

Tesis Doctoral

Estudio de la fase de reconsolidación de la memoria declarativa en humanos

Forcato, Cecilia

2011

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Forcato, Cecilia. (2011). Estudio de la fase de reconsolidación de la memoria declarativa en humanos. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

Cita tipo Chicago:

Forcato, Cecilia. "Estudio de la fase de reconsolidación de la memoria declarativa en humanos". Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2011.

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Departamento de Fisiología y Biología Molecular y Celular

ESTUDIO DE LA FASE DE RECONSOLIDACIÓN DE LA MEMORIA DECLARATIVA EN HUMANOS

Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos

Aires en el área Ciencias Biológicas

Autora:

Lic. Cecilia Forcato

Directora de Tesis: Dra. María Eugenia Pedreira

Consejero de Estudios: Dr. Arturo Romano

Lugar de trabajo: Laboratorio de Neurobiología de la Memoria. IFIByNE-CONICET. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

Buenos Aires, 2011

Estudio de la fase de reconsolidación de la memoria declarativa en humanos

Resumen

La hipótesis de la reconsolidación postula que una memoria consolidada puede devenir nuevamente lábil y susceptible a la acción de agentes amnésicos o facilitadores, por un período de tiempo, luego de la reexposición a un recordatorio. Este fenómeno ha sido demostrado en una gran variedad de especies y en diferentes tipos de memoria, incluyendo memorias motoras en el hombre.

En este trabajo diseñamos y pusimos a punto un protocolo que involucra el aprendizaje de una lista de sílabas sin sentido, asociada a un contexto específico formado por una luz, imagen y música. Por primera vez, demostramos la existencia de la fase de reconsolidación de la memoria declarativa en el hombre. A su vez, demostramos que no cualquier evocación dispara este fenómeno, por el contrario, se requiere un recordatorio con características específicas, siendo el no cumplimiento de la expectativa un componente fundamental del mismo. Más aún, este trabajo evidencia las dos funcionalidades postuladas para el fenómeno de reconsolidación: el reforzamiento de la memoria original y la incorporación de nueva información en la memoria reactivada.

Palabras clave: reconsolidación, memoria declarativa, recordatorio, reforzamiento, actualización.

Reconsolidation of the human declarative memory

Abstract

The reconsolidation hypothesis states that a consolidated memory could again become unstable and susceptible to facilitation or impairment for a discrete period of time after a reminder presentation. The phenomenon has been demonstrated in very diverse species and types of memory, including the human procedural memory of a motor skill task.

Here we design a new paradigm that involves learning a list of non-sense syllable pairs, associated to a specific context (light, image and sound). We demonstrate for the first time, the human declarative memory reconsolidation. Moreover, we demonstrate that the reconsolidation process does not always occur when a memory is retrieved. On the contrary, it requires a reminder with a specific structure, and it seems that the mismatch between what the subject expects and what actually happens to be crucial.

Furthermore, we provide evidence to the potential functionality of this phenomenon: the strengthening of the original trace and the incorporation of new information into the reactivated memory (memory updating).

Key words: reconsolidation, declarative memory, reminder, strengthening, memory updating.

Publicaciones

Los resultados de esta Tesis han sido incluidos en las siguientes publicaciones:

Forcato C., Burgos V. L., Argibay P. F., Molina V. A., Pedreira M. E. & Maldonado H.

(2007). Reconsolidation of declarative memory in humans. *Learning & Memory*. 14: 295-303. (Maldonado H. y Pedreira M. E. contribuyeron de igual manera en este trabajo).

Forcato C., Argibay P. F., Pedreira M. E. & Maldonado H. (2009). Human Reconsolidation

does not always occur when a memory is retrieved: The Relevance of the Reminder Structure. *Neurobiology of Learning and Memory*. 91:50-57. (Maldonado H. y Pedreira M. E. contribuyeron de igual manera en este trabajo).

Forcato C., Rodríguez M. L. C., Pedreira M. E. & Maldonado H. (2010). Human

Reconsolidation opens up declarative memory to the entrance of new information. *Neurobiology of Learning and Memory*. 93(1):77-84. (Maldonado H. y Pedreira M.E. contribuyeron de igual manera en este trabajo).

Forcato C., Rodríguez M. L. C. & Pedreira M. E. (2011). Strengthening human declarative

memory by successive reactivations (*enviado para su publicación*).

A Héctor Maldonado, quien fue mi maestro y amigo.

A Nicolás y nuestro hijo León por llenar mi vida de alegría.

Agradecimientos

- A Euge, por permitirme formar parte de su grupo de trabajo. Por apoyarme en todas mis decisiones, por comprenderme. Por escuchar, por orientarme. Por preocuparse no solo por lo laboral sino por todos los aspectos de mi vida. Por incentivar mi espíritu crítico, por impulsarme a crecer. Por ser una excelente directora, que estuvo presente en cada paso, en cada experimento que no salió. Por celebrar los objetivos alcanzados.
- A Héctor, por su alegría, por valorarme, por su confianza, por compartir su entusiasmo, por romper las estructuras, por haber tenido siempre las puertas de su oficina abiertas ya sea para discutir un trabajo científico como conversar de temas personales. Por ser un ejemplo de científico que amó su trabajo y a los integrantes del laboratorio que fundó.
- A Nico, por enseñarme a vivir, a ver la vida en colores, a ver el otro lado de las cosas. Por quererme como soy, y por enseñarme a quererme como soy.
- A León, porque nunca imaginé que un ser tan pequeño me iba a cambiar tanto la vida. Por llenarme de luz cada nuevo día. Por hacer que cada momento sea valioso y único.

- A mi mamá, por ser mi mamá. Por estar presente, por apoyar todos mis proyectos. Por cuidar a León, por cuidarme a mí cuando estaba embarazada de León. Por sus payasadas que alegran en momentos oportunos.
- A mi papá, por el impulso a seguir. Por cuidarme, por ayudarme a mantener la cordura en momentos difíciles.
- A mi hermana Isabel, por estar siempre conmigo, por cuidar tanto a León. Por hacerme reír cuando las cosas se ponen negras. Por su cariño.
- A Mache, por sus charlas profundas, por ser mi amiga.
- A mis compañeros de equipo, Martín C, Yanil H y Laura R, que me apoyan en todo, que están siempre. Por ser excelentes personas, por ser mis amigos, por ser sinceros, por estar siempre dispuestos a ayudar.
- A Martín Berón por presentarme a Euge y a Héctor, ya que gracias a él ingresé a este laboratorio. Por leer siempre los papers y aportar buenas ideas para que se entiendan mejor.
- A Ángel, por recibirme siempre con su hermosa energía, por ser atento, por interesarse realmente en las personas que lo rodean.

- A Bea, por enseñarme con su ejemplo a ser fuerte y perseverante.

- A Euge, Bea, Yani, Martín B.A. por haber leído mi Tesis y aportado muchísimo para que se entienda mejor, por su tiempo, por las buenas ideas. A Martín C. por haber realizado el dibujo del cuarto experimental, por ayudarme siempre a aprender a manejar cualquier programa que necesite.

- A Luis PC, a Sil, a Sabi, a Vero C, a Lau K, a Noe por su apoyo en distintos aspectos de mi vida.

- A Vero de la F. por escucharme siempre cuando tuve un problema, por alentarme a tener a León. Por apoyarme en momentos difíciles.

- A todos los integrantes del Laboratorio de Neurobiología de la memoria, por la amistad y alegría de todos los días: A Héctor, Euge, Ángel, Gabriela, Daniel, Ale, Artur, Luis PC, Silvia, Laura K, Martín K, Mache, Yani, Martín C, Laura R, Rodrigo, Vero C, Luis S, Vero dIF, Sol, Marian, Noe, Emi, Viole, July S, July M, Martín BA, Fer, Mercedes, Pedro, Bea, Ramiro, Luciana, Damián, Florencia, Marga, Gise y Francisco.

- A Gaby C. y Darío D. por acompañarme todos estos años.

- A Yolanda, Mari y Patricia por sanar mis heridas emocionales.
- A mi hermana Gabriela por cuidar a León para que yo pueda volver al trabajo.
- A mi abuelo y mi tío Pablo, que junto con Héctor fueron las personas que marcaron positivamente mi vida para siempre.

Índice

Resumen en castellano	2
Resumen en inglés	3
Publicaciones	4
Agradecimientos	6
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN GENERAL	17
Aprendizaje y Memoria	18
Condicionamiento clásico	19
Paradigma de memoria aversiva en el cangrejo <i>Chasmagnathus granulatus</i>	20
Memoria declarativa vs. memoria no-declarativa	21
Fases de la memoria	23
<i>Surgimiento de la consolidación</i>	<i>24</i>
<i>Surgimiento de la teoría de la reconsolidación</i>	<i>26</i>
Interferencia en la evocación	29
Objetivos e hipótesis de trabajo	31
<i>Objetivos particulares</i>	<i>32</i>

CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS.....	34
Sujetos experimentales	35
Procedimiento	36
<i>Cuarto Experimental</i>	36
<i>Protocolo</i>	36
<i>Presentación de los pares de sílabas</i>	37
<i>Entrenamiento lista 1</i>	38
<i>Entrenamiento lista 2</i>	39
<i>Sesión de evaluación</i>	40
<i>Recordatorio</i>	41
<i>Demo</i>	41
Estadística	41
CAPÍTULO III: RECONSOLIDACIÓN DE UNA MEMORIA DECLARATIVA, INTERFERENCIA CON UN SEGUNDO APRENDIZAJE Y DETERMINACIÓN DE LA VENTANA TEMPORAL	42
INTRODUCCIÓN	43
MATERIALES Y MÉTODOS	45
<i>Sujetos experimentales</i>	45

<i>Grupos experimentales</i>	46
<i>Estadística</i>	49
RESULTADOS	50
<i>Parte I. Análisis de la memoria de la tarea verbal</i>	50
Experimento 1. Interacción entre memorias en el momento de la evocación	50
Experimento 2. Interferencia en la consolidación de la memoria	54
Experimento 3. Interferencia en la reconsolidación de la memoria	56
Experimentos 4 y 5. Ventana temporal de la reconsolidación	57
Experimentos 6 y 7. ¿Interferencia en la reconsolidación o facilitación de la extinción? ...	58
<i>Parte II. Análisis de la memoria de predicción</i>	60
DISCUSIÓN	61
CAPÍTULO IV: ESTRUCTURA DEL RECORDATORIO	67
INTRODUCCIÓN	68
MATERIALES Y MÉTODOS	70
<i>Sujetos experimentales</i>	70
<i>Procedimiento</i>	70
<i>Método para determinar amnesia en la memoria blanco</i>	71
<i>Tipos de recordatorio</i>	72

<i>Grupos experimentales</i>	73
RESULTADOS	75
<i>Condiciones paramétricas de la estructura del recordatorio</i>	75
Corroboración de la primera característica diagnóstica de la reconsolidación de la memoria: La labilización de la memoria	75
Segunda característica diagnóstica de la reconsolidación de la memoria: Especificidad del recordatorio	77
<i>Tipos de error en sílabas</i>	79
<i>Memoria de Predicción</i>	80
DISCUSIÓN	80
CAPÍTULO V: REFORZAMIENTO DE LA MEMORIA POR SUCESIVAS REACTIVACIONES	84
INTRODUCCIÓN	85
MATERIALES Y MÉTODOS	86
<i>Sujetos experimentales</i>	86
<i>Procedimiento</i>	87
Protocolo Experimental	87
Entrenamiento-L1	87
Tipos de recordatorio	87

Sesión de evaluación	88
Grupos experimentales	88
<i>Estadística</i>	90
RESULTADOS	90
<i>Efecto de repetidas reactivaciones sobre una memoria consolidada</i>	90
<i>Estudio sobre la dependencia de la labilización para reforzar la memoria</i>	92
<i>Evaluación a corto término</i>	93
<i>Ventana temporal</i>	94
DISCUSIÓN	97

CAPÍTULO VI: INCORPORACIÓN DE NUEVA INFORMACIÓN EN LA

MEMORIA REACTIVADA	101
INTRODUCCIÓN	102
MATERIALES Y MÉTODOS	103
<i>Sujetos experimentales</i>	103
<i>Procedimiento</i>	103
Protocolo Experimental	104
Entrenamiento-L1	104
Tipos de recordatorio	104

Tipos de instrucción	105
Información a incorporar	105
Sesión de evaluación	106
Grupos experimentales	106
<i>Estadística</i>	108
RESULTADOS	108
<i>Performance en el día 3</i>	109
DISCUSIÓN	112
CAPÍTULO VII: DISCUSIÓN GENERAL	115
El recordatorio	116
Funcionalidad	120
Memoria de predicción vs. memoria verbal	125
¿Daño en el núcleo de la memoria o en los trazos que guían su evocación?	125
Estudio del proceso de reconsolidación en diferentes paradigmas en humanos	126
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	131
APÉNDICE	146

APÉNDICE 1	147
<i>Puesta a punto del paradigma</i>	147
<i>Elección de las Sílabas</i>	151
<i>Cuarto experimental</i>	152
<i>Experimento Preliminar: Importancia del contexto de entrenamiento</i>	152
APÉNDICE 2	156
APÉNDICE 3	159
APÉNDICE 4	161
APÉNDICE 5	164
APÉNDICE 6	167

Capítulo I

Introducción general

Una de las más intrigantes funciones del sistema nervioso es la posibilidad de almacenar y evocar información proveniente de la experiencia, sin esta habilidad los organismos no seríamos capaces de adaptar nuestro comportamiento acorde a los cambios que se producen en el medio ambiente viéndose así, amenazada nuestra supervivencia.

A continuación se detallan las definiciones necesarias para comprender esta capacidad del sistema nervioso, para luego introducirnos específicamente en la fase de reconsolidación de la memoria.

Aprendizaje y Memoria

Durante muchos años la psicología experimental definió a la memoria como un cambio en el comportamiento debido a una experiencia anterior, pero con el crecimiento de la neurociencia y en una visión más integradora, se replanteó esta definición. A partir de allí la **memoria** es comprendida como una **representación interna de una experiencia comportamental, codificada espacio-temporalmente en circuitos neuronales mediante cambios en las propiedades reactivas de las neuronas, que pueden guiar el comportamiento** (Kandel et al., 2000; Figura 1). Así, el aprendizaje que surge a partir de una experiencia comportamental puede interpretarse como un proceso de adquisición o reorganización de información, que resulta en un nuevo conocimiento. La información adquirida puede expresarse en términos de representaciones internas perdurables,

codificadas en circuitos neuronales en forma de patrones espacio-temporales de actividad. Estas representaciones internas son adquiridas mediante cambios en las propiedades reactivas de las neuronas como producto del aprendizaje (Dudai, 2002).

Por definición, no todas las representaciones internas que guían el comportamiento son memorias. Construcciones innatas, codificadas genéticamente y establecidas en el desarrollo, aún en ausencia de aprendizaje, pueden ser también representaciones internas. Por lo tanto, memoria implica sólo aquellas representaciones internas resultantes del aprendizaje.

