inyecta AP5 la actualización se ve afectada con o sin evocación.

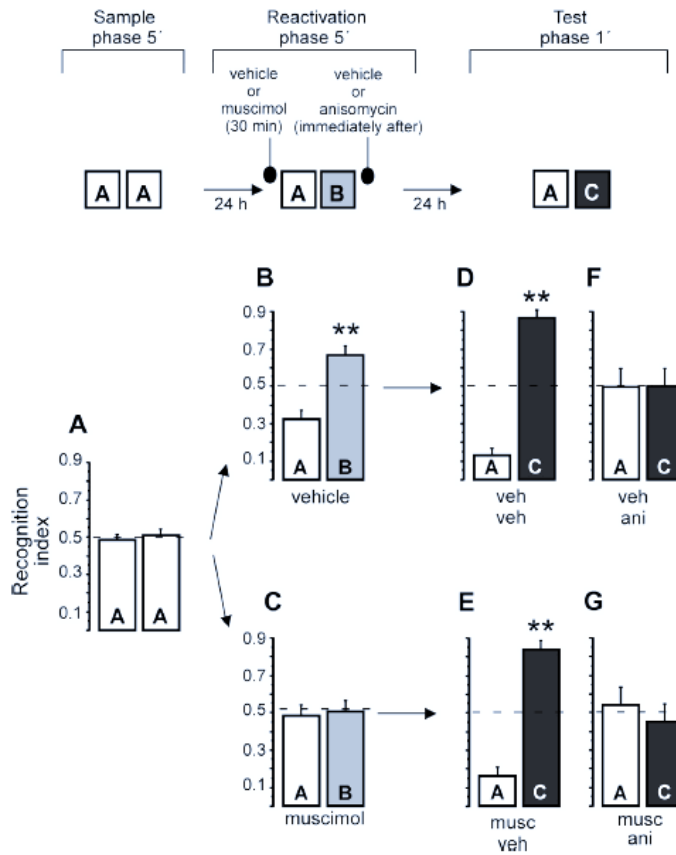


Figura 2.2. La inhibición de síntesis de proteínas afecta la actualización de la memoria de reconocimiento en la ausencia de evocación. En contraste con los animales inyectados con salina (B), aquellos inyectados con muscimol no presentaron preferencia por ningún objeto en la fase de reactivación (C). (E) El grupo musc/veh muestra preferencia por el objeto novedoso, revelando que la actualización no se afectó a pesar de la inhibición de la evocación. (F, G) La anisomicina afectó la actualización sin importar si se bloqueaba o no la evocación. $P < 0.01$. Modificado de Balderas et al. 2013.

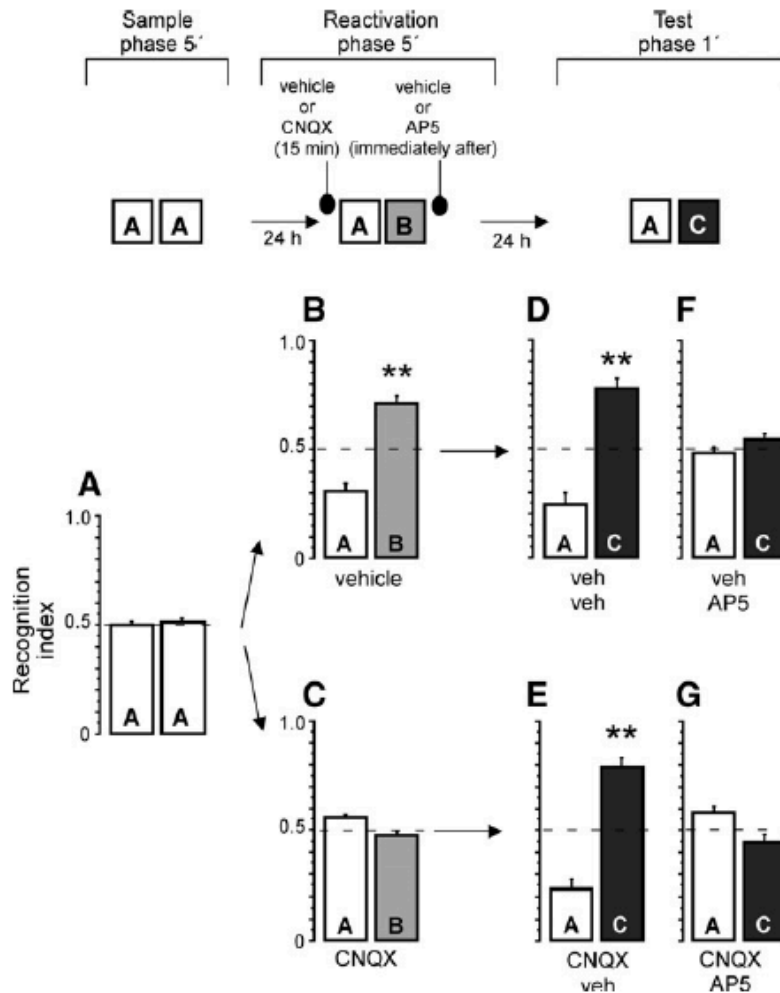


Figura 2.3. El antagonista del receptor NMDA afectó la actualización de la memoria de reconocimiento en la ausencia de evocación. A) Índice de reconocimiento en adquisición (sample phase) donde se presentan dos objetos idénticos a los sujetos. B) y C) Animales inyectados con solución salina (veh) (B) muestran preferencia por el objeto novedoso o CNQX (C) que no muestran preferencia por ningún objeto en la fase de reactivación. D) y E) Los grupos veh/veh y CNQX/veh muestran preferencia por el objeto novedoso, revelando que la actualización no se ve afectada cuando se inyecta CNQX durante la evocación. F, G) AP5 afecta la actualización sin importar si se inhibió o no la evocación. ** $p < 0.01$. Modificado de Santoyo-zedillo et al. 2014

Por otra parte, el protocolo de ORM tiene un derivado llamado Memoria de reconocimiento de contexto, (OLM, object-location memory). Este tipo de tareas se basan en la preferencia de los roedores para explorar aquellos objetos con identidad o localización novedosa, la cual es un componente clave para iniciar el proceso de actualización.

En otro trabajo de la misma autora, (Balderas et al. 2008), se disocia la participación de la corteza insular y el hipocampo en el reconocimiento de objetos y de contexto respectivamente. Basándose en esta información se quiso explorar lo que estaba sucediendo en la región extracelular del hipocampo durante una prueba de memoria que

evalúa solamente el componente contextual del reconocimiento de un objeto. Esta prueba, diferente a la usada por Balderas, se le conoce como Memoria de Localización de Objeto (OLM por sus siglas en inglés). Esta tarea se utiliza para evaluar el cambio de localización de un objeto familiar respecto a una clave contextual (una tira de barras blancas y negras posicionada a 5 cm del objeto).

Este protocolo fue usado en un estudio realizado por Moreno-Castilla et al. 2017, donde se midió la concentración de cuatro neurotransmisores mediante microdiálisis. Se recolectaron muestras de la composición extracelular en la región CA1 del HIP durante la etapa de la prueba de memoria de largo plazo, en donde se presenta el cambio contextual (**Fig. 1.4**). Se observa que existen diferencias respecto a la concentración extracelular basal de dopamina y norepinefrina en el hipocampo (HIP) en el momento justo donde ocurre el cambio contextual (fracción F4 de la medición por microdiálisis).

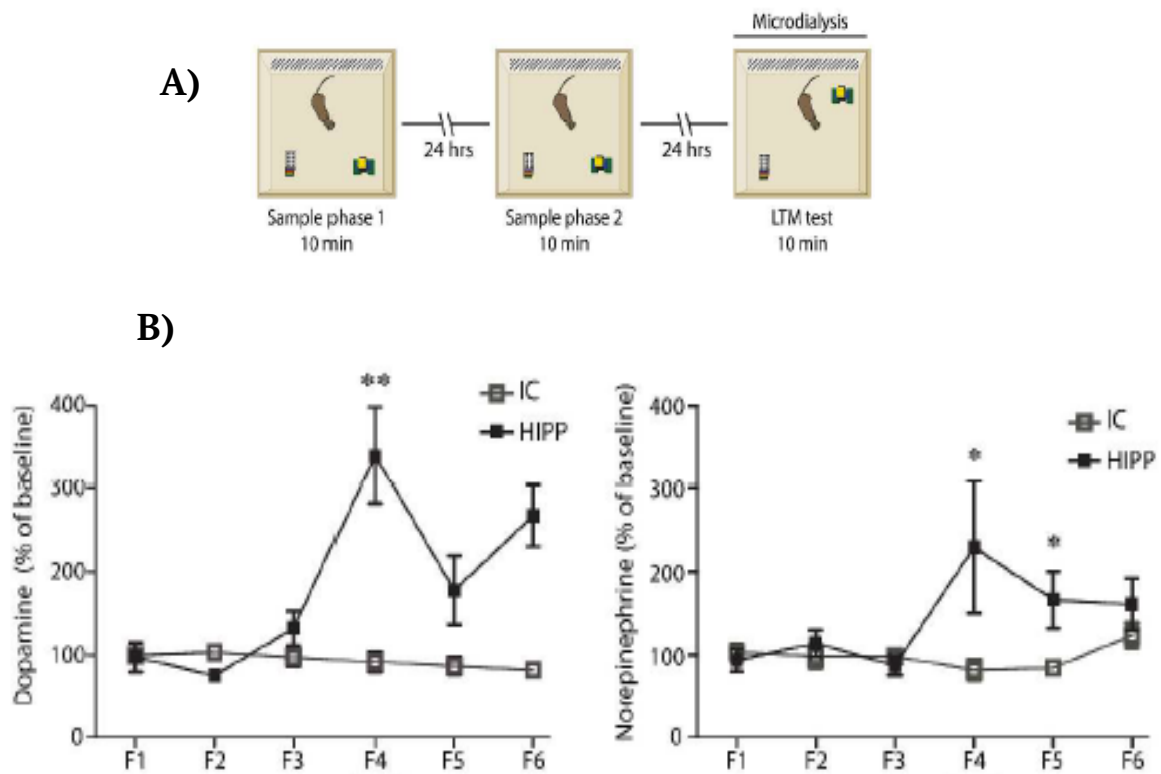


Figura 1.4. En el área CA1 de hipocampo hay aumento en la concentración de catecolaminas durante la presentación de novedad contextual. **A)** Esquema representativo de protocolo de Memoria de Localización de Objeto. **B)** porcentaje respecto a la basal de concentración de dopamina y norepinefrina en el hipocampo asociada al reconocimiento de una configuración novedosa. Modificado de Moreno-Castilla et al. 2017