Condicionamiento clásico

El Condicionamiento clásico es una de las formas de aprendizaje asociativo más estudiado por las neurociencias. Involucra la presentación de un estímulo neutro que normalmente no provoca una respuesta refleja, llamado estímulo condicionado (EC), y un estímulo incondicionado (EI) que produce una respuesta mensurable (respuesta incondicionada, RI) desde la primera presentación. A través de sucesivas presentaciones del EC seguido por el EI, el animal comienza a generar un cambio en su comportamiento que anticipa la llegada del EI, conocido respuesta condicionada (RC). Por ejemplo, al aplicar un choque eléctrico (EI) en la pata de una rata se observa un aumento en la actividad del animal (RI). Con repetidas presentaciones de un tono (EC) asociado al choque

eléctrico (EI), las ratas comienzan a desarrollar una respuesta de inmovilidad (RC) frente a la presentación del EC (Pavlov, 1927; Schreurs, 1989).

Paradigma de memoria aversiva en el cangrejo *Chasmagnathus granulatus*

Gran parte del diseño del paradigma utilizado en la presente Tesis se inspiró conceptualmente en los experimentos desarrollados en el Laboratorio de Neurobiología de la Memoria en el cangrejo *Chasmagnathus granulatus*. El modelo de memoria estudiado en este invertebrado, implica un aprendizaje asociativo en el cual los animales aprenden a relacionar un estímulo visual de peligro (EVP, pantalla negra) con el contexto en el cual dicho estímulo es presentado (Maldonado, 2002). Ante la presentación de esta señal de peligro, una figura rectangular opaca que se desplaza horizontalmente por encima del animal, éste presenta una respuesta de escape. Con reiteradas presentaciones de la señal, tiene lugar un cambio de estrategia defensiva, donde la respuesta de escape, es reemplazada por una respuesta de inmovilidad, que persiste a través del tiempo (Pereyra et al., 1999; 2000). Este cambio de estrategia observado durante una sesión de entrenamiento, pasando de una inicial respuesta de escape a una respuesta de inmovilidad, implica una asociación entre el contexto, donde tiene lugar el entrenamiento, y la presentación del estímulo (señal) (Tomsic et al., 1998). La memoria de largo término así formada es denominada “memoria contexto-señal” (MCS) (Maldonado, 2002).

Memoria declarativa vs. memoria no-declarativa

Hasta mediados del siglo XX, la mayoría de los investigadores dudaban que las funciones mnésicas pudieran estar localizadas en regiones específicas del cerebro, apoyando la idea de que la memoria estaba ampliamente distribuida en el cerebro.

Uno de los primeros en poner en evidencia localizaciones de procesos mnésicos en el cerebro humano fue Wilder Penfield, quien comenzó a estimular el lóbulo temporal de pacientes epilépticos, logrando inducir la evocación de una representación mnésica (Penfield, 1952). Sus estudios fueron continuados por Brenda Milner, quien a través de sus investigaciones sobre los efectos de ablación bilateral de hipocampo y regiones adyacentes del lóbulo temporal en pacientes con epilepsia temporal, permitió comprender mejor la función que desempeñan los lóbulos temporales en la memoria.

El primer caso estudiado de los efectos de la ablación de parte de los lóbulos temporales en la memoria, conocido como H.M., fue el de un operario de una cadena de montaje, de 27 años de edad, que sufría crisis epilépticas crónicas que no mejoraban con los tratamientos farmacológicos tradicionales (Milner, 1959). Inmediatamente después de su intervención, H.M. sufrió un devastador déficit de memoria, perdió la capacidad de formar memorias a largo término pero conservaba recuerdos de acontecimientos de su vida de años anteriores a la intervención. Inicialmente Milner supuso que la deficiencia estaba confinada a la adquisición de nuevas memorias de largo término pero luego vio que el cuadro era más complicado. Descubrió que podía aprender nuevas memorias

motoras y mejorar la memoria perceptual. H.M y otros pacientes con lesiones similares ténporo-bilaterales podían aprender diversas tareas que tenían dos características en común: eran todas tareas automáticas o con un componente grande de automatización, hábitos o tareas de poca complejidad que no requieren comparación ni evaluación, ni conciencia de que se hacen o se aprenden. A este tipo de memoria se la denominó **memoria implícita** o **no-declarativa** (Squire, 1987; Schacter, 1992). Por el contrario, a la memoria que depende de la integridad hipocampal se la denominó **memoria explícita** o **declarativa** (Schacter, 1987; Squire, 1992) e incluye todos los tipos de memoria que implican en el hombre un proceso consciente (Figura 2).

En el año 1972, Endel Tulving propuso una distinción en la memoria declarativa entre memoria semántica y episódica. La **memoria semántica** se refiere al conocimiento de las palabras y de su significado, de los conceptos, de sus relaciones, de las reglas para su utilización, así como al conocimiento general acerca del mundo cuando tal conocimiento no está ligado al contexto espacio-temporal de su adquisición.

En cambio, la **memoria episódica** contiene información de acontecimientos contextualizados, acotados espacial y temporalmente. El hecho mismo de su adquisición por parte del sujeto, el momento y circunstancia en las se adquirió la información es un ingrediente esencial de este tipo de memoria; por tanto, la memoria episódica tiene siempre una referencia autobiográfica.

Entre los aspectos más importantes de la codificación de las memorias episódicas figuran las características perceptuales del suceso; no sólo recordamos la palabra, sino si estaba impresa o si fue pronunciada o si la emitió una voz de hombre o de mujer. La

memoria semántica es más abstracta y no registra propiedades perceptuales de la información incorporada.

El conocimiento del significado de las palabras “perro” y “animal” o “manzana” y “fruta”, así como el conocimiento de sus relaciones “el perro es un animal” o “la manzana es una fruta” son contenidos de la memoria semántica. Por el contrario, si al terminar la lectura de este Capítulo se recuerda que en él se presentó como ejemplo la palabra “perro” tal conocimiento corresponde a la memoria episódica (Tulving, 1972; Schacter & Tulving, 1982; Tulving, 2002).

En la presente tesis trabajaremos con memorias generadas en el laboratorio, que caen bajo la categoría de episódicas.

Fases de la memoria

Vimos que la memoria es generada a través del aprendizaje. Pero la construcción de la misma no ocurre instantáneamente, sino a través de un proceso con una determinada dinámica temporal. El aprendizaje constituye el primer paso del proceso, llamado **fase de adquisición**, donde se produce la codificación de los estímulos sensoriales en representaciones neuroquímicas. El segundo paso, denominado **consolidación**, constituye un período de estabilización que permite a la memoria subsistir en el tiempo (Dudai, 2004). Se demostró que esta fase es dependiente de la expresión génica y de la síntesis proteica (Davis & Squire, 1984; Goelet et al., 1986). Ya consolidada la memoria, se

puede recuperar la información almacenada, lo cual ocurre durante la **fase de evocación**, a través de la cual somos capaces de evidenciar la existencia de la memoria (Sara & Hars, 2006). A su vez, la memoria consolidada luego de la presentación de un recordatorio puede atravesar un período de vulnerabilidad seguido de un período de reestabilización (Nader et al., 2000a). Esta fase de la memoria es denominada **fase de reconsolidación** y se desarrollará en detalle en este Capítulo.

Surgimiento de la consolidación

En el año 1900, Georg Müller y Alfons Pilzecker introdujeron el concepto de perseveración de la memoria, luego conocida como consolidación. Realizaron una serie de experimentos con humanos en los cuales los sujetos experimentales debían aprender una lista de doce sílabas (lista A) presentadas sobre un tambor rotatorio. A los 34 segundos debían aprender otra lista de doce sílabas (lista X). Y finalmente se los evaluaba para la lista A. Los sujetos que recibieron la segunda lista cometían significativamente más errores que aquellos a quienes se les había presentado una única lista (Figura 3A). Resultó sorprendente ver que el mismo efecto se encontraba si en lugar de presentar una segunda lista los sujetos observaban una serie de imágenes (Figura 3B). Ensayaron a distintos tiempos entre la presentación de la lista A y X y determinaron que después del entrenamiento un proceso interno “fijaba” las asociaciones que se habían formado. Se denominó a este proceso como consolidación de la memoria, y se estableció que el

fenómeno de consolidación quedaba demostrado si había amnesia cuando se introducía un factor de interferencia dentro de un intervalo de tiempo posterior al entrenamiento, pero no cuando se lo presentaba más allá de ese intervalo.

Cabe destacar que poco antes de que Müller y Pilzecker introdujeran el término de consolidación, el proceso ya había sido puesto en evidencia por los datos clínicos publicados por Théodule-Armand Ribot (1882) en los cuales, pacientes con amnesia orgánica global tenían más afectada la memoria de los eventos recientes que la de los más remotos.

Cincuenta años después, Donald Hebb y Ralph Gerard propusieron la teoría dual de la memoria, en la que sugerían que la estabilización de la actividad neural reverberante de la memoria a corto término (MCT) producía la memoria a largo término (MLT). Los hallazgos de que los inhibidores de síntesis proteica no interferían con el aprendizaje de tareas pero interrumpían el almacenaje del mismo (Agranoff et al., 1965), apoyó la idea de que había al menos dos estados de memoria, indicando que la síntesis proteica era solo requerida para la consolidación de memorias a largo plazo (Figura 4). El debate sobre si las memorias de corto y largo plazo son secuenciales (Gerard, 1949; Hebb, 1949), o adquiridas independientemente en forma paralela (McGaugh, 1966; Alpern & McGaugh, 1968) continúa actualmente.

Hoy en día, el término consolidación se usa para referirse a dos procesos diferentes: uno que ocurre dentro de los primeros minutos a horas siguientes a la adquisición y otro que lleva semanas, meses o incluso años hasta completarse (Dudai, 2002). Al primero se lo

denomina **consolidación sináptica** y tiene lugar en nodos locales en los circuitos neuronales que codifican a la representación interna. Si bien los cambios se observan en las sinápsis, el proceso implica la coordinación entre la sinápsis activada y el núcleo (Dudai & Morris, 2000). Este proceso involucra la activación de las cascadas intracelulares de transducción provocando la modulación de la expresión génica y culmina en la síntesis de nuevas proteínas (Davis & Squire, 1984). Éstas sirven a las modificaciones morfológicas de largo término (Bailey et al., 1996; 2004). Esta fase puede ser bloqueada por inhibidores de la síntesis de proteínas o de ARN durante un período de tiempo después del cual la memoria se hace inmune a estos agentes amnésicos (Flood et al., 1973; Davis & Squire, 1984; Goelet et al., 1986; Abel & Kandel, 1998). Por otro lado, la **consolidación sistémica** involucra la reorganización a través del tiempo de circuitos neuronales y áreas cerebrales de procesamiento y almacenamiento de la información (Dudai, 2002). En este caso, una forma de evidenciar el proceso es a través de lesiones en ciertas áreas específicas, como la formación hipocampal o la neocorteza en los mamíferos (Cho et al., 1993; Kim et al., 1995; Winocur, 1990; Clark et al., 2002).

Surgimiento de la teoría de la reconsolidación

La teoría de la consolidación de la memoria, instalada desde principios del siglo XX, se mantuvo como un dogma durante gran parte de los cien años que pasaron desde su formulación por Müller y Pilzecker. Se consideraba que luego del aprendizaje la memoria

atravesaba un período en el cual era lábil, es decir, susceptible a la acción de agentes interferentes luego del cual la memoria se fijaba y no podía modificarse. Se decía que la memoria quedaba consolidada, en un estado inactivo o durmiente. Podía ser evocada pero en ningún caso afectada (bloqueada o potenciada) por un factor de interferencia (Hebb, 1949; Davis & Squire, 1984).

A fines de la década del 60, varios autores encontraron que una memoria ya consolidada podía ser bloqueada, si se la evocaba mediante la presentación del estímulo condicionado (EC) e inmediatamente se la interfería con un electrochoque convulsivo (Lewis & Maher, 1965; Misanin et al., 1968; Lewis, 1969). Los mismos resultados se obtuvieron usando hipotermia en lugar de electrochoque, una inyección de anisomicina¹, u otro aprendizaje como agente amnésico (Mactutus et al., 1979; Judge & Quartermain, 1982; Gordon, 1983).

Esos resultados quedaron olvidados por más de veinte años. Entre los años 1997 y 2000 se produjo un resurgimiento en el interés por el tema. El grupo de Susan Sara demostró que la memoria consolidada de una discriminación espacial podía pasar de un estado inactivo a un estado activado (reactivación) luego de la presentación de un recordatorio, seguido por un proceso de reestabilización. Así, la memoria podía ser perjudicada si se presentaba luego de la reactivación un antagonista de los receptores de NMDA o de los receptores β -adrenérgicos (Przybylski & Sara, 1997; Przybylski et al., 1999). Estos investigadores denominaron a este fenómeno como **reconsolidación**.

¹ **Anisomicina.** Es un antibiótico producido por *Streptomyces griseolus*, que bloquea la síntesis proteica.

Un año más tarde, el grupo de Joseph LeDoux demostró la fase de reconsolidación en una memoria aversiva (Nader et al., 2000a). Cabe destacar que hasta ese momento para interferir la reconsolidación, todos los grupos habían utilizado como agentes amnésicos electrochoque convulsivo e inhibidores de la síntesis proteica o bloqueantes β -adrenérgicos inyectados sistémicamente, que tenían efecto a nivel de todo el organismo. Sin embargo, este grupo planteó un diseño robusto en el cual el agente amnésico estuvo dirigido al locus principal implicado en el procesamiento y almacenaje de las memorias aversivas: la amígdala basolateral. Este tratamiento localizado, demostró de manera inequívoca la existencia de la reconsolidación al bloquear específicamente la síntesis proteica en esta estructura, luego de la reactivación de la memoria.

De esta manera, sus experimentos marcaron un punto de inflexión a partir del cual la fase de reconsolidación se convirtió en un área de intensa investigación en las neurociencias, y ha sido demostrada en una gran variedad de especies como roedores, pollos, peces, caracoles de agua dulce y cangrejos entre otros, y en diferentes tipos de memoria, incluyendo memorias motoras en el hombre (Anokhin et al., 2002; Eisenberg et al., 2003; Pedreira & Maldonado, 2003; Sangha et al., 2003; Walker et al., 2003).

Desde su inicio el término reconsolidación se tomó como una recapitulación de la consolidación (Przybylski & Sara, 1997; Przybylski et al., 1999; Nader et al., 2000a). Sin embargo, nosotros entendemos a la reconsolidación como al fenómeno desencadenado por la presentación de un recordatorio. Así, la reconsolidación estaría formada por dos procesos conceptualmente diferentes: por el pasaje de la memoria de un

estado inactivo a un estado activo (labilización) y por la recuperación de la estabilidad de la memoria (reestabilización). Por lo tanto, a lo largo de esta Tesis cuando hablemos de **reconsolidación** haremos referencia a la **labilización-reestabilización** de la memoria. Mientras que cuando queramos destacar los procesos en forma independiente, hablaremos de **labilización (reactivación)** o de **reestabilización**.

Interferencia en la evocación

Hemos visto que una fase importante de la memoria es poder recurrir a la información almacenada para hacer uso de ella. Pero aún memorias que fueron correctamente codificadas y almacenadas pueden fallar en el momento de la evocación.