Después de confirmar la presencia de estos neurotransmisores en el HIP, usando este mismo paradigma de memoria se procedió a realizar otro experimento, en donde se inyectó 6-hydroxy dopamina (6-OHDA), una neurotoxina que destruye fibras y neuronas

catecolaminérgicas e impide tanto la liberación de dopamina como de norepinefrina cuando se administra localmente. Fue inyectada en el HIP, siete días antes de la prueba de memoria de largo plazo del protocolo OLM. Demostraron que aquellos animales lesionados con 6-OHDA eran incapaces de reconocer la localización novedosa. Además en otro grupo inyectado también con 6-OHDA en HIP, se realizó ORM, en donde la lesión no tuvo efecto sobre la identificación del objeto, apoyando lo observado por Balderas *et al.* 2008 (Fig. 1.5.).

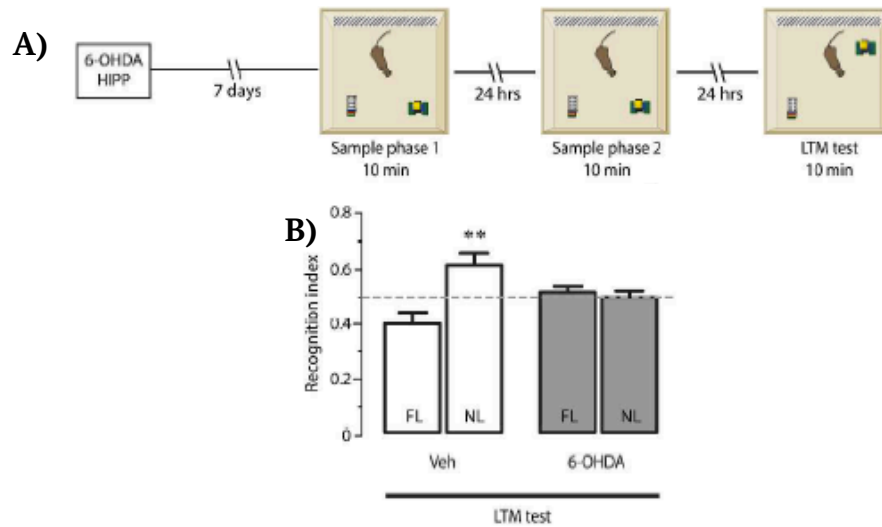


Figura 1.5. Administración intrahipocampal de 6-hidroxy dopamina afecta la Memoria de Localización de Objeto. A) Representación esquemática de protocolo conductual en donde la 6-OHDA fue administrada intrahipocampalmente 7 días antes de la presentación de los objetos. B) índice de reconocimiento para la localización familiar del objeto (FL), y localización novedosa del objeto (NL). Modificado de Moreno-Castilla et al. 2017

Con base en este trabajo sugerimos que la actividad de los receptores de estos neurotransmisores es esencial para la codificación de estímulos novedosos contextuales. Proponemos que estos receptores podrían estar relacionados a cambios en la plasticidad sináptica, tales como la vía de PKA/CREB, que modifica las interacciones sinápticas reforzando la memoria de reconocimiento (Duzel 2010, Rangel-Gomez and Meeter 2016). Se ha reportado que la dopamina mejora el aprendizaje, sin embargo estos estudios se han realizado en paradigmas apetitivos o de recompensa, por lo que

Dopamina & Actualización

La novedad es un componente importante en los protocolos de actualización, sin información nueva suficiente simplemente no se lleva a cabo este proceso. En el caso de los protocolos de ORM y OLM, se requiere que los animales identifiquen y memoricen la identidad o localización de objetos, lo cual, realizan de manera sencilla ya que prefieren la novedad. Se ha demostrado que la exposición a estímulos novedosos se relaciona a la actividad catecolaminérgica en varias estructuras tales como el VTA (McNamara 2014) y Locus Coeruleus (Aston-Jones and Cohen 2005). También se ha demostrado que un estímulo novedoso provoca la liberación de dopamina y noradrenalina en el hipocampo y la corteza prefrontal (Ihalainen 1999). Cabe destacar que pocos estudios han mostrado los efectos de la actividad dopaminérgica en memorias que son independientes de variables motivacionales apetitivas o aversivas, tales como las tareas de ORM y OLM.

Se ha evaluado el efecto de la señal dopaminérgica en la consolidación del ORM con la administración de agonistas y antagonistas de receptores dopaminérgicos tipo D1 y D2 justo después de la fase de adquisición (de Lima 2011). Este estudio demostró que los agonistas selectivos del receptor D1, SKF38393, así como el agonista no selectivo apomorfina, mejoran la memoria de largo plazo. Sin embargo a dosis altas de SKF38393 afecta la consolidación de ORM. Estos resultados sugieren que la modulación del sistema dopaminérgico es necesaria para que sucedan los mecanismos de consolidación.

Noradrenalina & Actualización

La modulación noradrenérgica de la tarea de reconocimiento ha sido explorada con la administración de epinefrina después de la sesión de adquisición de ORM, haciendo que los animales retengan la memoria hasta 96 h después, en contraste con animales inyectados con salina que no presentaron retención de la memoria en el mismo lapso de tiempo. En otro trabajo la memoria fue alterada por el bloqueo de receptores β adrenérgicos, lo cual sugiere que estos receptores juegan un papel importante en la estabilización a largo plazo de la memoria de reconocimiento (Dornelles et al. 2007). En un trabajo realizado con propranolol (antagonista de receptores β adrenérgicos), es inyectado de forma intraperitoneal antes de la evocación, y se observa que, comparado con el control al que le fue inyectado salina, afecta la evocación de una tarea de reconocimiento espacial (Sun et al. 2011).

Se ha sugerido que la manera a través de la cual los receptores β adrenérgicos mejoran la memoria, es porque modulan el componente emocional de esta a través de la amígdala (Barsegyan et al. 2014; Roosendaal et al. 2008). En relación a este tema se ha observado que cuando se reduce el nivel de ansiedad en los sujetos por medio de la habituación, se reduce la actividad noradrenérgica durante la exploración de los objetos y por lo tanto se

mejora el trazo de memoria (Jurado-Berbel et al. 2010). La administración intrahipocampal de noradrenalina promueve la persistencia de este trazo, mientras que el bloqueo de receptores β adrenérgicos en el CA1 afecta la consolidación (Mello-Carpes et al. 2016).

De manera similar al papel de la dopamina en el hipocampo, la actividad noradrenérgica ha sido asociada a la codificación de información novedosa durante tareas de reconocimiento. Por lo tanto ha sido propuesto que la liberación de noradrenalina en el hipocampo debido a la activación del Locus Coeruleus (LC) está modulada por el núcleo del tracto solitario (NTS), que procesa estímulos de la periferia y a su vez promueve un estado de alerta estimulando la excitación periférica (King and Williams 2009).

En un estudio realizado por Murchinson *et al.* 2004, se evalúa el efecto de la inhibición farmacológica de receptores de norepinefrina durante la evocación en memoria espacial. En este trabajo inhibieron los receptores β adrenérgicos con propranolol, en el área CA1 del HIP. Se inyectó 30 min antes de la prueba de memoria de largo plazo en un protocolo de Laberinto acuático de Morris. Los resultados que obtuvieron indican que la evocación de la memoria espacial depende de la señalización noradrenérgica (**Fig. 1.6**)

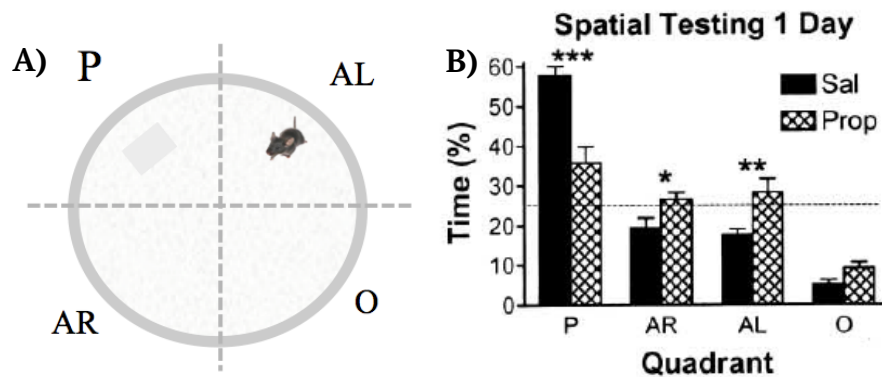


Figura 1.6. La administración de (-)-Propranolol, en el área CA1 de hipocampo afecta evocación de memoria espacial en laberinto acuático de Morris. **A)** Esquema representativo del Laberinto acuático de Morris, donde se especifica el nombre de los cuadrantes, P (plataforma); AL (adyacente izquierdo); AR (adyacente derecho); O (opuesto).

B) Porcentaje de tiempo en los cuadrantes P, AR, AL y O. Modificado de Murchison et al. 2004

En conclusión, se sabe que el bloqueo de receptores β adrenérgicos afecta la evocación de memoria espacial. Esta región cerebral provee al sujeto de un mapa espacial de su ambiente, almacena información espacial egocéntrica (donde la referencia espacial se establece en relación al propio sujeto). También es importante para la memoria espacial de largo plazo allocéntrica (la referencia se establece en claves espaciales externas). Esto significa que permite la manipulación del punto de vista en la memoria. El mantenimiento y evocación de las memorias son por lo tanto dependientes del contexto, el hipocampo hace uso de referencias y forma parte importante a la hora de procesar información espacial. En Rosenbaum et al. 2001, se propone que los animales poseen memorias dependientes e independientes del contexto, que corresponden a la memoria episódica (experiencias y eventos) y semántica (hechos y conceptos) en humanos. Donde las memorias dependientes del contexto (como la memoria de localización de objeto, y condicionamiento al miedo en su versión contextual) son aquellas en donde el complejo de claves que definen el evento principal están relacionadas entre sí de manera espacial (por ejemplo, claves espaciales allocéntricas en OLM, el contexto asociado al objeto familiar).

3. Planteamiento del problema

El estudio de la memoria de reconocimiento es importante debido a que es un tipo de memoria que se ve afectada en casos de demencia o enfermedades como Alzheimer. Debido a esto, es de suma importancia entender los procesos neuronales que ocurren durante su codificación. Se ha demostrado que el hipocampo trabaja en conjunto con la corteza insular, la amígdala basolateral y corteza entorhinal para consolidar información de este tipo. Sin embargo, existe vasta evidencia que confirma que la información contextual del reconocimiento es procesada solamente por el hipocampo.

Con base en los resultados obtenidos en este laboratorio, donde se observó que había un aumento de concentración de dopamina y norepinefrina durante novedad contextual. Y además, la ablación de terminales catecolaminérgicas con 6OHDA demostró afectar la identificación de novedad contextual. Se propone que estos dos neurotransmisores forman parte del proceso de codificación de la novedad contextual.

El papel de los sistemas de neurotransmisión dopaminérgico y noradrenérgico ya ha sido explorado en la actualización de la memoria, mas no en paradigmas como memoria de localización de objeto. Se ha demostrado que el SCH afecta la actualización de una tarea de evitación pasiva en pollos de 1 día de edad (Sherry et al. 2005), y se ha demostrado que el Propranolol afecta la actualización de tareas como condicionamiento auditorio aversivo, evitación pasiva, y en memoria espacial en ratas (Dębiec & Ledoux 2004; Przybylski et al. 1999)

Es por ello que se planea a evaluar la neurotransmisión de estos receptores en paradigmas de memoria espacial y contextual, con la ayuda de antagonistas como SCH y propranolol, con la finalidad de conocer si este bloqueo en la señalización tiene repercusiones en el proceso de actualización de la memoria.

3.1. Hipótesis.

La modulación dopaminérgica y la noradrenérgica ejercen efectos diferenciales en la actividad neuronal durante la actualización de la memoria.

3.2. Objetivo general

Analizar los efectos de la ausencia de modulación catecolaminérgica en tareas dependientes de hipocampo durante la actualización de la memoria.

3.3. Objetivos particulares

1. Establecer precisión de coordenadas cerebrales para la correcta infusión de fármacos durante las tareas conductuales.
2. Investigar los efectos de la ausencia de señalización catecolaminérgica en la actualización de la memoria contextual mediante el uso de farmacología.
3. Investigar los efectos de la señalización catecolaminérgica en la actualización de la memoria espacial mediante el uso de farmacología.

4. Métodos

4.1. Sujetos experimentales

Ratones macho, C57BL/6J, pesando 30-40g al tiempo de cirugía, fueron usados y habituados de acuerdo a los lineamientos del Comité de uso y cuidado de animales del Instituto de Fisiología Celular en conformidad con la ley DEA 38-14 y LMT 101-14. Los sujetos fueron alojados individualmente en cajas estándar de acrílico con comida y agua *ad libitum*, a temperatura ambiente (22°C), bajo el ciclo de luz/oscuridad (12h/12h).

4.2. Cirugía y farmacología

Antes de la cirugía, los animales fueron anestesiados con (0.5-1.0%) isofluorano. Fueron implantados con cánulas bilaterales guía (23-ga de 7mm de largo, Small Parts, Longassport, IN, USA) en la región CA1 del Hipocampo, en las coordenadas antero posterior [AP] -2.1; medial lateral [ML] ± 1.5 ; dorso ventral [DV] -0.25. de acuerdo al atlas de referencia Allen, (Dong, 2008). Se les permitió a los animales descansar 10 días antes de empezar los procedimientos conductuales. Para realizar las microinfusiones, se introdujo un inyector (8mm) y se administró de forma bilateral un volumen de 5 μ l. El antagonista R (+)-SCH-23390 (Sigma, St. Louis, MO, USA) se inyectó intracranealmente 15 min antes de cada test a una concentración de 6.16 mM (3.3 μ g/ μ l, de acuerdo a Wang *et al.* 2010). Se usó el antagonista de receptores adrenérgicos $\beta 1/\beta 2$ (-)-Propranolol (Sigma, St. Louis, MO, USA), se inyectó intracranealmente 30 min antes de cada test a una concentración de 338 mM (10 μ g/ μ l, de acuerdo a Murchinson *et al.* 2004). Como control se inyectó solución salina (0.9 % de NaCl) y todos los experimentos fueron llevados a cabo en grupos independientes.

4.3. Memoria de Localización de Objeto

Los procedimientos conductuales fueron realizados en una caja de madera (33 x 33 x 30 cm). Se colocó en una de sus paredes una tira rectangular de rayas blancas y negras como clave contextual. Los objetos que fueron usados fueron dos figuras LegoTM. Los objetos fueron fijados al piso de la caja con velcro para prevenir que los animales los movieran.

La prueba duró en total 6 días, los primeros dos días, los animales fueron manipulados durante 1 min e inmediatamente después, habituados en una caja sin ningún objeto durante 5 min permitiendo que exploraran libremente. En el día 1 de adquisición, los ratones fueron colocados en la arena mirando hacia el lado opuesto al que estaban colocados los dos objetos (A y B, mostrados en la **fig. 4.1.**) y se les permitió explorar libremente durante 10 min. El mismo procedimiento fue repetido 24 h después, sin cambiar la localización de los

objetos. Se realizó la prueba de memoria de largo plazo 24 h después, en donde uno de los objetos fue movido a una localización novedosa, y se les permitió explorar por 10 min.



Figura 4.1. Objetos usados en el protocolo de laberinto acuático de Morris.

Fue considerado como comportamiento exploratorio el acercamiento de la nariz a 1 cm del objeto o tocando el objeto. Las conductas de mordedura y movimiento de los objetos no fue considerado como conducta exploratoria. En todos los experimentos se contrabalanceó la ubicación de los objetos. El índice de reconocimiento (IR) se expresa como :

$$\text{Índice de reconocimiento} = \frac{(A)}{(A + B)}$$

En donde *A* representa el tiempo el tiempo de exploración del objeto *A*, y *B* representa el tiempo de exploración del objeto *B*.

4.4. Laberinto Acuático de Morris.

La tarea fue realizada en una piscina circular con un diámetro de 106 cm y una altura de 63.5 cm. Para el análisis de la conducta fue dividido en cuatro cuadrantes como se muestra en la figura 5.1. En el cuadrante P, se colocó una plataforma (12x12 cm) cuya superficie quedó 1 cm por debajo del agua. Durante 5 días se realizaron 4 ensayos de adquisición. Los animales fueron entrenados para llegar a la plataforma desde distintos puntos aleatorios en el laberinto (norte, sur, este, oeste). En el 6to día se realizó la prueba de memoria de largo plazo, y se procedió a hacer una extinción al día siguiente.

Análisis histológico e Inmunohistoquímica

Después de haber terminado las pruebas conductuales se sacrificó a los sujetos con una sobredosis intraperitoneal de pentobarbital (75 mg/kg; PiSA agropecuaria). Se realizaron perfusiones transcardiales con solución salina (0.9%) seguida de una solución de paraformaldehído (4%), en donde también se almacenaron los cerebros después de ser extraídos. Para proteger los cerebros de la congelación se almacenaron en sacarosa (30%) Se realizaron cortes coronales en dirección coronal de 40 μ m y se realizó tinción de Nissl.

Las coordenadas del sitio de canulación fueron AP : -2.1 ; ML : \pm 1.5 ; DV : -1.25, con el objetivo de realizar la inyección en el área CA1 en hipocampo (**Fig. 4.2.**).