Cada vez hay más evidencias acerca de que las memorias no se almacenan independientemente sino que constituyen una amplia red de asociación. De manera que si evocamos una memoria dada, simultáneamente se pueden evocar ítems de memorias relacionadas y esto puede interferir con la expresión de la memoria de interés. A este fenómeno se lo denominó **interferencia simultánea en la evocación** y el mismo da cuenta de que las respuestas aprendidas bajo las mismas circunstancias compiten unas con otras durante la evocación. Esta hipótesis planteada inicialmente por McGeoch en 1932 postula que este tipo de interferencia se daría en memorias que fueron adquiridas independientemente unas de otras, y que el aprendizaje de la tarea que compite no tiene

efecto sobre el aprendizaje original, sino que la interferencia estaría dada a nivel de la evocación.

Este tipo de interferencia se produce sobre la memoria que estamos evocando en primera instancia, de allí su nombre “interferencia simultánea”, es decir, se produce en el momento y sobre la memoria que intentamos evocar.

Otro tipo de interferencia en la evocación que no se da simultáneamente como el anterior, sino que tiene un efecto tardío, es el **olvido inducido por evocación (RIF, retrieval induced forgetting; Anderson et al., 1994)**. Este fenómeno explica cómo el evento de evocar una memoria interrumpe momentáneamente la evocación posterior de otra memoria relacionada. En los experimentos estándares de RIF, en la **sesión 1** los sujetos aprenden categorías asociadas a ítems (por ejemplo: frutas-naranja, frutas-banana, bebidas-whisky). A continuación, en la **sesión 2**, se les pide que evoquen mitad de las categorías (por ejemplo: frutas) y dentro de esa categoría, la mitad de los ítems (por ejemplo: naranja). Por lo tanto, un tercio son ítems no practicados de categorías no practicadas (bebidas-whisky), otro tercio son ítems no practicados de categorías practicadas (frutas-banana) y el tercio restante son ítems practicados de categorías practicadas (frutas-naranja). Inmediatamente después, en la **sesión 3**, se los evalúa para todos los ítems estudiados en la sesión 1. Se observa que los ítems que fueron practicados son evocados más fácilmente que los ítems de categorías no practicadas (línea de base: bebidas-whisky); y que los ítems no-practicados de categorías practicadas son menos evocados que la línea de base. Por lo tanto, este resultado indicaría que al evocar en la sesión 2 ítems de determinada categoría estaría perjudicando la evocación posterior de

los ítems relacionados a dicha categoría que no fueron practicados. Este efecto se observa cuando la sesión 3 es presentada inmediatamente después de la sesión 2 pero deja de observarse cuando el intervalo entre las mismas es de 24 horas (MacLeod & Macrae, 2001).

El efecto RIF fue observado con varios tipos de estímulo incluyendo objetos visuoespaciales, fotografías de escenas de crimen y detalles de eventos autobiográficos (Anderson, 2003). También se demostró que las memorias semánticas son vulnerables a este tipo de interferencia (Johnson & Anderson, 2004), y que la disminución en la evocación de palabras de la lengua materna cuando se está aprendiendo un nuevo idioma puede ser explicado por el mismo fenómeno (Levy et al., 2007).

Teniendo en cuenta los antecedentes aquí expuestos, se espera que al trabajar con memorias que fueron adquiridas bajo condiciones similares las mismas interactúen durante la evocación, pudiéndose observar así los dos tipos de interferencia desarrollados en este apartado. En la presente Tesis cuando se haga referencia éstas interferencias se hablará estrictamente de interferencia simultánea y olvido inducido por evocación (RIF).

Objetivos e hipótesis de trabajo

El propósito fundamental de la presente Tesis Doctoral fue, con un enfoque eminentemente biológico y basados en los conceptos postulados a partir de los resultados

previos de nuestro laboratorio en el cangrejo *Chasmagnathus granulatus*, poner a prueba por primera vez la hipótesis de la reconsolidación de la memoria declarativa en humanos.

Nuestra **hipótesis de trabajo** es que la fase de reconsolidación de la memoria se encuentra evolutivamente conservada, siendo su funcionalidad la modificación de memorias preexistentes permitiendo a los organismos adaptarse a un medio ambiente cambiante. Teniendo en cuenta esta funcionalidad, se desprende que no cualquier evocación dispararía el fenómeno de reconsolidación, solo atravesarían esta fase memorias que hayan sido evocadas bajo situaciones particulares siendo el desacuerdo entre lo que el sujeto espera y lo que realmente ocurre fundamental para que se desencadene el proceso.

Objetivo particulares

- Diseñar y poner a punto un paradigma para evaluar la existencia de la fase de reconsolidación de una memoria declarativa en humanos.
- Labilizar la memoria blanco (memoria de interés) presentando elementos contextuales.
- Bloquear el proceso de reconsolidación con otra memoria declarativa.
- Determinar la ventana temporal crítica, de dicho proceso, sensible a interferencia.

- Estudiar la estructura del recordatorio necesaria para desencadenar la fase de reconsolidación.
- Estudiar el efecto que tienen sobre la memoria sucesivas reactivaciones.
- Estudiar la posibilidad de incorporar nueva información a una memoria preexistente.

Capítulo II

Materiales y métodos

El primer desafío al cual nos enfrentamos en el momento de comenzar los experimentos fue que no contábamos con un paradigma que involucrase memorias declarativas. Por lo tanto, tuvimos que diseñar y poner a punto un paradigma que nos permitiese estudiar la existencia de la fase de reconsolidación de memorias declarativas en el hombre. La puesta a punto y elección de los distintos parámetros se encuentra detallado en el Apéndice 1.

Desarrollamos un paradigma que implicó dos tipos de aprendizaje: uno verbal y uno de predicción. La **tarea verbal** consistió en el aprendizaje de una lista de cinco pares de sílabas sin sentido (sílabas-clave; sílabas-respuesta) presentadas en el monitor de una computadora. La **tarea de predicción** consistió en la asociación de un contexto específico a la tarea verbal.

El contexto estuvo formado por la presentación de una luz proyectada en el fondo del cuarto experimental a través de un tablero de luces, una imagen presentada en el monitor y una música a través de auriculares.

Durante el entrenamiento se presentaron varios contextos pero sólo uno era seguido por la lista de sílabas (contexto correcto o contexto específico). Por lo tanto los sujetos debían aprender a predecir cuál era el contexto que acompañaba a la lista y a su vez aprender los pares de sílabas que se presentaban.

Sujetos experimentales. Se reclutaron 917 voluntarios estudiantes y graduados de la Universidad de Buenos Aires para participar de los experimentos. Antes de su

participación firmaron el consentimiento informado, aprobado por el Comité de Ética para Protocolos de Investigación (CEPI) Hospital Italiano de Buenos Aires (Capítulos III, IV y Apéndice 1) o por La Sociedad Argentina de Investigaciones Clínicas, SAIC (Capítulos V y VI).

Cada sujeto fue asignado aleatoriamente a un grupo experimental. Las edades de los participantes oscilaron entre los 18 a 35 años.

Procedimiento

Cuarto Experimental. Los experimentos se llevaron a cabo en un gabinete ubicado en el Hospital Italiano de Buenos Aires (Capítulos III, IV y Apéndice 1) y en el subsuelo de Ciudad Universitaria (Capítulos V y VI). El cuarto estaba provisto de una computadora personal, un tablero de luces y auriculares (Figura 5). El sujeto experimental se ubicaba a un metro frente al monitor de una computadora y disponía de un teclado iluminado.

Detrás del monitor se encontraba el tablero de luces, las mismas proyectaban en la pared que miraba el sujeto experimental.

Protocolo. Los experimentos, en su forma más básica, se realizaron en tres días consecutivos. El primer día de entrenamiento, el segundo de reexposición al contexto de aprendizaje y/o aprendizaje de una segunda tarea y el tercero de evaluación.

La tarea consistió en dos tipos de aprendizaje simultáneos, uno verbal (aprendizaje de una lista de sílabas) y otro de predicción (asociación de una combinación específica de luz, imagen y música a la tarea verbal). De esta manera, los sujetos debían aprender pares

de sílabas asociadas y a su vez descubrir cuál era la combinación correcta de estímulos que la acompañaba.

Dos tipos de ensayo formaban cada tarea, los **ensayos correctos** (combinación específica de estímulos siempre acompañado por la lista de sílabas, Figura 6A) y los **ensayos falsos** (combinaciones de estímulos diferente a la correcta nunca acompañados por las sílabas, Figura 6B).

Cada ensayo estuvo formado por un primer período en el cual se presentaba el contexto (**período de contexto**), pero solo los ensayos correctos eran seguidos por un segundo período en el cual se presentaban los pares de sílabas (**período de sílabas**) (Figura 6A). El período de contexto estaba formado por una secuencia fija de tres pasos acumulativos: primero, una luz era proyectada en la pared por 5 segundos; luego, se sumaba la presentación de una imagen en el monitor por 5 segundos más; y por último se sumaba la presentación de una música a través de auriculares por 10 segundos. Si la combinación era la correcta era seguida por el período de sílabas y el contexto específico persistía durante el mismo. Cada lista consistía en 5 pares de sílabas que eran presentados en orden aleatorio.

Presentación de los pares de sílabas. En el caso de los ensayos correctos, el contexto era seguido por el período de sílabas que comenzaba con la presentación de una sílaba-clave en el lado izquierdo del monitor y un cuadrado blanco vacío a la derecha, en donde los sujetos debían responder con la sílaba correspondiente antes de los 5 segundos (salvo en

el primer ensayo de entrenamiento en donde las sílabas-respuesta se autocompletaban).

Una vez terminado este tiempo tres situaciones eran posibles:

- 1) **si no escribían ninguna sílaba**, la respuesta correcta era mostrada en color rojo por 4 segundos;
- 2) **si escribían una sílaba incorrecta** la respuesta era reemplazada por la correcta en color rojo permaneciendo durante 4 segundos;
- 3) **si completaban con la sílaba correcta**, ésta permanecía en color negro durante 4 segundos.

A continuación, el par desaparecía e inmediatamente después, otra sílaba-clave se presentaba en el monitor, un espacio por debajo de la anterior. El proceso se repetía hasta que toda la lista se hubiese presentado. Cada vez que un sujeto respondía una sílaba erróneamente o no respondía, se computaba un error.

Un ensayo correcto duraba 65 segundos (20 segundos de contexto y 45 segundos de presentación de sílabas).

Entrenamiento lista 1 (L1). Cada ensayo estuvo formado por una luz roja o azul, una foto de la ciudad de Ravello o Nueva York y una música de jazz o una tarantela. Solo una combinación de estos estímulos (contexto específico) era seguida por la lista de sílabas-L1. El contexto específico estuvo formado por: luz roja + imagen de Nueva York + música de jazz y la lista 1 (L1) por 5 pares de sílabas sin sentido: **ITE-OBN**, **ASP-UOD**, **FLI-AIO**, **NEB-FOT**, **COS-GLE** (**sílaba-clave** - sílaba-respuesta, Figura 6C).

El entrenamiento-L1 consistió en 10 ensayos correctos entremezclados con 22 ensayos falsos, separados por un intervalo de 3 segundos. En el primer ensayo, la lista 1 era presentada y en los sucesivos 9 ensayos los sujetos experimentales debían completar cada vez que aparecía una sílaba-clave con su sílaba-respuesta asociada.

Los sujetos que no alcanzaron un 70% de respuestas correctas en el bloque de los cuatro últimos ensayos del entrenamiento (14 respuestas correctas de 20) fueron excluidos del análisis.

Para evaluar la memoria de predicción (asociación entre el contexto específico y la lista de sílabas) a los 3 segundos después de la presentación del sonido aparecía en la parte inferior del monitor una señal indicando que los sujetos debían responder (un cuadradito verde que decía SI, y un cuadradito rojo que decía NO). Los sujetos debían presionar la tecla “SI” o “NO” (teclas de expectativa) en el teclado. Los sujetos debían presionar “SI” cuando consideraban que la combinación de estímulos era la que precedía la aparición de la lista de sílabas, o “NO” en el caso opuesto.

Entrenamiento lista 2 (L2). En algunos experimentos se utilizó un segundo aprendizaje de pares de sílabas. Cada ensayo de entrenamiento estuvo formado por una luz verde o amarilla, una foto de un bosque o de una playa y una sinfonía o un blues. El contexto específico estuvo formado por: luz verde + imagen de un bosque + sinfonía y la lista 2 por 5 pares de sílabas sin sentido **OEN-SRO, DRI-CRE, AIC-POA, TIU-PLA, KEC-CLO (sílabas-clave - sílaba-respuesta, Figura 6D).**

El entrenamiento de L2 consistió en la presentación de 10 ensayos correctos entremezclados con 22 ensayos falsos. En el primer ensayo, la lista 2 era presentada y en los sucesivos 9 ensayos los sujetos experimentales debían completar con las correspondientes sílabas-respuesta.

Los sujetos que no alcanzaron un 70% de respuestas correctas en el bloque de los cuatro últimos ensayos del entrenamiento (14 respuestas correctas de 20) fueron excluidos del análisis.

Para evaluar la memoria de predicción los sujetos debían presionar la tecla “SI” o “NO” como en el entrenamiento-L1.

Sesión de evaluación. La misma consistió en evaluar el aprendizaje de L1 y L2. A los grupos a los que se evaluó primero la lista 1 y en segundo lugar la lista 2 se los denominó **grupos A**. A los grupos a los que se evaluó en el orden inverso (primero L2, luego L1) se los denominó **grupos B**.

Cada evaluación (L1 o L2) consistió de 4 ensayos correctos entremezclados con 12 ensayos falsos (16 ensayos en total). A diferencia del entrenamiento, los sujetos debían completar cada vez que aparecía una sílaba-clave con su correspondiente sílaba-respuesta, desde el primer ensayo.

Los sujetos también debían responder “SI” o “NO” a cada contexto que aparecía en la sesión de evaluación.

Recordatorio. El ensayo recordatorio estuvo formado por el contexto específico de L1, los sujetos debían responder a través de las teclas de expectativa “SI” o “NO”, si consideraban o no que ese contexto era el correcto y luego se presentaba una sílaba-clave. A los dos segundos aparecía en el monitor un cartel que anunciaba que la sesión debía ser interrumpida sin permitir a los sujetos completar con la correspondiente sílaba-respuesta (Figura 6E).

Demo. Antes de la sesión de entrenamiento los participantes eran confrontados con una demostración y recibían las instrucciones necesarias para entender la tarea que debían realizar. El programa consistía de 4 ensayos similares en estructura pero con diferentes contextos y 2 pares de sílabas diferentes a las de L1 y L2.

Estadística. En el caso de curvas de aprendizaje las diferencias se analizaron con ANOVA de medidas repetidas. Los errores totales se analizaron con ANOVA de un factor y posteriormente con comparaciones no-planeadas LSD ($\alpha=0,05$). Las comparaciones siempre fueron realizadas contra los respectivos controles. En los capítulos en los que se analizaron otras variables se detalla la estadística utilizada.

Capítulo III

Reconsolidación de una memoria declarativa,
interferencia con un segundo aprendizaje
y determinación de la ventana temporal

Los resultados de este Capítulo se encuentran publicados en:

Forcato C., Burgos V. L., Argibay P. F., Molina V.A., Pedreira M. E. & Maldonado H. (2007). Reconsolidation of declarative memory in humans. *Learning & Memory*. 14: 295-303. (Maldonado H. y Pedreira M. E. contribuyeron de igual manera en este trabajo).

INTRODUCCIÓN

Como vimos en el Capítulo I, la hipótesis de la reconsolidación postula que una memoria consolidada puede atravesar nuevamente un período en el cual es susceptible a ser bloqueada o facilitada, luego de la presentación de un recordatorio (Nader et al., 2000a; Sara, 2000a; Frenkel et al., 2005). Este fenómeno se observó en diversas especies (Anokhin et al., 2002; Eisenberg et al., 2003; Sangha et al., 2003; Pedreira & Maldonado, 2003), incluyendo memorias motoras en humanos (Walker et al., 2003). Sin embargo cuando comenzamos a diseñar los experimentos que vamos a discutir en este Capítulo, no había sido estudiada en memorias declarativas, es decir, en memorias que requieren consciencia en el momento de ser adquiridas y evocadas. A este tipo de memoria, a diferencia de las memorias motoras, Yadin Dudai las define como propias del hombre (Dudai, 2002).

El hecho de que este fenómeno exista en tan diversos tipos de memoria y diferentes especies animales apoyaría a la hipótesis de que los mecanismos y procesos fenomenológicos se encuentran conservados evolutivamente.

En la mayoría de los trabajos pioneros, la reconsolidación se demuestra por su ausencia, es decir, a través del bloqueo de esta fase, presentando luego del recordatorio algún agente amnésico como bloqueantes β -adrenérgicos, inhibidores de la síntesis proteica o también por nuevos aprendizajes (Przybylski et al., 1999; Nader et al., 2000a; Walker et al., 2003; Boccia et al., 2005). En todos estos casos, la memoria se evalúa analizando la performance de la memoria blanco (memoria de interés). Es decir, la forma

de ver si la memoria se encuentra perjudicada es analizando la evocación de la misma (Sara & Hars, 2006).

Sin embargo, si uno considera que las memorias no son almacenadas unas independientemente de las otras, sino que son integradas en amplias redes de asociación (Levy & Anderson, 2002; Berman et al., 2003; Debiec et al., 2006) la activación de un trazo relacionado puede perjudicar la evocación de la memoria de interés (McGeoch, 1932; Postman, 1971; Anderson & Neely, 1996). En este escenario si evaluamos únicamente a la memoria blanco (método directo) estaríamos perdiendo información relevante.

Es decir, una evocación defectuosa podría deberse a la existencia de fallas en la codificación de esa información, a problemas en el almacenaje o a interferencias en la evocación, por ejemplo a una interferencia simultánea de información relacionada (Mayes & Downes, 1997). Por lo tanto, al trabajar con memorias relacionadas, el método directo de evaluación carecería de especificidad.

En este Capítulo se plantea un método alternativo para determinar si una memoria se encuentra dañada en su almacenaje. Este método se basa en el efecto de olvido que la evocación de la memoria blanco puede generar en memorias relacionadas. A este efecto se lo denominó olvido inducido por evocación (*RIF, retrieval induced forgetting*, Anderson et al., 1994; MacLeod & Macrae, 2001) y explica cómo el acto de recordar puede bloquear temporalmente la evocación de otra memoria relacionada. Para que este efecto sea posible, la memoria que induce el RIF debe encontrarse intacta, por lo tanto la ausencia

del efecto RIF sería un buen indicador de que la memoria blanco se encuentra perjudicada.

La amnesia no sería revelada por una mala performance en la memoria blanco (que podría atribuirse a existencia de fallas en la codificación de esa información, en el almacenaje o a una interferencia simultánea con otras memorias durante la evocación) sino por la evocación satisfactoria de la memoria relacionada.

En este Capítulo ponemos a prueba la existencia de la fase de reconsolidación en una memoria declarativa en humanos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sujetos experimentales. 347 voluntarios estudiantes y graduados de la Universidad de Buenos Aires participaron de los experimentos. Antes de su participación firmaron el consentimiento informado, aprobado por el Comité de Ética para Protocolos de Investigación (CEPI) Hospital Italiano de Buenos Aires. 87 voluntarios (25%) fueron excluidos del estudio debido a que escribieron en un papel y estudiaron la lista de sílabas, no vieron al recordatorio en el día 2 por no estar atentos cuando se presentó, durmieron una siesta entre la presentación del recordatorio y el segundo aprendizaje, no llegaron al criterio de 70% de respuestas correctas en los últimos ensayos del entrenamiento (14/20

respuestas correctas), Sus edades oscilaban entre 18 a 35 años con una media de 25 (40% hombres, 60% mujeres). Cada participante fue asignado a uno de 26 grupos.

El procedimiento fue igual al explicado en materiales y métodos del Capítulo II.

Grupos experimentales. Se realizaron 7 experimentos, cada uno con sus respectivos controles. Los **grupos A** fueron evaluados en **fase 1** (en primer lugar) con **L1** y en **fase 2** (en segundo lugar) con **L2**; y los **grupos B** fueron evaluados en **fase 1** (en primer lugar) a la **L2** y en **fase 2** (en segundo lugar) a la **L1**. Cada grupo estuvo formado por 10 sujetos experimentales.

Experimento 1. Interacción entre memorias en el momento de la evocación (n=10)

Grupo no-recordatorio, NR(A). Los sujetos recibieron el entrenamiento-L1 en el día 1, el entrenamiento-L2 en el día 2 y fueron evaluados en el día 3 primero para L1 y después para L2.

Grupo no-recordatorio, NR(B). Los sujetos recibieron el entrenamiento-L1 en el día 1, el entrenamiento-L2 en el día 2 y fueron evaluados en el día 3 primero para L2 y después para L1.

Grupo control L1, CTL1(NR). Los sujetos fueron entrenados con L1 en el día 1 y evaluados en el día 3.

Grupo control L2, CTL2(NR). Fueron entrenados con L2 y evaluados al día siguiente.

Experimento 2. Interferencia en la consolidación de la memoria (n=10)

Grupo consolidación A, Con(A). Los sujetos recibieron el entrenamiento-L1 en el día 1, a los 5 minutos el entrenamiento-L2, y fueron evaluados en el día 3 primero para L1 y después para L2.

Grupo consolidación B, Con(B). Los sujetos recibieron el entrenamiento-L1 en el día 1, a los 5 minutos el entrenamiento-L2, y fueron evaluados en el día 3 primero para L2 y después para L1.

Grupo control L1, CTL1(Con). Los sujetos fueron entrenados con L1 en el día 1 y evaluados en el día 3.

Grupo control L2, CTL2(Con). Los sujetos fueron entrenados con L2 en el día 1 y evaluados en el día 3.

Experimento 3. Interferencia en la reconsolidación de la memoria (n=10)

Grupo recordatorio A, R(A). Los sujetos recibieron el entrenamiento-L1 en el día 1, el recordatorio en el día 2 y a los 5 minutos el entrenamiento-L2, y fueron evaluados en el día 3 primero para L1 y después para L2.

Grupo recordatorio B, R(B). Los sujetos recibieron el entrenamiento-L1 en el día 1, el recordatorio en el día 2 y a los 5 minutos el entrenamiento-L2, y fueron evaluados en el día 3 primero para L2 y después para L1.

Grupo control L1, CTL1(R). Los sujetos fueron entrenados con L1 en el día 1, recibieron el recordatorio en el día 2 y fueron evaluados en el día 3.

Grupo control L2, CTL2(R). Fueron entrenados con L2 y evaluados al día siguiente.

Experimento 4. Ventana temporal de la reconsolidación (6 horas) (n=10)

Grupo recordatorio A 6horas, R6(A). Los sujetos recibieron el entrenamiento-L1 en el día 1, en el día 2 recibieron el recordatorio y a las 6 horas el entrenamiento-L2, y fueron evaluados en el día 3 primero para L1 y después para L2.

Grupo recordatorio B 6 horas, R6(B). Los sujetos recibieron el entrenamiento-L1 en el día 1, en el día 2 recibieron el recordatorio y a las 6 horas el entrenamiento-L2, y fueron evaluados en el día 3 primero para L2 y después para L1.

Grupo control L1, CTL1(R6). Los sujetos fueron entrenados con L1 en el día 1, recibieron el recordatorio en el día 2 y fueron evaluados en el día 3.

Grupo control L2, CTL2(R6). Fueron entrenados con L2 y evaluados al día siguiente.

Experimento 5. Ventana temporal de la reconsolidación (10 horas) (n=10)

Grupo recordatorio A 10horas, R10(A). Los sujetos recibieron el entrenamiento-L1 en el día 1, en el día 2 recibieron el recordatorio y a las 10 horas el entrenamiento-L2, y fueron evaluados en el día 3 primero para L1 y después para L2.

Grupo recordatorio B 10 horas, R10(B). Los sujetos recibieron el entrenamiento-L1 en el día 1, en el día 2 recibieron el recordatorio y a las 10 horas el entrenamiento-L2, y fueron evaluados en el día 3 primero para L2 y después para L1.

Grupo control L1, CTL1(R10). Los sujetos fueron entrenados con L1 en el día 1, recibieron el recordatorio en el día 2 y fueron evaluados en el día 3.

Grupo control L2, CTL2(R10). Fueron entrenados con L2 y evaluados al día siguiente.

Experimento 6 y 7. ¿Interferencia en la reconsolidación o facilitación de la extinción?**Experimento 6.** (n=10)

Grupo no-recordatorio evaluación a las 48 horas (NR48). Los sujetos recibieron el entrenamiento-L1 en el día 1, el entrenamiento-L2 en el día 2 y fueron evaluados en el día 4 primero para L1 y después para L2.

Grupo control L1, CTL1(NR48). Los sujetos fueron entrenados con L1 en el día 1, y evaluados en el día 4.

Grupo control L2, CTL2(NR48). Fueron entrenados con L2 y evaluados a los 2 días.

Experimento 7. (n=10)

Grupo recordatorio evaluación a las 48 horas (R48). Los sujetos recibieron el entrenamiento-L1 en el día 1, en el día 2 recibieron el recordatorio y a los 5 minutos el entrenamiento-L2 y fueron evaluados en el día 4 primero para L1 y después para L2.

Grupo control L1, CTL1(R48). Los sujetos fueron entrenados con L1 en el día 1, recibieron el recordatorio en el día 2 y fueron evaluados en el día 4.

Grupo control L2, CTL2(R48). Fueron entrenados con L2 y evaluados a las 48 horas.

Estadística. Todos los grupos estuvieron formados por 10 sujetos, los cuales fueron asignados al azar en los diferentes grupos. Las curvas de aprendizaje se analizaron con ANOVA de medidas repetidas. Los resultados del día 3 son reportados como la media del número de errores totales (bloque de 4 ensayos) para cada evocación y analizados como ANOVA de un factor seguido de comparaciones no planeadas LSD ($\alpha=0,05$) entre el

número de errores de L1 en fase 1 (o fase 2) vs. el control CTL1 respectivo; y los errores en L2 en fase 2 (o fase 1) vs. el control CTL2 respectivo.

La elección del análisis estadístico estuvo basada en evaluar la influencia mutua en la sesión de evaluación entre las evocaciones de dos materiales verbales diferentes. El efecto fue revelado al contrastar la performance para la evocación de L1 de un grupo que recibe tanto L1 como L2 contra la performance del grupo control que recibe solo el entrenamiento-L1; y separadamente la performance para L2 de un grupo que recibe los dos aprendizajes contra el control que solo recibe el aprendizaje L2.

Para el análisis de curvas tarea verbal vs. predicción se utilizó el método de regresiones sucesivas descrito por Lozada y colaboradores (Lozada et al., 1990).

RESULTADOS

Parte I. Análisis de la memoria de la tarea verbal

En la primera parte de esta sección analizaremos los resultados correspondientes a la memoria de los pares de sílabas asociados.

Experimento 1. Interacción entre memorias en el momento de la evocación

En esta serie de experimentos trabajamos con dos memorias declarativas (denominadas L1 y L2) que comparten claves contextuales y de procedimiento. Con el fin de determinar las posibles interacciones durante la evocación de estas memorias (L1 y L2)

realizamos un experimento en el cual los sujetos recibieron el entrenamiento-L1 en el día 1, el entrenamiento-L2 en el día 2 y fueron evaluados en el día 3 para L1 seguido por L2 [grupo NR(A)] y otro grupo de sujetos evaluado en el sentido inverso, es decir, primero para L2 seguido por L1 [grupo NR(B)]. Simultáneamente se realizaron dos grupos control. El grupo control-L1 [CTL1(NR)] recibió en el día 1 el entrenamiento-L1 y fue evaluado en el día 3. El grupo control-L2 [CTL2(NR)] recibió el entrenamiento-L2 y fue evaluado a las 24 horas (Figura 7A). Estos grupos controles al ser entrenados y evaluados para una sola memoria permitieron contrastar el efecto de haber recibido en el día 2 otra tarea.

La Figura 7B muestra la performance durante el entrenamiento de L1 y L2. El ANOVA de medidas repetidas indica que no hay interacción $F(16,216)=0,641$ $p=0,847$ y que no se observan diferencias significativas entre los grupos para L1 $F(27,2)=0,177$ $p=0,838$ (Figura 7B.1) ni para L2, interacción no significativa $F_{int}(16,216)=0,338$ $p=0,113$, diferencia entre grupos no significativa $F(2,27)=2,366$ $p=0,113$ (Figura 7B.2). Tampoco se observan diferencias en el porcentaje de respuestas correctas en los últimos cuatro ensayos del entrenamiento, ANOVA $F(2,27)=0,011$ $p=0,989$; $F(2,27)=1,441$ $p=0,254$ (*inset* Figuras 7B.1 y 7B.2, respectivamente). Recordemos que estos últimos porcentajes son los utilizados para determinar si un sujeto es incorporado o no al análisis de datos, siendo el criterio de inclusión un porcentaje de respuestas correctas mayor o igual al %70.

Esta similitud en el nivel de aprendizaje nos garantiza que cualquier diferencia encontrada en la sesión de evaluación se deba exclusivamente al tratamiento presentado en el día 2.

Los resultados de la Figura 7C muestran la media del número de errores en la evaluación de los grupos NR(A), NR(B), CTL1(NR) y CTL2(NR). El análisis de varianza muestra una diferencia significativa entre los grupos, $F(5,54)=10,546$ $p<0,001$. Si concentramos el análisis en la fase 1 de la evaluación de los grupos NR(A) y NR(B), vemos que el grupo NR(A) la L1 muestra un número de errores significativamente mayor que el control CTL1(NR) (lista 1, barras rojas) $p<0,001$, mientras que el grupo NR(B) la L2 no muestra diferencias significativas con su respectivo control, $p=0,516$ (lista 2, barras azules).

El alto número de errores en L1 para el grupo NR(A), podría explicarse por una interferencia simultánea en la evocación debido a que las memorias son similares y por lo tanto al evocar la memoria-L1 se reclutan simultáneamente ítems de la memoria-L2, perjudicando así la evocación de L1 (interferencia simultánea en la evocación; McGeoch, 1932). Por otro lado, el bajo número de errores en la evocación de L2 en fase 1 [grupo NR(B)] evidencia la ausencia de interferencia simultánea en la dirección opuesta. Esta desigualdad podría explicarse por una diferencia entre la fuerza de las memorias, debido a que L1 fue adquirida 48 horas antes de la evaluación y L2 24 horas antes, siendo así L2 una memoria más fuerte (Ebbinghaus, 1885; Wixted & Ebbesen, 1997). Por lo tanto, la memoria más fuerte (L2) interfiere simultáneamente con la evocación de la memoria más débil (L1) y no en el sentido inverso.