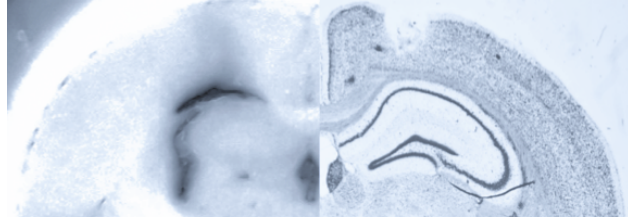


Figura 4.2. Coordenadas del sitio de inyección. Muestra representativa de un corte con infusión de tinta (izq) y teñido con violeta de cresilo (der). Modificado de Atlas de Allen. (Atlas 2009)

4.5. Análisis estadístico.

Se realizó una prueba estadística tipo *t* de Student, pareada entre los índices de exploración de los objetos por grupo de cada fase. Se realizó ANOVA de medidas repetidas en la prueba de laberinto acuático de Morris, con un análisis post hoc de Fisher para identificar diferencias significativas entre grupos. En todas las pruebas estadísticas $p < 0.05$, los datos se expresan como el promedio \pm el error estándar de la media y fueron analizados con el programa de análisis estadístico GraphPad Prism.

5. Resultados.

5.1. Prueba contextual

Para evaluar el efecto de los antagonistas en el hipocampo se realizó la tarea de Memoria de Localización de Objeto, en un protocolo como el que se muestra a continuación.

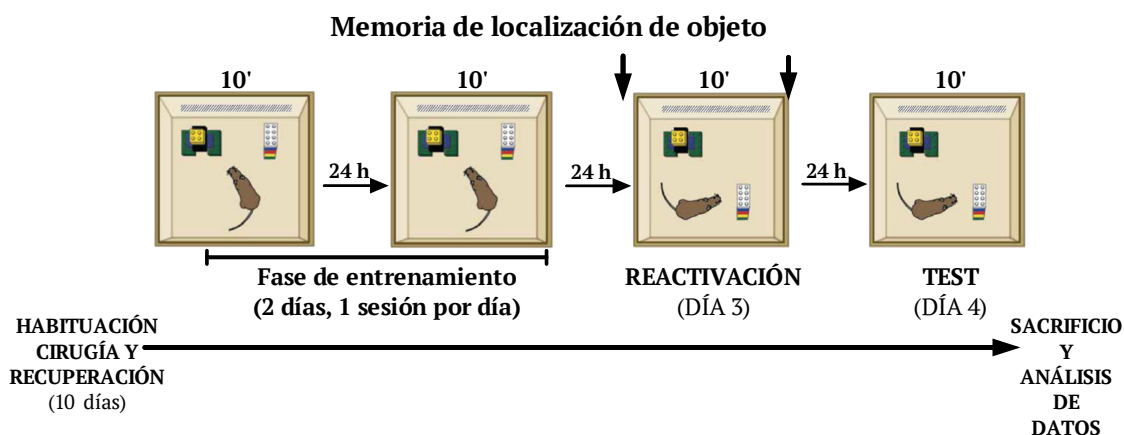


Figura 5.1. Representación del protocolo de OLM. Las flechas indican los momentos en los que fueron inyectados los antagonistas.

Como se puede observar ningún sujeto incluido en el protocolo demostró preferencia por uno u otro objeto **Fig. 5.2 A y B**; **Fig. 5.3 A y B**. Después de esta verificación se procedió con el protocolo de acuerdo a lo siguiente. Se dividieron los sujetos en dos grupos, uno donde se haría la manipulación farmacológica durante la evocación (evaluada durante OLM) **Fig. 5.2**, y otro donde se haría durante la actualización (evaluada durante post-test) **Fig. 5.3**.

En **Fig. 5.2, C** se muestra que el grupo control realiza la identificación de la localización novedosa ($p = 0.0071$). En contraste con los grupos SCH ($P = 0.1286$) y Propranolol ($p = 0.5437$). Lo cual indica que ambos fármacos afectan la capacidad de evocación de los sujetos. Al evaluar la actualización de la memoria, **Fig. 5.4, D**, se observa que, el grupo control ha actualizado la memoria, al explorar de forma equilibrada ambos objetos ($p = 0.4481$). Pero, al analizar los grupos tratados, sólo el grupo SCH no actualiza la memoria ($p = 0.0004$), con contraste con el grupo Propranolol ($p = 0.1917$).

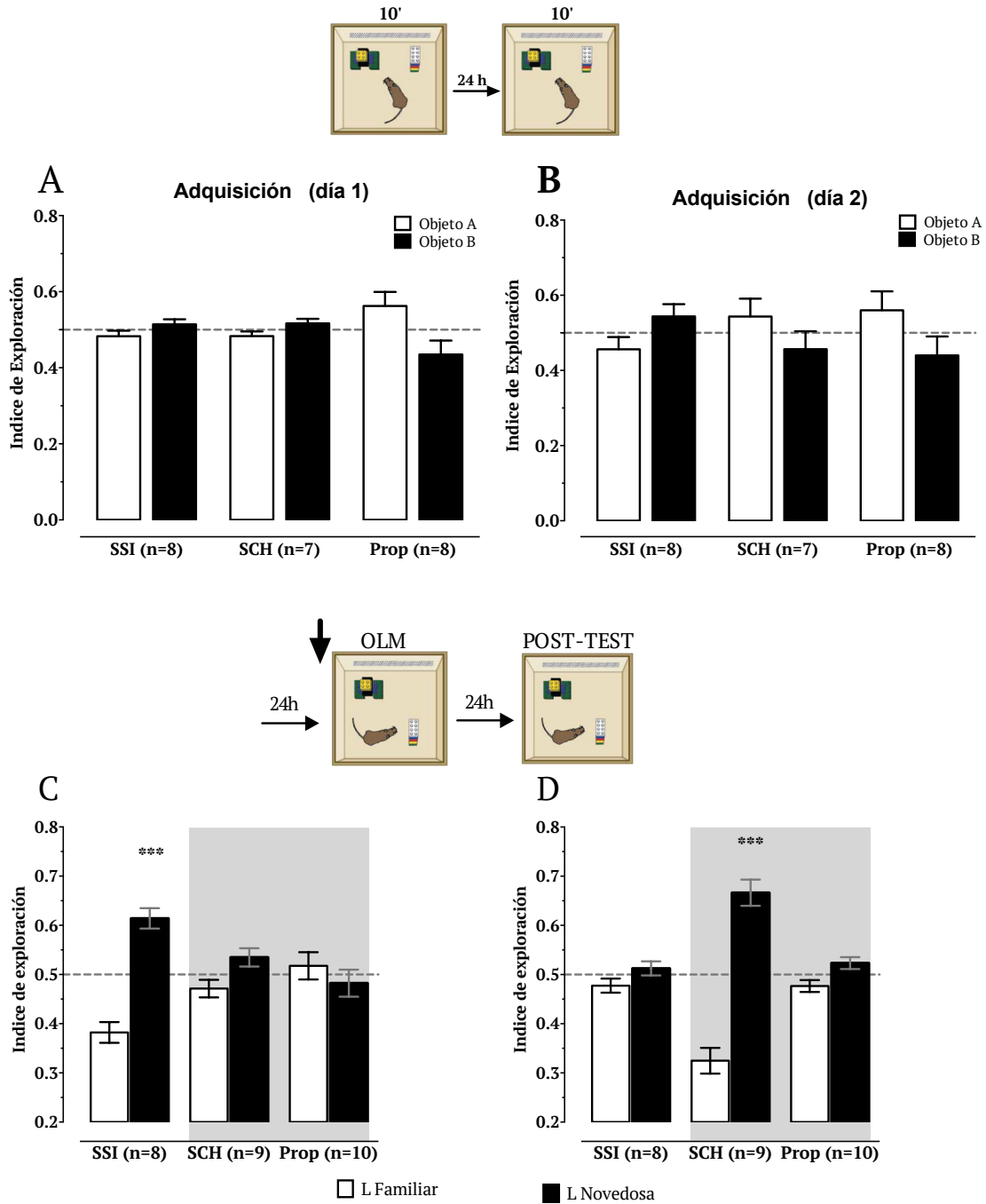


Figura 5.2. Índices de reconocimiento del protocolo OLM, para sujetos inyectados antes de la evocación. Gráficas de la etapa de adquisición A) y B) gráfica la reactivación. C) y la evaluación posterior (post-test) D) (Los valores de cada prueba estadística se muestran en el anexo).

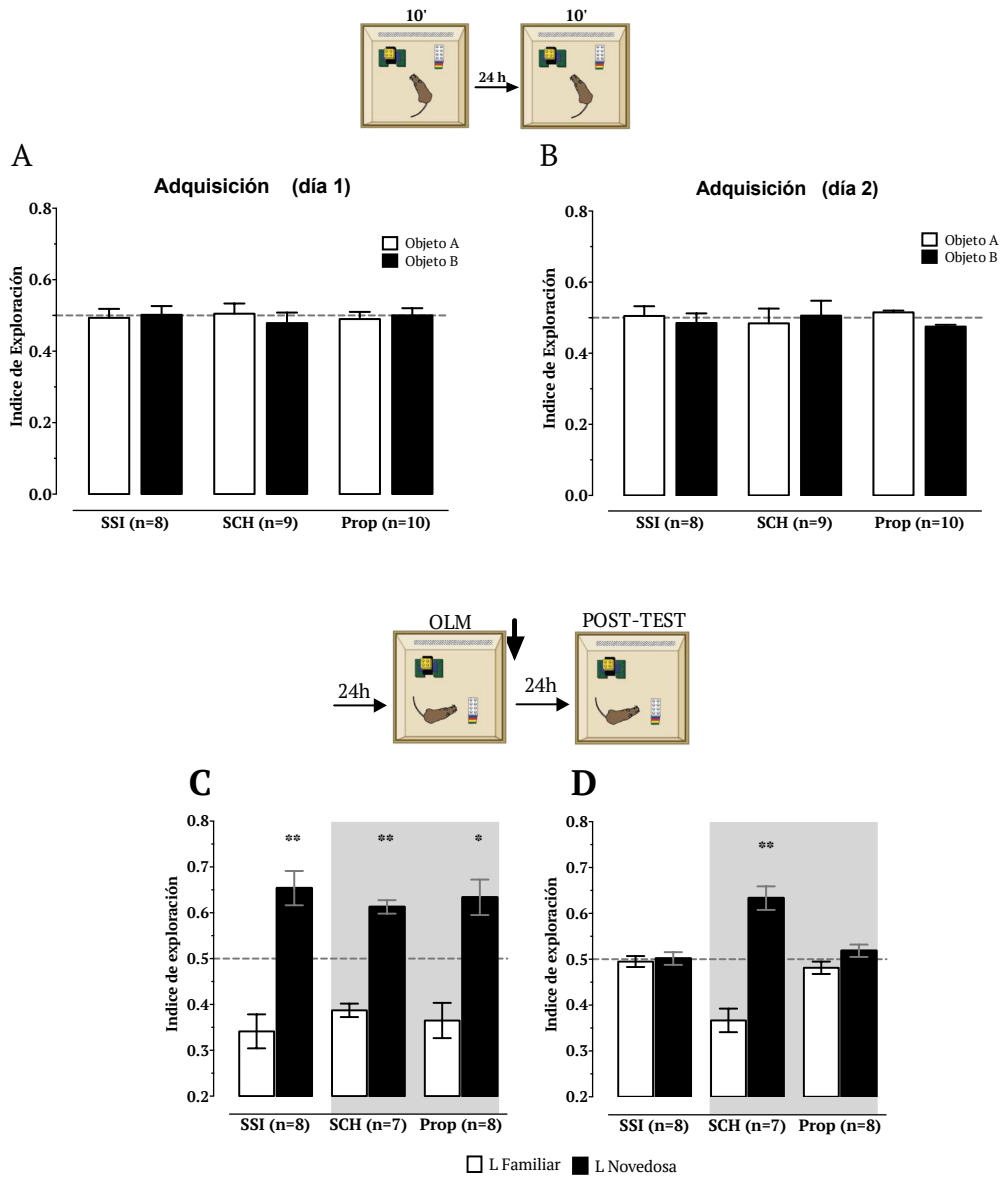


Figura 5.3. Índices de reconocimiento del protocolo OLM, para sujetos inyectados antes de la evocación. Gráficas de la etapa de adquisición A) y B) gráfica la reactivación. C) y la evaluación posterior (post-test) D) (Los valores de cada prueba estadística se muestran en el anexo).

Para descartar posibles efectos sobre la adquisición de la nueva ubicación, se realizaron inyecciones al término de la tarea. En la **Fig. 5.3 C**, se observa que todos los grupos identifican exitosamente la localización novedosa. Esto es un resultado esperado, ya que la finalidad de separarlos es sólo para demostrar que al principio todos tienen la misma capacidad de reconocer el cambio contextual. Por otra parte, en la evaluación de la actualización de la memoria (**Fig. 5.4 D**) se observa que de nuevo sólo la infusión de SCH afecta la actualización de la memoria ($p = 0.0035$).

Para descartar que los resultados no sean producto de un defecto en la actividad motriz, se cuantificó el tiempo total de exploración por sesión en cada grupo, lo cual no arrojó diferencias. (**Fig. 5.4**).

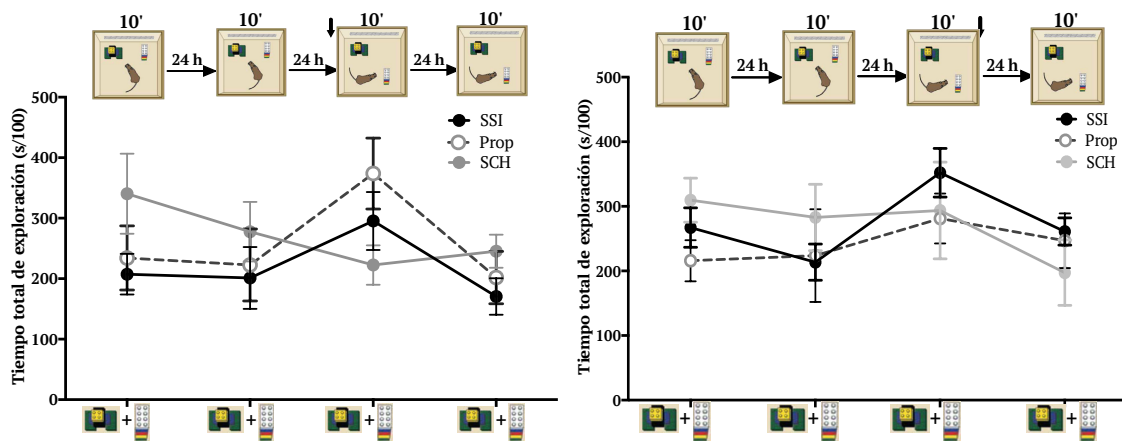


Figura 5.4. No hay diferencias en el tiempo total de exploración entre grupos.

5.2. Prueba espacial

Para evaluar los efectos de los antagonistas en la memoria espacial, se implementó un protocolo de laberinto acuático de Morris como se muestra a continuación.

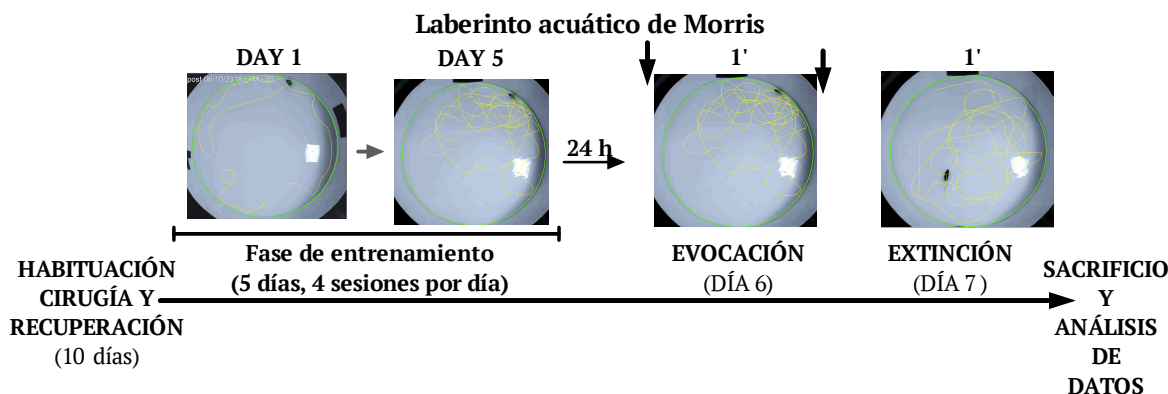


Figura 5.5. Esquema del protocolo que se implementó para realizar la tarea del laberinto acuático de Morris.

En la siguiente figura se muestra una gráfica del tiempo que tardan los sujetos en llegar a la plataforma durante los 5 días de entrenamiento. Lo que demuestra que al 5to día, alcanzan un tiempo óptimo de llegada que nos permite medir la memoria.

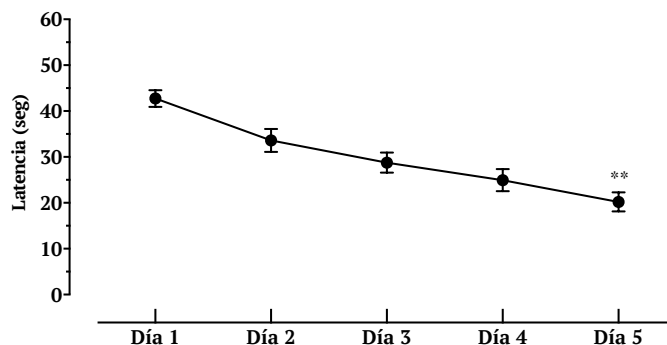


Figura 5.6. Gráfica del tiempo de latencia de llegada durante el entrenamiento. El tiempo de llegada del día 5 disminuyó comparado con el día 1.

Después de habernos asegurado de incluir sólo a aquellos los sujetos que aprendieron la tarea, evaluamos la memoria en el 6to día, en donde se inyectaron solución salina isotónica (0.9% SSI), SCH y Propranolol en dos grupos por separado, en el primero se inyectó 30 min antes de la LTM (long-term memory) para evaluar la evocación de la localización de la plataforma (este día se remueve la plataforma del laberinto). El otro grupo fue inyectado ó

inmediatamente después de la LTM, para poder evaluar los efectos de la manipulación farmacológica durante la extinción de la memoria (**Fig. 5.7**).

Se cuantificó la latencia (el tiempo de llegada a la plataforma), el número de cruces hechos a la zona blanco, y el tiempo de permanencia en el cuadrante donde se encontraba la plataforma para ambos grupos.