Sin embargo, el alto número de errores en L1 del grupo NR(A) podría deberse a que en el día 2 la memoria-L1 no se encontraba consolidada, por lo tanto el entrenamiento-L2 pudo haber interferido su consolidación.

Para descartar esta explicación alternativa, concentramos el análisis en la memoria-L2, observando que al ser evaluada en fase 1 [grupo NR(B)] los sujetos cometen pocos errores, no significativos con respecto al grupo control CTL2(NR), $p=0,516$. Sin embargo, al ser evaluada en fase 2 [grupo NR(A)], la media del número de errores totales es significativamente mayor que el control CTL2(NR), $p<0,001$. Esta diferencia estaría indicando que la primera evocación (L1) influencia negativamente la expresión de la segunda memoria (L2), un fenómeno conocido como olvido inducido por evocación (RIF, *retrieval induced forgetting*; Anderson, 1994). Dado que este efecto depende de la integridad de la memoria evocada en primer lugar, resulta indicativo de una memoria-L1 intacta. Sin embargo, la expresión de L1 se encuentra perjudicada debido a una interferencia simultánea con L2. A esta altura del análisis, cabe destacar que se ha demostrado que para que se produzca el efecto RIF, es fundamental que la memoria se encuentre intacta, y se observa igualmente si la performance de la memoria que es evocada en primer lugar es mala (Storm et al., 2006). Por lo tanto, concluimos que el entrenamiento-L2 24 horas luego de entrenamiento-L1 no perjudica la consolidación del mismo.

El análisis está basado en que la evocación de la memoria-L1 en fase 1 sufre interferencia simultánea dado que evoca ítems de la memoria-L2 y en que la evocación de L1 en fase 1 interfiere con la inmediata expresión de la memoria-L2 por efecto RIF.

Por otra parte, el alto número de errores para L1 del grupo NR(B) ($p<0,001$) también sería consecuencia del efecto RIF, pero en este caso debido a que inmediatamente antes se evocó la memoria-L2.

Experimento 2. Interferencia en la consolidación de la memoria.

Para facilitar la lectura de la presente Tesis, dado que las curvas de entrenamiento de todos los experimentos que a continuación se detallan son similares a la Figura 7B, y ya que todos los análisis muestran uniformidad en los entrenamientos, tanto las figuras como la estadística de los mismos se encuentran en el Apéndice (del 2 al 5).

En el experimento anterior vimos que ambas memorias (L1 y L2) se encontraban intactas en el día 3 a nivel del almacenaje. Por el hecho de compartir claves (secuencia de presentación de estímulos, cuarto experimental, experimentador) interactúan en la evocación afectando su expresión, de manera tal que al evaluar L1 en fase 1 encontramos un alto número de errores debido a una interferencia simultánea, y al evaluar L2 en Fase 2 (grupo A) también encontramos una mala performance ahora debido a que inmediatamente antes se evocó una memoria similar (efecto RIF).

Por lo tanto, si afectáramos la memoria blanco a nivel del almacenaje, la evaluación de la misma mostraría un alto número de errores en fase 1, y fundamentalmente al no encontrarse intacta no produciría interferencia sobre la memoria que evoquemos en segundo término, evidenciándose así la ausencia del efecto RIF.

Una forma de afectar a la memoria blanco es presentar un segundo aprendizaje durante el período de consolidación de la memoria blanco (Walker et al., 2003). Así, para evaluar el efecto de presentar el entrenamiento-L2 en la ventana temporal de la consolidación de L1, los sujetos recibieron en el día 1 el entrenamiento-L1 y a los 5 minutos recibieron el entrenamiento-L2. Finalmente, en el día 3 un grupo fue evaluado para L1 seguido de L2 [grupo Con(A)] y otro grupo con L2 seguido de L1 [grupo Con(B)].

Los grupos control-L1 [CTL1(Con)] y control-L2 [CTL2(Con)] recibieron el entrenamiento en el día 1 y fueron evaluados en el día 3 (para L1 y L2 respectivamente, Figura 8A).

Los grupos alcanzaron un mismo nivel de aprendizaje tanto para L1, como para L2 (Figura 1, Apéndice 2). Al analizar la sesión de evaluación en el día 3, se observa una diferencia significativa entre las evocaciones, ANOVA $F(5,54)=11,544$ $p<0,001$. Al observar el grupo Con(A) de la Figura 8B, vemos que los sujetos cometen un número de errores significativamente mayor para L1 comparado con el control CTL1(Con) $p=0,002$, y un bajo número de errores para L2, $p=0,323$. La mala performance para L1 puede deberse a que se interrumpió la consolidación de la memoria de L1 con el segundo aprendizaje y/o una evocación simultánea de información relacionada. De acuerdo al método de análisis propuesto, para ver cuál de estas posibles explicaciones es la más acertada habría que observar qué le ocurre a la expresión de la memoria-L2. Lo que observamos es que al evocar L2 en fase 2 [grupo Con(A)] los sujetos cometen el mismo número de errores que el grupo control CTL2(Con), $p=0,323$.

Este hecho estaría indicando que L1 se encuentra perjudicada a nivel del almacenaje, por lo tanto al evocar L2 en fase 2 no se ve afectada su expresión por la previa evocación de L1, es decir, no hay efecto RIF. Así, este método propuesto muestra que la ausencia de RIF (bajo número de errores en L2 fase 2, grupos A) y no solo la falla en la evocación de L1, es indicativa de que la memoria-L1 se encuentra perjudicada.

El análisis del grupo Con(B), muestra el mismo perfil que el encontrado en el grupo NR(B) experimento anterior, un bajo número de errores para L2 en fase 1 ($p=0,710$) y un

alto número de errores para L1 en fase 2 ($p=0,008$). Sin embargo en este caso, el alto número de errores en L1 se debe a que la memoria-L1 se encontraba perjudicada.

Finalmente, el entrenamiento-L2 presentado 5 minutos después del entrenamiento-L1 perjudicaría la consolidación de la memoria-L1.

Experimento 3. Interferencia en la reconsolidación de la memoria

El propósito del siguiente experimento fue evaluar la existencia de reconsolidación en esta memoria. Los sujetos recibieron el entrenamiento-L1 en el día 1, en el día 2 recibieron el entrenamiento-L2 cinco minutos después de haber recibido un recordatorio de la memoria-L1. El recordatorio estuvo formado por la presentación del contexto correcto, los sujetos debían responder a través de las teclas de expectativa (SI-NO) si consideraban que ese era el contexto asociado a la lista, y a continuación se presentaba una sílaba-clave por 2 segundos e inmediatamente el ensayo era interrumpido sin permitirles a los sujetos completar con la correspondiente sílaba-respuesta. Finalmente, fueron evaluados en el día 3 para las dos memorias [grupos R(A) y R(B)]. El grupo control CTL1(R) recibió el entrenamiento-L1 en el día 1 el recordatorio en el día 2 y fue evaluado en el día 3. El grupo control CTL2(R) recibió el entrenamiento-L2 y fue evaluado a las 24 horas (Figura 9A).

Los grupos alcanzaron un mismo nivel de aprendizaje tanto para L1 como para L2 (Figura 2, Apéndice 2). Sin embargo, se observa una diferencia significativa entre las evocaciones en el día 3, ANOVA $F(5,54)=5,091$ $p<0,001$. El análisis de los datos del grupo R(A) muestra un alto y significativo número de errores para L1 ($p<0,001$) y un bajo número

de errores para L2, $p=0,255$ (Figura 9B). La ausencia de RIF estaría indicando que la memoria-L1 se encuentra perjudicada. Por lo tanto, el recordatorio presentado en el día 2 desencadenaría efectivamente la labilización de memoria-L1, desestabilizándola y haciéndola así vulnerable a la acción de agentes amnésicos. En este caso el entrenamiento-L2 presentado en el período en el cual la memoria-L1 se encuentra labilizada estaría interrumpiendo su reestabilización, actuando así como un agente amnésico.

Por otro lado, los resultados del grupo R(B), repiten aquellos obtenidos por todos los grupos B a lo largo de los experimentos de este Capítulo: bajos errores para L2 en fase 1 ($p=0,568$) y un alto número de errores para L1 en fase 2 ($p<0,001$) (Figura 9B).

Experimentos 4 y 5. Ventana temporal de la reconsolidación.

En estas dos series de experimentos se evaluó el efecto del segundo entrenamiento en la reestabilización de la memoria blanco a distintos tiempos luego de la presentación del recordatorio.

El protocolo de los experimentos 4 y 5 fue igual al experimento 3, con la diferencia de que el entrenamiento-L2 se presentó a las 6 y a las 10 horas luego de la exposición al recordatorio, respectivamente.

Los entrenamientos-L1 y L2 para el experimento 4 como para el 5 muestran uniformidad en la performance (Figuras 3 y 4, Apéndice 2). Al analizar la performance en la sesión de evaluación del experimento 4, se observan diferencias significativas entre las evocaciones $F(5,54)=13,038$ $p<0,001$. Al observar la Figura 10 vemos que los sujetos

comenten muchos errores para L1 en fase 1, $p=0,002$ y pocos errores en la evocación de L2 en fase 2, $p=0,214$ [grupo R6(A)].

Al analizar la performance en la sesión de evaluación del experimento en el cual el segundo aprendizaje fue adquirido 10 horas después de la presentación del recordatorio (experimento 5) se observaron diferencias significativas entre las evocaciones $F(5,54)=10,254$ $p<0,001$. A su vez, se observó que el grupo R10(A) cometió un alto número de errores para L1 en fase 1 ($p<0,001$) así como para L2 en fase 2 (efecto RIF), $p=0,004$ (Figura 11).

Estos resultados estarían indicando que a las 6 horas, luego de la presentación del recordatorio, la ventana de la reconsolidación aún permanece abierta. Por lo tanto, el entrenamiento-L2 interrumpe la reestabilización de la memoria-L1. Sin embargo, a las 10 horas de presentado el recordatorio, la memoria-L1 ya se encuentra reconsolidada. Por lo tanto, el entrenamiento-L2 no interfiere con la reestabilización de la misma.

Por otro lado, los resultados del grupo R6(B) y R10(B) muestran bajos errores para L2 en fase 1 ($p=0,532$ y $p=0,556$ respectivamente) y un alto número de errores para L1 en fase 2 ($p=0,010$ y $p=0,006$) (Figuras 10B y 11B).

Experimentos 6 y 7. ¿Interferencia en la reconsolidación o facilitación de la extinción?

Una crítica que surge desde los primeros trabajos en reconsolidación es que dado que la estructura del recordatorio recuerda a un ensayo de extinción, la administración de

un agente amnésico no estaría interfiriendo la reestabilización sino que aceleraría el proceso de extinción (Duvarci & Nader, 2004).

La extinción se expresa como un decaimiento en la respuesta condicionada, consecuencia de la presentación del estímulo condicionado (EC) sin el refuerzo. Se considera a la extinción como un aprendizaje activo que difiere del original, en el cual el EC ya no predice la aparición del estímulo incondicionado (EI) (Myers & Davis, 2002; Bouton, 2004). Sin embargo, con el paso del tiempo el viejo aprendizaje puede resurgir. A este fenómeno se lo denomina recuperación espontánea, y representa una de las herramientas diagnósticas de la memoria de extinción (Rescorla, 2004).

Así, para corroborar que efectivamente estábamos afectando la reestabilización de la memoria y no acelerando la extinción de la misma, evaluamos el efecto de la recuperación espontánea.

Los experimentos 6 y 7 fueron similares a los experimentos 1 y 3 con la diferencia de que se evaluó la performance a las 48 horas del segundo entrenamiento.

Dado que en los experimentos anteriores las diferencias entre los grupos se observaron específicamente en los grupos A, solo se evaluó en este caso L1 en fase 1 y L2 en fase 2 (grupos NR48 y R48).

Si el recordatorio extinguiera la memoria y el entrenamiento-L2 la facilitara, se observaría el mismo perfil de resultados en ambos experimentos: un alto número de errores tanto en L1 como en L2. En la memoria-L1 del grupo NR48, debido a una interferencia simultánea en la evocación, y en la memoria-L2 debido al efecto RIF. Ahora, si en el día 4 se produjera la recuperación espontánea de L1 en el grupo R48, se observaría

un alto número de errores en L1 debido a una interferencia simultánea, y en la memoria-L2 también se observaría un alto número de errores ya que la memoria-L1 se encontraría intacta.

Al analizar los resultados de ambos experimentos, se encontró uniformidad en los entrenamientos para L1 y L2 (Figuras 4 y 5, Apéndice 2). En los resultados del experimento 6 se observan tanto diferencias significativas en la sesión de evaluación de L1 como en la de L2, $F(3,36)=10.355$ $p<0,001$; LSD $p<0,001$ para L1 y $p=0,002$ para L2 (Figura 12). Sin embargo, al analizar los resultados del experimento 7 (Figura 13) se observan diferencias en la media del totales de errores para L1, pero no se observa efecto RIF sobre memoria-L2, $F(3,36)=3,869$ $p=0,017$; LSD $p<0,001$ para L1 y $p=0,153$ para L2.

Estos resultados indicarían que el recordatorio está labilizando la memoria blanco en lugar de extinguirla, de manera que aún a las 48 horas de presentado el recordatorio e interrumpida la reestabilización, la memoria blanco muestra déficit. Una interpretación alternativa es que el intervalo de 48 horas no es suficiente para observar recuperación espontánea. Sin embargo, en el Capítulo V se demuestra que efectivamente el recordatorio no desencadena la extinción.

Parte II. Análisis de la memoria de predicción

Durante el entrenamiento los sujetos aprendieron a identificar el contexto específico que acompañaba a la lista de sílabas. El aprendizaje de predicción se evaluó a

través de las teclas de expectativa (SI-NO) tanto en los ensayos correctos como en los falsos. En la Figura 14 se contrasta el aprendizaje de predicción con el de las sílabas tomando como ejemplo al grupo A del primer experimento de esta sección. Un análisis de regresión sucesivo muestra que tanto la asíntota como la pendiente son diferentes entre ambos aprendizajes (asíntota alcanzada en el ensayo: 8 y 21, respectivamente; pendiente: -12.867 y -4.898, respectivamente). Los sujetos aprendieron rápidamente a predecir la aparición de la tarea verbal, y ese aprendizaje no se vio afectado en ningún grupo de ningún experimento aún cuando se utilizó un segundo aprendizaje como agente amnésico (no muestran errores durante la sesión de evaluación).

DISCUSIÓN

El hallazgo más importante de este Capítulo es la demostración, en humanos, de que memorias declarativas pueden retornar a un estado de vulnerabilidad luego de la presentación de un recordatorio. Este fenómeno de labilización-reestabilización fue evidenciado a través del uso de un agente amnésico en el momento en que la memoria era susceptible. El agente de interferencia, en este caso, fue un segundo aprendizaje de características similares al primero. Este procedimiento retoma la idea original de Müller y Pilzecker de interferir con otras tareas, hecho que es de suma importancia en el trabajo con humanos ya que no utilizamos ningún agente invasivo (Müller & Pilzecker, 1900).