En los grupos donde se realizó la infusión antes de la evocación, evaluamos el efecto del fármaco en los parámetros antes mencionados. Se observaron diferencias tanto para SCH como propranolol sólo en dos parámetros: número de cruces y tiempo en el cuadrante blanco. Sin embargo, aunque se observa una tendencia evidente, los datos no son diferentes entre sí desde el punto de vista estadístico. Este análisis indica que la manipulación farmacológica afectó la evocación de la memoria espacial (**Fig. 5.7 A y B**).

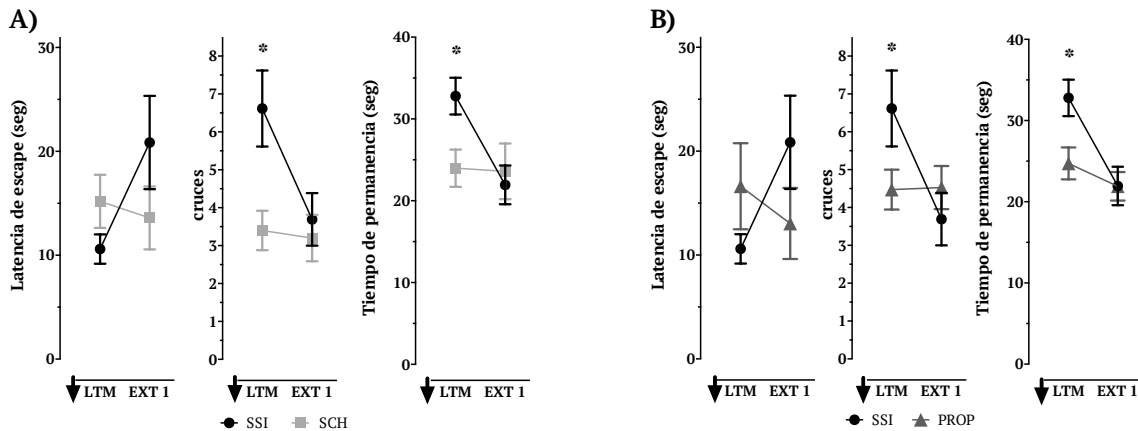


Figura 5.7. Parámetros de evaluación del laberinto acuático de Morris, donde se observan efectos de la infusión de SCH y propranolol durante la evocación. A) grupo control (salina 0.09%). B) grupo inyectado con SCH. C) grupo inyectado con propranolol.

Además de evaluar el efecto de cada tratamiento, también se calculó la diferencia de medias entre los valores observados durante la LTM y la primera extinción con el objetivo de saber si cada grupo extinguía de forma similar al control. En los tres parámetros se comparó cada grupo durante la extinción contra su mismo grupo durante la memoria de largo plazo (LTM), en donde el grupo control presenta diferencias significativas, lo cual indica que en nuestro protocolo, 24h ya son suficientes para observar la extinción de la memoria, (latencia $p = 0.048$, cruces $p = 0.0001$, cuadrante blanco $p = 0.0009$). Al evaluar los grupos SCH y Propranolol observamos que no hay diferencias entre los días de evaluación, lo cual indica que la infusión de los antagonistas podría estar afectando la extinción de la memoria.

Finalmente, se evaluó el efecto de la infusión de los antagonistas cuando es inyectado inmediatamente al finalizar la LTM. Como es esperado, no hay diferencias entre grupos en el día de la LTM para cualquier parámetro, ya que no se ha hecho ninguna modificación en el cerebro todavía. Al evaluar en el día de la extinción, solamente se observan diferencias en la latencia para ambos grupos (SCH $p = 0.0433$, propranolol $p = 0.0409$). Así mismo, fue evaluado el efecto de los fármacos en el tiempo. Para el grupo control se observan diferencias entre LTM y extinción solamente en la latencia ($p = 0.0132$) y número de cruces ($p = 0.0075$). Mientras que para los grupos tratamiento no se observan diferencias, por lo que se concluye que la infusión de los fármacos afectó la extinción de la memoria (Fig. 5.8).

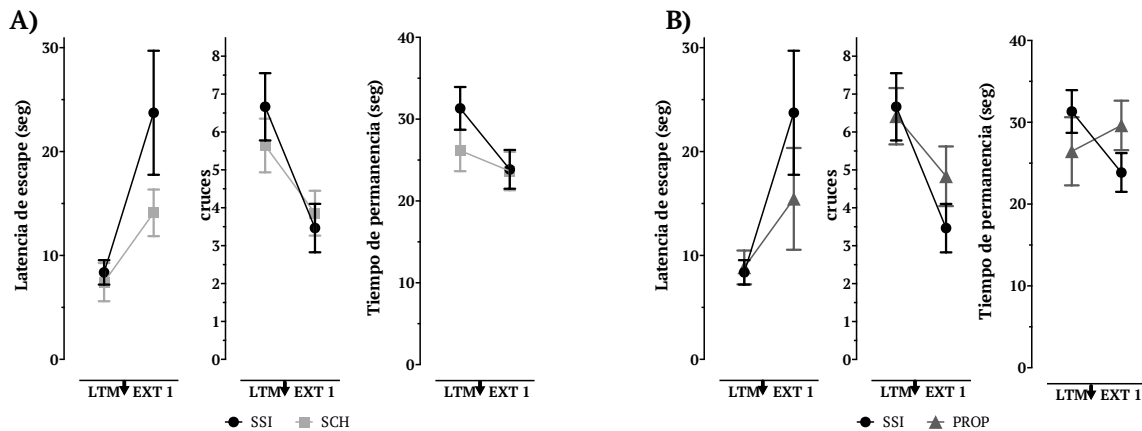


Figura 5.8. Parámetros de evaluación del laberinto acuático de Morris, donde se observan efectos de la infusión de SCH y propranolol sobre la extinción. A) grupo control (salina 0.09%). B) grupo inyectado con SCH. C) grupo inyectado con propranolol.

6. Discusión.

En este trabajo se describe por medio de farmacología el efecto de la ausencia de modulación dopaminérgica y noradrenérgica en el hipocampo, durante la actualización de la memoria.

Se realizó el bloqueo selectivo de los receptores tipo D1/D5 dopaminérgicos, donde se observa que la ausencia de esta señalización afecta tanto la evocación y actualización. Algunos datos concuerdan con lo observado en un estudio donde se inyectó amfetamina antes de la reactivación de la memoria en un protocolo de CPP donde se usa morfina para condicionar a los sujetos (Blais & Janak 2006). Se observa que esta manipulación mejora la memoria cuando es evaluada un día después, sólo si la inyección de amfetamina se hizo durante la reactivación de la memoria. Esto sugiere que el incremento en la liberación de dopamina durante la reactivación del trazo de memoria podría jugar un papel importante en los fenómenos que se llevan a cabo para que la información sea actualizada. El rol de estos sistemas de neurotransmisión no ha sido extensamente caracterizado en el tareas como memoria de localización de objetos, pero se ha demostrado que el SCH afecta la actualización de una tarea de evitación pasiva en pollos de 1 día de edad (Sherry et al. 2005).

Por otra parte, al bloquearse los receptores β_1/β_2 adrenérgicos, se afecta la evocación, pero no así la actualización. Se ha demostrado que el propranolol afecta la actualización de tareas como condicionamiento auditorio aversivo, evitación pasiva, y en memoria espacial en ratas (Dębiec & Ledoux 2004; Przybylski et al. 1999).

Los resultados observados en el laberinto acuático sugieren que la falta de modulación en ambos receptores afecta la evocación y extinción de la memoria. Estos resultados concuerdan con lo observado por Murchison et al. 2004a, donde postula que la inyección intracraneal de (-)-Propranolol, afecta la evocación de memoria espacial evaluada en el laberinto acuático. Lo cual también se observa en nuestros resultados. Cabe resaltar que las diferencias metodológicas pudieron haber influido en la diferencia de resultados. La explicación que ellos proponen es que la NE promueve la evocación de la memoria contextual y espacial durante una etapa específica de la consolidación. Una vez que estas memorias se han consolidado por 4 días, la evocación se vuelve independiente de la norepinefrina.

Por otra parte en otro trabajo se evaluó una tarea de memoria apetitiva espacial, se observa que la administración de propranolol mejora la memoria a través de la actualización (Wang 2018). En este estudio como en otros, la administración del Propranolol se hace de manera intraperitoneal, lo cual impide evaluar los efectos de este antagonista de manera específica

para una región cerebral. Debido a esto, este tipo de estudios no pueden compararse con nuestros resultados. Por otra parte, se sabe que el sistema noradrenérgico fortalece el trazo de memoria de experiencias emocionalmente estimulantes, y tal vez la valencia de la respuesta noradrenérgica es diferente entre una tarea y otra. En el OLM la actividad noradrenérgica esta inducida por el componente de la novedad contextual, mientras que en el MWM se induce una respuesta asociada al estrés (Beerling et al, 2011).

La diferencia entre ambos paradigmas es que el laberinto acuático de Morris, tal y como se implementó en este proyecto, se considera una memoria fuerte. Por lo que actúa como una condición límite en la actualización. Es por ello que tal vez no se observan los mismos efectos en el MWM que en el OLM. Así mismo este estudio propone al OLM como un protocolo más adecuado para estudiar el efecto de la manipulación farmacológica sobre la memoria espacial (Gerstein et al. 2013).