Como citamos anteriormente, esta fase se estudió en diferentes especies animales y diferentes tipos de memoria (Anokhin et al., 2002; Eisenberg et al., 2003; Pedreira & Maldonado, 2003; Sangha et al., 2003). El único antecedente de reconsolidación en humanos fue en memorias motoras (Walker et al., 2003), pero nunca antes se había demostrado en memorias declarativas. La existencia de esta fase, en este tipo de memoria apoya la universalidad de este proceso, que es consistente con la idea general de que muchos principios de la organización de las memorias, así como componentes básicos de los mecanismos que las subyacen, surgieron a través de la evolución en animales muy diferentes (Carew, 2000; Pedreira & Maldonado, 2003).

Para analizar cómo el recordatorio dispara la reconsolidación de la memoria hay que estudiar por separado que le ocurrió a la memoria de predicción y a la tarea verbal. El recordatorio estuvo formado por la presentación del contexto correcto (luz roja + Fotografía de Nueva York + Jazz), inmediatamente después aparecía una sílaba-clave en el lado izquierdo del monitor y el espacio en blanco correspondiente, a la derecha para que los sujetos completasen. Dos segundos después aparecía un mensaje en el monitor notificando que hubo un error y la sesión debía ser interrumpida. Este hecho no permitía a los sujetos completar con la correspondiente sílaba-respuesta. Es decir, el recordatorio incluye la presentación de una sílaba-clave y la terminación del mismo sin la aparición de la correspondiente sílaba-respuesta. La memoria evocada por la sílaba-clave implica una expectativa, donde el refuerzo estaría dado por la sílaba-respuesta. De esta manera el recordatorio marca el desacuerdo definitivo entre lo que el sujeto espera y lo que realmente ocurre (Pedreira et al., 2004). En nuestro laboratorio denominamos a este

hecho como un episodio de frustración o de discordancia. Si bien estos resultados y otros realizados en modelos animales (Pedreira et al., 2002; Debiec & LeDoux, 2004; Suzuki et al., 2004) muestran la importancia de que un evento inesperado ocurra (la no aparición del refuerzo), cabe mencionar que varios estudios observaron el fenómeno de reconsolidación aún en presencia del estímulo incondicionado en el recordatorio (Duvarci & Nader, 2004; Eisenberg & Dudai, 2004).

En el caso de la memoria de predicción (contexto asociado a la tarea verbal) nunca resultó perjudicada por el segundo entrenamiento. El nivel de memoria de predicción se estableció determinando el número de respuestas incorrectas al presionar las teclas de expectativa (SI-NO). En las curvas de aprendizaje se observa cómo el número de errores cae abruptamente y los sujetos no muestran errores a partir del ensayo 7 (Figura 14). En la sesión de evaluación los voluntarios tuvieron alrededor del 100% de respuestas correctas.

En ninguno de los experimentos se logró interferir a la memoria de predicción. Una explicación posible estaría dada por el alto número de ensayos recibidos durante el entrenamiento (32 ensayos de la tarea de predicción) que implicaría un sobreentrenamiento en esta tarea, y/o por la baja complejidad en la misma (asociación entre estímulos congruentes: luz roja, imagen de Nueva York y música de jazz) haciendo a la memoria de predicción una memoria fuerte, posiblemente difícil de labilizar.

Una explicación alternativa, al menos en el caso de la reconsolidación, puede explicarse por la hipótesis que guía este proceso: el refuerzo no debe ser presentado durante el recordatorio (Pedreira et al., 2004). De acuerdo al protocolo experimental, el recordatorio culminó luego de 2 segundos de la presentación de la sílaba-clave. De

manera que para la tarea verbal el refuerzo no fue presentado, es decir, los sujetos esperaban poder completar la sílaba-respuesta y el programa se interrumpió antes de que pudieran hacerlo, desencadenándose así la labilización-reestabilización. Mientras que para la memoria de predicción se cumplió la expectativa del sujeto, es decir, los sujetos esperaban que apareciera la lista de sílabas luego del contexto correcto y esto fue lo que efectivamente sucedió. De manera que el recordatorio falló en producir la labilización de la memoria.

En cuanto al método innovador propuesto en este Capítulo para determinar amnesia, en los experimentos en donde se perjudica la consolidación o reconsolidación de la memoria, el efecto amnésico no se demuestra solo por una mala performance en la memoria blanco, sino que es evidenciado por la mala evocación de la memoria relacionada. De manera que la ausencia de RIF demuestra ser un buen indicador de que la memoria-L1 se encontraba perjudicada. Este estudio que muestra los déficits en la memoria a través de su interacción con otras memorias, apoyaría la hipótesis de que las memorias no son almacenadas unas independientemente de las otras sino integradas en complejas redes de asociación (Levy & Anderson, 2002; Berman et al., 2003; Debiec et al., 2006).

En el momento en que estos resultados fueron publicados, salió a la luz otro artículo en el cual estudian reconsolidación de memorias declarativas en humanos (Hupbach et al., 2007). En el mismo trabajan con dos listas de palabras en lugar de pares de sílabas sin sentido. El protocolo planteado por Almut Hupbach y colaboradores comparte ciertas

características con el aquí utilizado. En el día 1, en el cuarto experimental 1, el experimentador muestra a los voluntarios 20 objetos que deben memorizar, estos se encuentran en una canasta azul. En el día 2, en el cuarto 1, el experimentador presenta la canasta a los sujetos y les indica que recuerden que hicieron el día anterior con ella. Los sujetos comienzan a verbalizar lo ocurrido y son interrumpidos por el experimentador si mencionan alguna de las palabras aprendidas. Y luego el mismo experimentador, en el mismo cuarto, les muestra otra lista de 20 objetos que deben aprender. A otro grupo en el día 2, no le muestran la canasta azul, que actuaría como recordatorio, pero aprende la nueva lista de objetos en otro cuarto, con otro experimentador. En el día 3, en el cuarto 1, con el experimentador del primer día, ambos grupos deben evocar libremente las palabras que recuerdan de la lista 1. Lo que observan es que los grupos tienen el mismo número de respuestas correctas pero en el caso del grupo que recibe el recordatorio (canasta azul) hay un mayor número de intrusiones de la lista 2 en la lista 1. Ellos llegan a la conclusión de que la reconsolidación es un proceso constructivo que involucra la incorporación de nueva información.

Frente a esta conclusión tenemos ciertas observaciones. En primer lugar, no queda demostrado que el diseño experimental permita evaluar el fenómeno de reconsolidación. En relación con esta observación uno de los primeros puntos a demostrar es si la canasta azul es eficiente en producir la labilización de la memoria de la lista 1. Así, la mayor crítica al diseño es que la presencia o no del recordatorio no es la única diferencia entre los grupos. Por el contrario, como hemos visto, además del recordatorio, los grupos difieren en el cuarto experimental en que reciben la segunda tarea y en el experimentador que la

imparte. Consideremos el esquema de la Figura 15, el grupo recordatorio realiza todas las tareas en el mismo cuarto experimental con el mismo experimentador. Este hecho hace que las dos listas compartan más elementos contextuales en el grupo recordatorio que en el grupo no-recordatorio. Por lo tanto, en el día 3 el cuarto experimental y el experimentador están ligados tanto a la tarea 1 como a la tarea 2, de modo que las intrusiones observadas pueden explicarse por una interferencia simultánea de información relacionada. Esto no ocurre en el grupo no-recordatorio ya que la tarea ligada al contexto del día 3 solo es la lista 1. De manera que la canasta azul no es la única diferencia entre los grupos, por lo tanto su eficiencia en desencadenar la reconsolidación puede ser puesta en duda. Además, teniendo en cuenta la posible interferencia simultánea durante la evocación, la evaluación de la lista 2 en fase 2 es un resultado relevante omitido en este trabajo.

Es intuitivo pensar que si uno incorpora efectivamente información dentro de una memoria preexistente, en el momento de querer evocar conscientemente una parte de la misma (en este caso las palabras del día 1), uno debería poder hacerlo satisfactoriamente. La falencia en el protocolo de Hupbach y colaboradores, los lleva a una conclusión que parece ser, según nuestro criterio, desventajosa adaptativamente. En estos experimentos parecería que se origina una confusión entre listas más que un proceso constructivo como ellos lo denominan. Por lo tanto, es más apropiado considerar que el fenómeno que están observando se debe a una interacción durante la sesión de evaluación entre memorias distintas que comparten claves.

Capítulo IV

Estructura del recordatorio

Los resultados de este Capítulo se encuentran publicados en:

Forcato C., Argibay P. F., Pedreira M. E. & Maldonado H. (2009). Human Reconsolidation does not always occur when a memory is retrieved: The Relevance of the Reminder Structure. *Neurobiology of Learning and Memory*. 91:50-57. (Maldonado H. y Pedreira M. E. contribuyeron de igual manera en este trabajo).

INTRODUCCIÓN

Vimos que una manera de definir a la reconsolidación es como el proceso en el cual la evocación de una memoria previamente consolidada, retorna a un estado lábil que luego es seguido por un proceso de reestabilización (Morris et al., 2006). La definición operativa generalmente incluye la demostración de la interrupción del fenómeno a través del uso de agentes amnésicos como inhibidores de la síntesis proteica, bloqueantes β -adrenérgicos o nuevos aprendizajes (Misanin et al., 1968; Nader et al., 2000a; Boccia et al., 2005). De esta definición podría interpretarse que cualquier evocación produce la labilización de la memoria y su consecuente reestabilización. Sin embargo, en nuestro laboratorio, en el modelo de memoria contextual en el cangrejo *Chasmagnathus granulatus* vimos que cambios en algunas de las condiciones paramétricas del recordatorio pueden evitar que se desencadene la fase de reconsolidación (Pedreira & Maldonado, 2003; Pedreira et al., 2004).

Una definición sencilla del recordatorio sería la de un evento que comienza con la presentación del contexto de entrenamiento o del estímulo condicionado (EC) y dispara la fase de reconsolidación. Basados en los resultados obtenidos previamente en el cangrejo *Chasmagnathus granulatus*, consideramos tres condiciones que definen la especificidad en la estructura del recordatorio: la **extensión del recordatorio** tiene que ser la adecuada para producir reconsolidación y no la extinción de la memoria (Pedreira & Maldonado, 2003; Eisenberg & Dudai, 2004); el **recordatorio debe tener un final**, es decir el recordatorio no puede producir la labilización de la memoria sin la terminación del EC

(Pedreira et al., 2004); el **recordatorio no debe incluir el refuerzo**, de manera que durante la evocación existe un desacuerdo entre lo que los animales esperan y lo que realmente ocurre. A esta condición del recordatorio la denominamos **componente de la discordancia** (*Mismatching component*, Pedreira et al., 2004; Morris et al., 2006) y será estudiada en este Capítulo.

Por lo tanto, basados en las condiciones anteriormente planteadas, para determinar si nos encontramos frente al fenómeno de reconsolidación es necesario evaluar la presencia de dos características diagnósticas del proceso: **la reactivación de la memoria y la especificidad en la estructura del recordatorio**. Para evidenciar la primera, se utilizan agentes amnésicos que interrumpan la fase de restablecimiento de la información; y para evidenciar la segunda se modifican las condiciones paramétricas del recordatorio, de manera que el agente amnésico deje de tener efecto sobre la memoria.

Además de evaluar las características diagnósticas de la reconsolidación de la memoria verbal, habiendo obtenido resultados negativos en cuanto a la tarea de predicción complejizamos esta tarea para ver si era posible labilizarla e interferirla.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sujetos experimentales. 208 voluntarios estudiantes y graduados de la Universidad de Buenos Aires participaron de los experimentos. Antes de su participación firmaron el consentimiento informado, aprobado por el Comité de Ética para Protocolos de Investigación (CEPI) Hospital Italiano de Buenos Aires. 52 voluntarios (25%) fueron excluidos del análisis debido a: que escribieron en un papel y estudiaron la lista de sílabas, no estuvieron atentos cuando se presentó el recordatorio clave en el día 2 y no vieron la sílaba-clave o no llegaron a criterio, que en este Capítulo fue de 65% de respuestas correctas en los últimos 4 ensayos del entrenamiento (13/20 respuestas correctas).

Sus edades oscilaban entre 18 a 35 años con una media de 25 (32% hombres, 68% mujeres). Cada participante fue asignado a uno de 12 grupos.

Procedimiento. El procedimiento es igual al explicado en materiales y métodos del Capítulo II, con algunas diferencias. La primera es que para complejizar la tarea de predicción se utilizaron estímulos contextuales más parecidos entre sí. Para el entrenamiento-L1, dos luces eran presentadas, una azul y otra verde; tres posibles imágenes de una cascada, y 3 posibles melodías de tango. En el entrenamiento-L2, había 2 posibles luces, una roja y otra naranja; tres posibles imágenes de un bosque; y tres posibles músicas clásicas. Otra diferencia fue el tiempo de presentación de los diferentes estímulos. La luz, imagen y música eran presentadas por 6 segundos, a los 3 segundos de

contexto los sujetos debían responder si consideraban que la lista iba a aparecer o no y luego se presentaba el período de sílabas (Figura 16).

El entrenamiento tuvo una duración de 15 minutos y la sesión de evaluación de 7 minutos.

Al programa se le incorporó la posibilidad de registrar las respuestas emitidas durante el entrenamiento y la sesión de evaluación y así pudieron identificarse cuatro tipos de error:

- a) **en blanco:** cuando los sujetos no escriben ningún triplete, escriben solo una letra o dos letras;
- b) **confusiones:** cuando escriben un triplete que no pertenece a ninguna de las listas;
- c) **intraalista:** cuando escriben una sílaba-respuesta que corresponde a otra sílaba-clave de la misma lista;
- d) **intrusiones:** cuando escriben una sílaba-respuesta que corresponde a una sílaba-clave de la otra lista.

Método para determinar amnesia: Para evaluar la amnesia utilizamos el método indirecto desarrollado en el Capítulo III, basado en que las memorias no están almacenadas unas independientemente de las otras, sino en redes de asociación. De esta manera utilizamos al olvido inducido por evocación (RIF, Anderson et al., 1994) como herramienta específica para evaluar el efecto amnésico de la memoria de interés. La presencia de RIF en la memoria relacionada (L2) indicaría que la memoria blanco (L1) se encuentra intacta, mientras que la ausencia de RIF indicaría que la memoria-L1 se encuentra perjudicada.

Tipos de recordatorio

Se utilizaron tres tipos de recordatorio (Figura 17):

Recordatorio clave (R_c): estuvo formado por la presentación del contexto, los sujetos respondían, a través de las teclas de expectativa (SI-NO) si consideraban o no que ese contexto era el que se asociaba a la lista, luego aparecía una sílaba-clave y el cartel indicando que la sesión había sido interrumpida sin permitir a los sujetos completar con la correspondiente sílaba-respuesta (Figura 17A). Este recordatorio es el mismo que se utilizó en el Capítulo III, pero a partir de aquí lo llamaremos recordatorio clave dado que en su estructura aparece una sílaba-clave; para diferenciarlo de los otros recordatorios utilizados a partir de aquí.