Numerosos estudios han tratado de dilucidar los mecanismos que subyacen a la actualización de la memoria. Dado que es un campo relativamente nuevo, poco se sabe de la neuromodulación que ocurre en distintas regiones cerebrales durante este proceso.

Al inicio de este trabajo se propuso la posible diferencia en funciones de la dopamina en comparación con la norepinefrina, en específico, en el hipocampo. Ya que numerosos trabajos indican que neuronas tanto DA como NE son heterogéneas con alto grado de diversidad, incluyendo sus linajes en el desarrollo, fenotipos moleculares, blancos de proyecciones, inputs aferentes, conectividad sináptica, propiedades fisiológicas así como funciones en el comportamiento. Tales como en el LTP (Swanson-Park et al. 1999; Kelleher et al. 2004), adquisición de memorias aversivas (Broussard et al. 2016), y se ha demostrado que cada neurotransmisor está asociado a diferentes vías de señalización (Beaulieu & Gainetdinov 2011). Bajo esta evidencia, aquí demostramos que es posible que exista una separación entre las funciones que realiza cada neurotransmisor.

Existe evidencia que indica que los receptores D1/D2 dopaminérgicos en estas áreas hipocampales modulan la excitabilidad y función sináptica neuronal a través de la liberación de calcio y señalización dependiente de cAMP (Lezcano & Bergson 2002). La vía de señalización que se activa gracias a cAMP provoca la activación de la transcripción de genes de expresión temprana como c-fos, Arc, y BDNF, que han sido asociados a fenómenos como plasticidad sináptica y durabilidad de trazos de memoria (Katche & Medina 2017). Por otra parte, se sabe que los receptores $\beta 1/\beta 2$ adrenérgicos inducen formas de potenciación sináptica de larga duración, lo cual se cree que contribuye a jugar un papel importante en el almacenamiento a largo plazo de memoria espacial y contextual en el cerebro, ya que estos receptores alteran la actividad de receptores como NMDA, y AMPA, fosfatasa, y factores de transcripción (O'Dell et al. 2015).

La actividad de estos receptores en el área CA1 de hipocampo probablemente esta modulando una serie de eventos que se asocian con la actualización de la memoria y con la evocación de la misma, a través de la modulación de los fenómenos similares a los producidos en la potenciación a largo plazo (LTP), el cual se cree que es un mecanismo que contribuye a modificar la función cerebral con base en la experiencia (Malenka & Bear 2004). Ya se ha reportado que el área CA1 y CA3 juegan un papel importante en la adquisición y consolidación de memoria contextual (Daumas 2005). Mientras que la región CA3, debido a sus extensas conexiones recurrentes, actúa como una red de memoria autoasociativa (Bernard & Wheal 1994; Dillon et al. 2008). Se ha demostrado que ambas estructuras participan en la consolidación de la información, una etapa de la memoria no tan distinta de la actualización (Daumas et al. 2005; Florian & Roullet 2004).

Conclusión

Durante la ventana de actualización post-evocación, las memorias pueden ser reforzadas, afectadas (en forma de extinción) o actualizadas usando manipulación conductual o farmacológica. En este trabajo se intentó definir el papel de los receptores dopaminérgicos y noradrenérgicos en esta etapa de la memoria. Se comprobó que tanto los receptores dopaminérgicos como noradrenérgicos son indispensables a la hora de evocar la memoria, sin embargo, sólo la ausencia de señalización dopaminérgica parece afectar la actualización de la memoria contextual. Por otra parte el bloqueo de ambos receptores también afectó la evocación y extinción en una tarea espacial, y no se observaron diferencias entre cada antagonista.

La actualización la memoria contextual y espacial es un proceso clave en el tratamiento de estrés postraumático. Ya que los componentes asociados a la memoria aversiva como el contexto donde ocurrió, es un elemento importante en la memoria y que puede ser manipulado con la finalidad de modificar el su trazo.

Es necesario extender la investigación sobre la actualización para establecer el potencial terapéutico de tratamientos basados en este fenómeno de la memoria. Muchos descubrimientos ofrecen pistas prometedoras para futura investigación.

REFERENCIAS

- Agnès, M., André, E. & Manahan-vanhan, D., 2016. Involvement of Dopamine D1 / D5 and D2 Receptors in Context-Dependent Extinction Learning and Memory Reinstatement. , 9(January), pp.1–11.
- Atlas, A.M.B., 2009. Allen Brain Atlas. *Allen Mouse Brain Atlas*, (December 2004). Available at: <http://mouse.brain-map.org>.
- Balderas, I. et al., 2008. The consolidation of object and context recognition memory involve different regions of the temporal lobe. , pp.618–624.
- Beaulieu, J.-M. & Gainetdinov, R.R., 2011. The Physiology, Signaling, and Pharmacology of Dopamine Receptors. *Pharmacological Reviews*, 63(1), pp.182–217. Available at: <http://pharmrev.aspetjournals.org/cgi/doi/10.1124/pr.110.002642>.
- Bernard, C. & Wheal, H. V., 1994. Model of local connectivity in CA3 and CA1 areas of the hippocampus Model of Local Connectivity Patterns in CA3 and CA1 Areas of the Hippocampus. , (February).
- Blaiss, C.A. & Janak, P.H., 2006. Post-training and post-reactivation administration of amphetamine enhances morphine conditioned place preference. *Behavioural Brain Research*, 171(2), pp.329–337. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1592232/pdf/nihms-12330.pdf> [Accessed August 22, 2018].
- Broussard, J.I. et al., 2016. Dopamine Regulates Aversive Contextual Learning and Associated In Vivo Synaptic Plasticity in the Article Dopamine Regulates Aversive Contextual Learning and Associated In Vivo Synaptic Plasticity in the Hippocampus. *CellReports*, 14(8), pp.1930–1939. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.celrep.2016.01.070>.
- Burgess, N., Maguire, E.A. & O’Keefe, J., 2002. The human hippocampus and spatial and episodic memory. *Neuron*, 35(4), pp.625–641.
- Buzsáki, G. & Moser, E.I., 2013. Memory, navigation and theta rhythm in the hippocampal-entorhinal system. *Nature Neuroscience*, 16(2), pp.130–138. Available at: <http://www.nature.com/articles/nn.3304> [Accessed August 1, 2018].
- Cahill, L. et al., 1995. The amygdala and emotional memory. *Nature*, 377, p.295. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/377295a0>.
- Cheng, S. & Frank, L.M., 2008. *New Experiences Enhance Coordinated Neural Activity in the Hippocampus*, Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2244590/pdf/nihms39430.pdf> [Accessed August 6, 2018].
- Clark, R.E. & Squire, L.R., 2013. Similarity in form and function of the hippocampus in rodents, monkeys, and humans. *Pnas*, 110 Suppl, pp.10365–10370. Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=23754372&retmode=ref&cmd=prlinks%5Cnpapers3://publication/doi/10.1073/pnas.1301225110>.
- Crowder, R.G., Vallar, G. & Shallice, T., 1992. Neuropsychological Impairments of Short-Term Memory. *The American Journal of Psychology*, 105(1), p.136. Available at: <https://www.jstor.org/stable/1422988?origin=crossref>.
- D’Hooge, R. & De Deyn, P.P., 2001. Applications of the Morris water maze in the study of

- learning and memory. *Brain Research Reviews*, 36(1), pp.60–90. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165017301000674> [Accessed July 24, 2018].
- Daumas, S., 2005. Encoding, consolidation, and retrieval of contextual memory: Differential involvement of dorsal CA3 and CA1 hippocampal subregions. *Learning & Memory*, 12(4), pp.375–382. Available at: <http://www.learnmem.org/cgi/doi/10.1101/lm.81905>.
- Daumas, S. et al., 2005. Encoding , consolidation , and retrieval of contextual memory : Differential involvement of dorsal CA3 and CA1 hippocampal subregions. , pp.375–382.
- Dębiec, J. & Ledoux, J.E., 2004. Disruption of reconsolidation but not consolidation of auditory fear conditioning by noradrenergic blockade in the amygdala. *Neuroscience*, 129(2), pp.267–272.
- Debiec, J., LeDoux, J.E. & Nader, K., 2002. Cellular and systems reconsolidation in the hippocampus. *Neuron*.
- Dillon, G.M. et al., 2008. Neurobiology of Learning and Memory Excitotoxic lesions restricted to the dorsal CA1 field of the hippocampus impair spatial memory and extinction learning in C57BL / 6 mice. , 90, pp.426–433.
- Eichenbaum, H., 2000. A cortical-hippocampal system for declarative memory. *Nature reviews. Neuroscience*, 1(1), pp.41–50.
- Federico, B. & Mcgaugh, J.L., 2017. Neurobiology of Learning and Memory Memory reconsolidation and memory updating : Two sides of the same coin ? , 142, pp.1–3.
- Ferbinteanu, J., Ray, C. & McDonald, R.J., 2003. Both dorsal and ventral hippocampus contribute to spatial learning in Long–Evans rats. *Neuroscience Letters*, 345(2), pp.131–135. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304394003004737?via%3Dihub> [Accessed August 1, 2018].
- Florian, C. & Roullet, P., 2004. Hippocampal CA3-region is crucial for acquisition and memory consolidation in Morris water maze task in mice. , 154, pp.365–374.
- Frey, U. et al., 1991. The effect of dopaminergic D1 receptor blockade during tetanization on the expression of long-term potentiation in the rat CA1 region in vitro. *Neuroscience Letters*, 129(1), pp.111–114.
- Garcia-delatorre, P. et al., 2014. Role of glutamate receptors of central and basolateral amygdala nuclei on retrieval and reconsolidation of taste aversive memory. *NEUROBIOLOGY OF LEARNING AND MEMORY*, 111, pp.35–40. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nlm.2014.03.003>.
- Gerstein, H. et al., 2013. A Behavioral Paradigm to Evaluate Hippocampal Performance in Aged Rodents for Pharmacological and Genetic Target Validation. *PLOS ONE*, 8(5), p.e62360. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0062360>.
- Hafting, T. et al., 2005. Microstructure of a spatial map in the entorhinal cortex. *Nature*, 436(7052), pp.801–806. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15965463> [Accessed August 1, 2018].
- Hartley, T. et al., 2000. Modeling place fields in terms of the cortical inputs to the hippocampus. *Hippocampus*, 10(4), pp.369–379. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10985276> [Accessed August 1, 2018].
- Huang, W. et al., 2013. mTORC2 controls actin polymerization required for consolidation