Recordatorio Contexto (R_{ctx}): estuvo formado por la presentación del contexto específico, los sujetos respondían, a través de las teclas de expectativa (Si-NO) si consideraban o no que ese contexto era el que se asociaba a la lista y el ensayo se interrumpía antes de la aparición de la sílaba-clave (Figura 17B). Su nombre se debe a que es un recordatorio formado solo por el contexto correcto.

Recordatorio clave-respuesta (R_{c-r}): estuvo formado por la presentación del contexto, los sujetos respondían, a través de las teclas de expectativa (SI-NO) si consideraban o no que ese contexto era el que se asociaba a la lista. Luego aparecía una sílaba-clave, se les permitía a los sujetos completar con la correspondiente sílaba-respuesta y aparecía el

cartel indicando que la sesión había sido interrumpida (Figura 17C). Su nombre se debe a que es un recordatorio que posee en su estructura una sílaba-clave y se permite a los sujetos completar con la correspondiente sílaba-respuesta.

Grupos experimentales

1) Corroboración de la primera característica diagnóstica de la reconsolidación

Experimento 1. (n=13)

Grupo no-recordatorio, NR(A). Los sujetos recibieron el entrenamiento-L1 en el día 1, el entrenamiento-L2 en el día 2 y fueron evaluados en el día 3 primero para L1 y después para L2.

Grupo control L1, CTL1(NR). Los sujetos fueron entrenados con L1 en el día 1 y evaluados en el día 3.

Grupo control L2, CTL2(NR). Los sujetos fueron entrenados con L2 y evaluados a las 24 horas.

Experimento 2. (n=13)

Grupo recordatorio clave (R_c). Los sujetos recibieron el entrenamiento-L1 en el día 1, en el día 2 recibieron el recordatorio clave y a los 5 minutos el entrenamiento-L2 y fueron evaluados en el día 3 primero para L1 y después para L2.

Grupo control L1, CTL1(R_c). Los sujetos fueron entrenados con L1 en el día 1, en el día 2 recibieron el recordatorio clave y fueron evaluados en el día 3.

Grupo control L2, CTL2(R_c). Fueron entrenados con L2 y evaluados a las 24 horas.

2) Segunda característica diagnóstica de la reconsolidación

Experimento 3. (n=13)

Grupo recordatorio contexto (R_{ctx}). Los sujetos recibieron el entrenamiento-L1 en el día 1, en el día 2 recibieron el recordatorio contexto y a los 5 minutos el entrenamiento-L2 y fueron evaluados en el día 3 primero para L1 y después para L2.

Grupo control L1, CTL1(R_{ctx}). Los sujetos fueron entrenados con L1 en el día 1, en el día 2 recibieron el recordatorio contexto y fueron evaluados en el día 3.

Grupo control L2, CTL2(R_{ctx}). Los sujetos fueron entrenados con L2 y evaluados a las 24 horas.

Experimento 4. (n=13)

Grupo recordatorio clave-respuesta (R_{c-r}). Los sujetos recibieron el entrenamiento-L1 en el día 1, en el día 2 recibieron el recordatorio clave-respuesta y a los 5 minutos el entrenamiento-L2 y fueron evaluados en el día 3 primero para L1 y después para L2.

Grupo control L1, CTL1(R_{c-r}). Los sujetos fueron entrenados con L1 en el día 1, en el día 2 recibieron el recordatorio clave-respuesta y fueron evaluados en el día 3.

Grupo control L2, CTL2(R_{c-r}). Los sujetos fueron entrenados con L2 y evaluados a las 24 horas.

RESULTADOS

Condiciones paramétricas de la estructura del recordatorio

Corroboración de la primera característica diagnóstica de la reconsolidación de la memoria: La labilización de la memoria

Dado que, que se complejizó el entrenamiento al incorporar estímulos contextuales parecidos entre sí, se debió corroborar que la memoria-L1 bajo estas modificaciones en el protocolo también atravesaba la fase de reconsolidación. Así se estudió, la primera característica diagnóstica del proceso: la labilización de la memoria. Como en el Capítulo III, la amnesia en la memoria blanco se observó específicamente analizando a los grupos A, en este Capítulo solo se evaluó la memoria-L1 en fase 1 y la memoria-L2 en fase 2. Cabe aclarar que los resultados serán presentados con un formato diferente destacando la comparación entre la evaluación del grupo principal y sus controles para cada lista (L1 y L2).

Se realizaron dos experimentos con un grupo principal y dos controles cada uno. El **experimento 1** incluyó el grupo no-recordatorio (NR), los grupos control CTL1(NR) y CTL2(NR). El grupo NR recibió en el día 1 el entrenamiento-L1, en el día 2 el entrenamiento-L2 y fue evaluado para las dos memorias en el día 3. El grupo control CTL1(NR) fue entrenado en el día 1 con el entrenamiento-L1 y evaluado en el día 3. El control-CTL2(NR), recibió el entrenamiento-L2 y fue evaluado a las 24 horas.

El **experimento 2** estuvo formado por los grupos recordatorio clave (R_c), control CTL1(R_c) y CTL2(R_c). El grupo recordatorio clave, recibió los mismos tratamientos que el NR pero con la diferencia de que en el día 2 se le presentó el recordatorio clave. El mismo estuvo formado por la presentación del contexto específico seguido por una sílaba-clave sin permitir a los sujetos responder con la correspondiente sílaba-respuesta. Los grupos control fueron iguales a los del experimento 1, con la diferencia de que el control-CTL1(R_c) recibió el recordatorio clave en el día 2.

Si bien se complejizó la tarea de predicción (imágenes, luces y músicas similares dentro de un mismo entrenamiento), los resultados fueron iguales a los obtenidos en el Capítulo III. Por un lado, no se observaron diferencias significativas en los aprendizajes de L1 ni L2 para los distintos grupos (Figura 1, Apéndice 3). Por otro lado, analizando la performance en el día 3 (Figura 18), el alto y significativo número de errores para L1 del grupo NR comparado con su control, puede explicarse por una interferencia simultánea en la evocación ya que al evocar L1 se reclutan ítems de la memoria-L2 y éstos interfieren en la expresión de L1. También se observa un alto número de errores para L2, indicando la presencia del efecto RIF, $F(3,48)=8,245$ $p<0,001$; LSD L1: $p=0,006$ L2: $p<0,001$. Estos resultados indicarían que la memoria-L1 se encuentra intacta a nivel del almacenaje.

Tampoco se observaron diferencias significativas en el aprendizaje entre el grupo recordatorio clave en L1 y L2 y sus respectivos controles (Figura 2, Apéndice 3). La Figura 19 muestra un bajo número de errores para L2 en el grupo recordatorio clave, lo que estaría indicando ausencia de RIF, por lo tanto la reestabilización de la memoria-L1 sería

interferida por el segundo aprendizaje, $F(3,48)=4,605$ $p=0,007$; LSD L1: $p=0,003$ L2: $p=0,161$.

Estos resultados corroborarían la primera característica diagnóstica de la reconsolidación para las nuevas condiciones experimentales: **la labilización de la memoria**. Los resultados sobre la memoria de predicción serán explicados más adelante.

Segunda característica diagnóstica de la reconsolidación de la memoria: La especificidad del recordatorio

Para determinar si el recordatorio que desencadenaba la reconsolidación debía tener una estructura específica o si cualquier evocador podía disparar la labilización de la memoria, se realizaron dos experimentos en los cuales se modificó al ensayo que actuaba como recordatorio. El **experimento 3** estuvo formado por el grupo recordatorio contexto (R_{ctx}) y los controles CTL1(R_{ctx}) y CTL2(R_{ctx}). El grupo recordatorio contexto fue igual al grupo recordatorio con la diferencia que en el día 2 recibió el **recordatorio contexto**, el que estuvo formado por la presentación del contexto específico y al terminar el mismo se interrumpía la sesión. El **experimento 4** estuvo formado por el grupo recordatorio clave-respuesta (R_{c-r}) y los controles CTL1(R_{c-r}) y CTL2(R_{c-r}). El grupo R_{c-r} recibió en el día 2 otra variante del recordatorio: el **recordatorio clave-respuesta**, que consistió en la presentación del contexto específico seguido por una sílaba-clave y se permitió a los sujetos completar con la correspondiente sílaba-respuesta, luego el ensayo era interrumpido.

Se observó uniformidad en los entrenamientos-L1 y L2 para los distintos grupos (Figuras 3 y 4, Apéndice 3). En las Figuras 20 y 21 se observa una diferencia significativa en el número de errores de L1 para el grupo R_{ctx} y R_{c-r} respectivamente, lo mismo ocurre al observar la performance de L2, en donde se ve un alto y significativo número de errores para ambos grupos con respecto a sus controles [para R_{ctx} ANOVA: $F(3,48)=10,577$ $p<0,001$; LSD L1: $p<0,001$ L2: $p=0,004$. Para R_{c-r} : $F(3,48)=9,900$ $p<0,001$; LSD L1: $p<0,001$ L2: $p=0,038$].

Estos resultados estarían indicando la presencia del efecto RIF, es decir, en el momento de evocar L2 como previamente evocaron la memoria-L1 hay un olvido inducido por evocación, lo que se ve reflejado por un alto número de errores en L2.

Por lo tanto, presentar solo el contexto específico como recordatorio en el día 2 no es suficiente para desencadenar la reconsolidación de la memoria verbal. Mientras que si se agrega a la estructura del recordatorio una sílaba-clave sin permitir a los sujetos completar con la correspondiente sílaba-respuesta, se desencadena la labilización de la memoria-L1. Pero si a los sujetos se les permite completar con la correspondiente sílaba-respuesta, la memoria blanco no se labiliza quedando protegida de la acción de agentes amnésicos.

Tipos de error en sílabas

Como vimos en la discusión del Capítulo III, Hupbach y colaboradores propusieron a la reconsolidación como un fenómeno constructivo, arribando a esta conclusión a partir de tener en cuenta que los sujetos que recibieron el recordatorio antes del segundo aprendizaje mostraron en la sesión de evaluación un incremento en el número de intrusiones de la lista-2 en la lista-1 (Hupbach et al., 2007). Teniendo en cuenta sus resultados, si la reconsolidación involucra solo la incorporación de nueva información en la memoria preexistente, sin dañarla, uno esperaría encontrar un mayor número de intrusiones de la lista-2 en la lista-1 para el grupo que recibe recordatorio y una segunda tarea.

En los experimentos de este Capítulo introdujimos una modificación en el programa de estimulación permitiendo el registro de las sílabas que escriben los participantes durante el transcurso del entrenamiento y la sesión de evaluación. Pudimos detectar cuatro tipos de error: **en blanco**, cuando los sujetos no escriben nada; **intraalista**, cuando escriben una sílaba-respuesta en otra sílaba-clave de la misma lista; **confusión**, cuando escriben un triplete inexistente; **intrusión**, cuando escriben una sílaba-respuesta de la otra lista.

A diferencia de lo que encontraron Hupbach y colaboradores, no se hallaron diferencias entre los grupos NR, R_C, R_{CTX} y R_{C-F} en cuanto al tipo de error cometido durante la sesión de evaluación para L1 (Figura 22A) y L2 (Figura 22B) (ANOVA L1: $p_{\text{blanco}}=0,151$;

$p_{\text{intraalista}}=0,848$; $p_{\text{confusión}}=0,488$; $p_{\text{intrusión}}=0,068$. L2: $p_{\text{blanco}}=0,057$; $p_{\text{intraalista}}=0,098$;
 $p_{\text{confusión}}=0,552$; $p_{\text{intrusión}}=0,303$).

Memoria de Predicción

En cuanto a la memoria de predicción si bien intentamos complejizarla añadiendo a la tarea un mayor número de estímulos similares (2 luces, 3 fotografías parecidas, y 3 melodías similares), nunca se logró perjudicarla. Los sujetos experimentales una vez que aprendían a predecir la aparición de la tarea verbal no cometían errores de predicción en la sesión de evaluación independientemente del grupo al cual fueron asignados.

DISCUSIÓN

Los resultados de este Capítulo muestran que nuestro paradigma cumple con las características diagnósticas de la reconsolidación: **la labilización de la memoria y la especificidad del recordatorio.**

Una pregunta importante, que ya habíamos planteado desde el punto de vista adaptativo es si cada vez que una memoria es evocada atraviesa la fase de reconsolidación. En otras palabras, ¿es ventajoso que la memoria atraviese un período de

fragilidad en el cual podría ser interferida? Este hecho pondría en riesgo nuestras memorias, pudiendo perderse la información previamente consolidada.

Es intuitivo pensar que no siempre que uno evoca una memoria la está labilizando. Nuestros resultados demuestran que no todo evocador desencadena el fenómeno de reconsolidación, por el contrario, el recordatorio necesita tener una estructura determinada para permitir que se dispare dicho proceso. Vimos que solo se labiliza la memoria de la tarea verbal si se presenta como recordatorio al contexto seguido por la aparición de una sílaba-clave (grupo R_c). Si omitimos la sílaba-clave como componente del recordatorio (grupo R_{ctx}) o permitimos a los sujetos completar con la correspondiente sílaba-respuesta (grupo R_{c-r}), la tarea verbal no es labilizada. En nuestro Laboratorio, utilizando como modelo animal al cangrejo *Chasmagnathus granulatus* hemos observado que al exponerlo 5 minutos al contexto de entrenamiento se dispara la reconsolidación de la memoria aversiva. Mientras que, si luego de la reexposición se le presenta una pantalla negra (estímulo visual de peligro), este proceso no se dispara. Es decir, solo se desencadena la reconsolidación cuando el animal espera que aparezca la pantalla y la pantalla no aparece. A este no cumplimiento de la expectativa del animal nosotros lo denominamos **componente de la discordancia** (o frustración) y es una condición paramétrica necesaria para producir la labilización-reestabilización de la memoria (Pedreira et al., 2004). En el paradigma de memoria declarativa, el hecho de completar con una sílaba-respuesta sería análogo a la presentación de la pantalla en el cangrejo. Por lo tanto, en ambos modelos vemos que es importante que no se cumpla la expectativa del sujeto para desencadenar el proceso.

Richard Morris y colaboradores arribaron a resultados similares utilizando una tarea de memoria espacial en ratas (Morris et al., 2006). Trabajaron con dos versiones del paradigma del laberinto de agua, para analizar el efecto de inyectar anisomicina en el hipocampo luego de presentar un recordatorio. En ambos casos, los animales eran liberados en un contenedor lleno agua, con una plataforma oculta que los animales debían encontrar. El entrenamiento se llevó a cabo en varios días consecutivos. En una versión del paradigma, la plataforma se encontraba siempre en un mismo sitio, llegando los animales a una asíntota en la curva de aprendizaje. Mientras que en la otra versión, la plataforma era ubicada en distinta posición cada día. Observaron que solo se interfería la memoria de la tarea espacial cuando se utilizaba el paradigma que incluía un cambio diario en la ubicación de la plataforma, sugiriendo que el fenómeno de reconsolidación ocurría solo cuando el animal era confrontado con una novedad espacial (o discordancia), es decir, cuando los animales esperaban encontrar la plataforma en un lugar determinado y la plataforma no aparecía, produciendo así, la exploración y la actualización de la representación cognitiva de la plataforma.