- of long-term memory. *Nature Neuroscience*, 16(4), pp.441–448. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23455608> [Accessed August 6, 2018].
- Katche, C. & Medina, J.H., 2017. Requirement of an Early Activation of BDNF/c-Fos Cascade in the Retrosplenial Cortex for the Persistence of a Long-Lasting Aversive Memory. *Cerebral Cortex*, 27(2), pp.1060–1067. Available at: <https://academic.oup.com/cercor/article/3056175/Requirement>.
- Kelleher, R.J. et al., 2004. Translational control by MAPK signaling in long-term synaptic plasticity and memory. *Cell*, 116(3), pp.467–79. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15016380>.
- Kerchner, G.A. & Nicoll, R.A., 2008. Silent synapses and the emergence of a postsynaptic mechanism for LTP. *Nature Reviews Neuroscience*, 9(11), pp.813–825. Available at: <http://keck.ucsf.edu/neurograd/faculty/nicoll.html> [Accessed August 6, 2018].
- Kessels, H.W. & Malinow, R., 2009. Synaptic AMPA receptor plasticity and behavior. *Neuron*, 61(3), pp.340–50. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19217372> [Accessed August 6, 2018].
- Knowlton, B.J., Mangels, J.A. & Squire, L.R.A., 1996. Neostriatal habit learning systems in humans. *Science*, 273, pp.1399–1401.
- Kropff, E. et al., 2015. Speed cells in the medial entorhinal cortex. *Nature*, 523(7561), pp.419–424. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26176924> [Accessed August 1, 2018].
- Lee, J.L.C. & Flavell, C.R., 2014. Inhibition and enhancement of contextual fear memory destabilization. *Frontiers in behavioral neuroscience*, 8(April), p.144. Available at: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fnbeh.2014.00144/abstract>.
- Lemon, N. & Manahan-Vaughan, D., 2006. Dopamine D1/D5 receptors gate the acquisition of novel information through hippocampal long-term potentiation and long-term depression. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 26(29), pp.7723–9. Available at: <http://www.jneurosci.org/content/26/29/7723.abstract>.
- Lezcano, N. & Bergson, C., 2002. D1/D5 dopamine receptors stimulate intracellular calcium release in primary cultures of neocortical and hippocampal neurons. *Journal of neurophysiology*, 87(4), pp.2167–75. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11929934>.
- Lisman, J., Yasuda, R. & Raghavachari, S., 2012. Mechanisms of CaMKII action in long-term potentiation. *Nature Reviews Neuroscience*, 13(3), pp.169–182. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4050655/pdf/nihms585398.pdf> [Accessed August 6, 2018].
- Lømo, T., 1966. Frequency potentiation of excitatory synaptic activity in the dentate area of the hippocampal formation. *Acta Physiol. Scand*, 68(Suppl 277).
- Malenka, R.C. & Bear, M.F., 2004. LTP and LTD: An embarrassment of riches. *Neuron*, 44(1), pp.5–21.
- Ben Mamou, C., Gamache, K. & Nader, K., 2006. NMDA receptors are critical for unleashing consolidated auditory fear memories. *Nat Neurosci*, 9(10), pp.1237–1239. Available at: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=16998481%5Cnhttp://www.nature.com/neuro/journal/v9/n10/pdf/nn1778.pdf.

- McDonald, R.J. & White, N.M., 1994. Parallel information processing in the water maze: Evidence for independent memory systems involving dorsal striatum and hippocampus. *Behavioral and Neural Biology*, 61(3), pp.260–270. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0163104705800093> [Accessed July 24, 2018].
- Menon, V. & Uddin, L.Q., 2010. Saliency, switching, attention and control: a network model of insula function. *Brain structure & function*, 214(5–6), pp.655–667.
- Milekic, M.H., 2006. Persistent Disruption of an Established Morphine Conditioned Place Preference. *Journal of Neuroscience*, 26(11), pp.3010–3020. Available at: <http://www.jneurosci.org/cgi/doi/10.1523/JNEUROSCI.4818-05.2006>.
- Milton, A.L. et al., 2013. Double Dissociation of the Requirement for GluN2B- and GluN2A-Containing NMDA Receptors in the Destabilization and Restabilization of a Reconsolidating Memory. *Journal of Neuroscience*, 33(3), pp.1109–1115. Available at: <http://www.jneurosci.org/cgi/doi/10.1523/JNEUROSCI.3273-12.2013>.
- Moreno-Castilla, P. et al., 2017. Hippocampal release of dopamine and norepinephrine encodes novel contextual information. *Hippocampus*.
- Moreno-castilla, P., Guzman-ramos, K. & Bermudez-Rattoni, F., 2018. Object recognition and Object location Recognition memory - The role of Dopamine and Noradrenaline. *Handbook of Object Novelty Recognition*.
- Murchison, C.F. et al., 2004a. A distinct role for norepinephrine in memory retrieval. *Cell*, 117, pp.131–142.
- Murchison, C.F. et al., 2004b. A distinct role for norepinephrine in memory retrieval. *Cell*, 117, pp.131–142.
- Nader, K., Schafe, G.E. & LeDoux, J.E., 2000. The labile nature of consolidation theory. *Nature reviews. Neuroscience*, 1(3), pp.216–219.
- O'Dell, T.J. et al., 2015. β -Adrenergic receptor signaling and modulation of long-term potentiation in the mammalian hippocampus. *Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, 22(9), pp.461–71. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26286656> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC4561407>.
- Przybylski, J., Roulet, P. & Sara, S.J., 1999. Attenuation of emotional and nonemotional memories after their reactivation: Role of beta adrenergic receptors. *The Journal of Neuroscience*, 19(15), pp.6623–6628. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10414990>.
- Rodriguez-ortiz, C.J. et al., 2012. Taste aversion memory reconsolidation is independent of its retrieval. *NEUROBIOLOGY OF LEARNING AND MEMORY*, 98(3), pp.215–219. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nlm.2012.08.002>.
- Rodriguez-ortiz, C.J. & Bermudez-Rattoni, F., 2016. Determinants to trigger memory reconsolidation : The role of retrieval and updating information. *Neurobiology of Learning and Memory*, (February 2017). Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nlm.2016.12.005>.
- Rosenbaum, R.S., Winocur, G. & Moscovitch, M., 2001. New views on old memories: Re-evaluating the role of the hippocampal complex. *Behavioural Brain Research*, 127(1–2), pp.183–197.
- Rossato, J.I. et al., 2007. On the role of hippocampal protein synthesis in the consolidation and reconsolidation of object recognition memory. *Learning & Memory*, 14(1–2),

- pp.36–46. Available at: <http://www.learnmem.org/cgi/doi/10.1101/lm.422607>.
- Rossato, J.I. et al., 2006. Retrieval induces hippocampal-dependent reconsolidation of spatial memory. *Learning and Memory*, 13(4), pp.431–440.
- Santoyo-zedillo, M. et al., 2014. Retrieval is not necessary to trigger reconsolidation of object recognition memory in the perirhinal cortex. , pp.452–456.
- Sherry, J.M., Hale, M.W. & Crowe, S.F., 2005. The effects of the dopamine D1 receptor antagonist SCH23390 on memory reconsolidation following reminder-activated retrieval in day-old chicks. , 83, pp.104–112.
- Squire, L.R., 2004. Memory systems of the brain : A brief history and current perspective. , 82, pp.171–177.
- Swanson-Park, J.L. et al., 1999. A double dissociation within the hippocampus of dopamine D1/D5 receptor and β -adrenergic receptor contributions to the persistence of long- term potentiation. *Neuroscience*, 92(2), pp.485–497.
- Taube, J.S., Muller, R.U. & Ranck, J.B., 1990. Head-direction cells recorded from the postsubiculum in freely moving rats. I. Description and quantitative analysis. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 10(2), pp.420–35. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2303851> [Accessed August 1, 2018].
- Tulving, E. & Schacter, D., 1990. Priming and human memory systems. *Science*, 247(4940), pp.301–306. Available at: <http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.2296719>.
- Wang, S.-H., 2018. Novelty enhances memory persistence and remediates propranolol-induced deficit via reconsolidation. *Neuropharmacology*. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0028390818305215> [Accessed August 21, 2018].
- Yamamoto, J. et al., 2014. Successful Execution of Working Memory Linked to Synchronized High-Frequency Gamma Oscillations. *Cell*, 157(4), pp.845–857. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S009286741400484X?via%3Dihub> [Accessed August 1, 2018].