Cabe señalar que el proceso de labilización-reestabilización también se observa cuando el recordatorio está formado por el estímulo condicionado (o contexto de aprendizaje) más el refuerzo (Duvarci & Nader, 2004).

En la discusión del Capítulo III vimos que el grupo de Lynn Nadel estudia el fenómeno de reconsolidación en memorias declarativas en humanos (Hupbach et al., 2007). Ellos sugieren que la reconsolidación es un fenómeno constructivo que involucra la

incorporación de nueva información, y que este hecho es evidenciado por un aumento del número de intrusiones en la memoria blanco. En esta serie de experimentos pudimos ver como el segundo aprendizaje interfiere en la reestabilización del primero y al analizar el tipo de error no se observaron intrusiones de una lista en otra en ningunos de los grupos experimentales (Figura 22A.4), mientras que la mayoría son errores en blanco (Figura 22A.1). Esta discrepancia podría deberse a la diferencia que existe entre los paradigmas (asociación entre pares de sílabas sin sentido vs. objetos conocidos) o a una interferencia simultánea en la evocación, como discutimos en el Capítulo III.

En cuanto a la tarea de predicción, aún complejizando el aprendizaje al utilizar estímulos parecidos vimos que no se logró interferir a la memoria. Posiblemente este tipo de memoria sea muy fuerte debido a un sobreentrenamiento y a la sencillez de la tarea propuesta ya que es una simple asociación entre estímulos. La combinación de estos hechos explicaría porque esta memoria no puede ser reactivada con los métodos aquí utilizados.

Capítulo V

Reforzamiento de la memoria por sucesivas reactivaciones

Los resultados de este Capítulo se encuentran enviados para su publicación:
Forcato C., Rodríguez M. L. C. & Pedreira M. E. (2011). Strengthening human declarative memory by successive reactivations. (enviado para su publicación)

INTRODUCCIÓN

Teniendo en cuenta que las memorias luego de consolidadas pueden atravesar un período de vulnerabilidad inducida por la presentación de un recordatorio, la pregunta que surge es *¿cuál sería entonces el posible rol funcional de la reconsolidación?* Para responder a esta pregunta fueron planteadas dos hipótesis no mutuamente excluyentes. Una de ellas propone que el proceso de reconsolidación aumentaría la fuerza de la memoria original, y la otra sugiere que la desestabilización de la memoria original luego del recordatorio permite la integración de nueva información en la memoria original, proceso denominado actualización de la memoria (Bailey et al., 1996; Sara, 2000b; Sara & Hars, 2006; Alberini, 2007).

Ambas hipótesis ofrecen un rol crucial para este proceso, la reconsolidación no sería una reestabilización automática producida luego de la evocación, sino un proceso especial que representa la oportunidad de modificar adaptativamente la información almacenada.

Un único trabajo estudia el rol del reforzamiento de la memoria en la reconsolidación (Lee, 2008). En éste, utiliza un paradigma de miedo contextual, en el cual los animales son entrenados en el día 1 con un único ensayo para asociar un contexto a un choque eléctrico. Al día siguiente se les presenta un segundo ensayo de entrenamiento y finalmente son evaluados en el tercer día. Resultados anteriores demostraron, en un paradigma similar, que el segundo ensayo de entrenamiento (día 2) induce la reconsolidación de la memoria adquirida en el día 1 (Duvarci & Nader, 2004). Jonathan Lee, encontró que un segundo ensayo de entrenamiento reforzaba a una memoria de

miedo contextual consolidada pero solo si la memoria se encontraba desestabilizada. Más aún, demostró una doble disociación entre mecanismos moleculares al inicio de la consolidación (primer ensayo) que dependía del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF)², y el fortalecimiento por el ensayo posterior que dependía de zif268³. Asimismo, observó que previniendo la desestabilización se mantenía invariable la fuerza de la memoria original.

En este Capítulo estudiaremos el efecto que tiene sobre una memoria consolidada reactivar con sucesivos recordatorios poniendo a prueba la primera hipótesis planteada, y en el siguiente Capítulo estudiaremos la segunda hipótesis planteada, la actualización de la información.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sujetos experimentales. 184 voluntarios estudiantes y graduados de la Universidad de Buenos Aires participaron de los experimentos. Antes de su participación firmaron el consentimiento informado, aprobado por el Comité de Ética de la Sociedad Argentina de Investigaciones Clínicas (SAIC). 31 voluntarios (17%) fueron excluidos del análisis debido a

² **Factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF, Brain-derived neurotrophic factor).** BDNF es la neurotrofina que tiene mayor expresión en el cerebro de los mamíferos, de manera particular en la corteza cerebral y el hipocampo (Duman et al., 2001). Las neurotrofinas desempeñan un papel crítico en el desarrollo del cerebro y continúan ejerciendo su acción de manera importante en la plasticidad del sistema nervioso maduro (Thoenen, 1995). Asimismo, son requeridas para la neurogénesis, el mantenimiento de la función neuronal y la integridad estructural de las neuronas (Duman et al., 2001; Duman, 2002).

³ **Zif268.** Es un factor de transcripción de mamíferos originalmente descubierto en ratón. Los genes que activa son requeridos para diferenciación y mitogénesis. Está involucrado en neuroplasticidad (Knapska & Kaczmarek, 2004).

que escribieron en un papel y estudiaron la lista de sílabas, no vieron al recordatorio en el día 2 por no estar atentos cuando se presentó o no llegaron al criterio de 60% de respuestas correctas en los últimos 4 ensayos del entrenamiento (14/20 respuestas correctas). Sus edades oscilaban entre 18 a 35 años con una media de 24 (35% hombres, 65% mujeres). Cada participante fue asignado a uno de 14 grupos.

Procedimiento. Los experimentos de este Capítulo se realizaron en el Laboratorio de Neurobiología de la Memoria, IFIByNE-CONICET, FCEN-UBA.

Protocolo Experimental. En su forma más básica, los experimentos se realizaron en 3 días consecutivos. Los mismos consistieron en una sesión de entrenamiento (día 1), sesión de reexposición (día 2) y una sesión de evaluación (día 3).

Entrenamiento-L1. En estos experimentos se utilizó el mismo entrenamiento al utilizado en los experimentos del Capítulo IV (ensayos: Figura 16, lista-L1: Figura 6C).

Tipos de recordatorio

Recordatorio clave (R_c). Igual al Capítulo IV, Figura 17A.

Recordatorio clave-respuesta (R_{c-r}). Igual al Capítulo IV, Figura 17C.

Recordatorio contexto (R_{ctx}). Igual al Capítulo IV, Figura 17B.

Sesión de evaluación (día 3). La sesión consistió en la presentación de dos ensayos correctos entremezclados con 7 ensayos falsos, con un intervalo entre ensayos de 4 segundos.

Grupos experimentales. Los sujetos fueron distribuidos al azar en doce grupos experimentales.

Experimento 1. Efecto de sucesivas reactivaciones sobre una memoria consolidada

(n=13)

Grupo R_c. En el primer día los sujetos recibieron el entrenamiento-L1, en el día 2 recibieron el recordatorio clave de la memoria-L1 y fueron evaluados en el día 3.

Grupo R_cx2. El protocolo fue igual al grupo R_c, con la diferencia de que en el día 2 recibieron 2 recordatorios clave separados por un intervalo de 5 minutos.

Grupo R_cx4. El protocolo fue igual al grupo R_c, con la diferencia de que en el día 2 recibieron 4 recordatorios clave separados por intervalos de 5 minutos.

Experimento 1 Adicional. (n=10)

Grupo NR. En el primer día los sujetos recibieron el entrenamiento-L1 y fueron evaluados en el día 3.

Grupo R_c. En el primer día los sujetos recibieron el entrenamiento-L1, en el día 2 recibieron el recordatorio clave de la memoria-L1 y fueron evaluados en el día 3.

Experimento 2. Estudio sobre la dependencia de labilización para reforzar la memoria

(n=10)

Grupo R_c. En el primer día los sujetos recibieron el entrenamiento-L1, en el día 2 recibieron el recordatorio clave de la memoria-L1 y fueron evaluados en el día 3.

Grupo R_{c-r}x2. El protocolo fue igual al grupo R_cx2, con la diferencia de que los sujetos recibieron 2 recordatorios clave-respuesta.

Experimento 3. Evaluación a corto término (n=10)

Grupo R_c-CT. En el día 1 los sujetos recibieron el entrenamiento-L1, en el día 2 recibieron un recordatorio clave y fueron evaluados a los 5 minutos.

Grupo R_cx2-CT. El protocolo fue igual al grupo R_c-CT con la diferencia de que recibieron 2 recordatorios clave 5 minutos antes de ser evaluados.

Ventana temporal

Experimento 4. Ventana temporal (24 horas) (n=12)

Grupo R_c-d4. En el día 1 los sujetos fueron entrenados con L1, en el día 2 recibieron un recordatorio clave y en el día 4 fueron evaluados.

Grupo R_cx2-d4. El protocolo fue igual que el grupo R_c-d4 pero con la diferencia de que tanto el día 2 como el día 3 recibieron un recordatorio clave.

Experimento 5. Ventana temporal (2 horas) (n=10)

Grupo R_cx2. En el primer día los sujetos recibieron el entrenamiento-L1, en el día 2 recibieron el recordatorio clave de la memoria-L1 dos veces y fueron evaluados en el día 3.

Grupo R_cx2-2h. El protocolo fue igual al del grupo R_cx2 con la diferencia de que los recordatorios clave estuvieron separados por un intervalo de 2 horas.

Grupo R_cR_{ctx}. El protocolo fue similar al del grupo R_cx2-2h pero los sujetos recibieron el recordatorio clave (que labiliza la memoria) y a las dos horas recibieron el recordatorio contexto (que no la labiliza).

Estadística. *Performance en el entrenamiento.* La uniformidad en el entrenamiento fue analizado por ANOVA de medidas repetidas. *Sesión de evaluación.* Los resultados fueron presentados como media del número de errores totales. Fueron analizados por ANOVA de un factor, seguidos por comparaciones post-hoc LSD (FISHER, $\alpha = 0.05$).

RESULTADOS

Efecto de sucesivas reactivaciones sobre una memoria consolidada

Para evaluar la posibilidad de reforzar la memoria realizamos el **experimento 1**, de tres días. El mismo estuvo formado por tres grupos experimentales, donde todos los sujetos recibieron el entrenamiento-L1 en el día 1 y fueron evaluados en el día 3. La

diferencia entre los mismos estuvo dada por la cantidad de recordatorios clave recibida en el día 2 (Figura 23A). El **grupo recordatorio clave** recibió un único recordatorio que estuvo formado por la presentación del contexto correcto seguido por una sílaba-clave por 2 segundos y el ensayo fue interrumpido sin permitirles a los sujetos completar con la correspondiente sílaba-respuesta. El **grupo recordatorio clave x2** recibió dos recordatorios separados por un intervalo de 5 minutos. En este caso los sujetos salían del cuarto y volvían a ingresar cuando el experimentador les indicaba que se había solucionado el inconveniente. Al **grupo recordatorio clave x4** se le repitió este procedimiento cuatro veces. Cuando se analizaron los entrenamientos de estos tres grupos no se observaron diferencias significativas (Figura 1, Apéndice 4). La Figura 23B muestra la performance durante la sesión de evaluación para estos grupos. Como podemos observar se encontró un número significativamente menor de errores para los grupos que recibieron dos o cuatro recordatorios clave frente al grupo que recibió solo uno [ANOVA $F(2,36)=3,854$ $p=0,030$; LSD Rvs. $R_c \times 2$: $p=0,015$ Rvs. $R_c \times 4$: $p=0,032$ $R_c \times 2$ vs. $R_c \times 4$: $p=0,752$].

Al mismo tiempo se pudieron identificar y clasificar los tipos de error cometido por los sujetos frente a cada sílaba-clave. En esta clasificación distinguimos tres tipos de error: **en blanco**, cuando los sujetos no escriben ningún triplete, escriben solo una letra o dos letras; **intralista**, cuando escriben un triplete que corresponde a otra sílaba-clave; y **confusión**, cuando escriben un triplete que no pertenece a la lista. Al realizar un análisis detallado del tipo de error cometido no se evidenciaron diferencias significativas entre los grupos para los errores en blanco o de tipo intralista, ANOVA $F(2,36)=1,358$ $p=0,270$;

$F(2,36)=0,255$ $p=0,777$ (Figuras 23C.1 y 23C.2) pero si se observaron diferencias significativas para los errores de confusión, en donde los grupos $R_c \times 2$ y $R_c \times 4$ mostraron una mejor performance que el grupo R_c , ANOVA $F(2,36)=4,868$ $p=0,013$; LSD Rvs. $R_c \times 2$: $p=0,018$ Rvs. $R_c \times 4$: $p=0,007$ $R_c \times 2$ vs. $R_c \times 4$: $p=0,683$ (Figura 23C.3).

El resultado de este experimento sugiere que las sucesivas reactivaciones refuerzan la memoria-L1 previamente consolidada.

Cabe destacar que si bien en los Capítulos III y IV no se analizaron estadísticamente los errores cometidos por los grupos control no-recordatorio [CTL1(NR)] y control recordatorio clave [CTL1(R_c)] puede observarse que los mismos tienen una performance similar en el día 3 [ver grupo CTL1(NR), Figura 18B y grupo CTL1(R_c), Figura 19B]. Para confirmar estos resultados se realizó un experimento adicional con dos grupos. Los grupos recordatorio clave y no-recordatorio recibieron el mismo protocolo que el grupo R_c del experimento 1 de este Capítulo, con la diferencia de que el grupo no-recordatorio no recibió recordatorio en el día 2. Los resultados mostraron una notable similitud entre los grupos durante la evaluación validando así los resultados previos, ANOVA $F(1,18)=0,039$ $p=0,845$ (Figura 2, Apéndice 4).

Estudio sobre la dependencia de la labilización para reforzar la memoria

Para determinar si este fenómeno de fortalecimiento era dependiente de la labilización de la memoria original o era producto de su repetida evocación diseñamos el **experimento 2** con dos grupos, los cuales fueron entrenados para L1 en el día 1 y

evaluados en el día 3. La diferencia entre los mismos se encontraba en el tratamiento realizado en el día 2. El **grupo recordatorio clave** recibió un recordatorio clave en el día 2 y el **grupo recordatorio clave-respuesta x2** ($R_{c-r}x2$) recibió el recordatorio clave-respuesta que no dispara la reconsolidación, dos veces consecutivas, con un intervalo de 5 minutos entre los mismos (Figura 24A). No se observaron diferencias significativas en el aprendizaje (Figura 3, Apéndice 4) ni en la sesión de evaluación, $F(1,18)=0,462$ $p=0,505$ (Figura 24). Al estudiar el tipo de error tampoco se encontraron diferencias entre los errores en blanco, intralista o confusión, $F(1,18)=1,923$ $p=0,182$; $F(1,18)<0,001$ $p=1,000$; $F(1,18)=0,101$ $p=0,754$, respectivamente (Figura 24C). Estos resultados indicarían que el solo hecho de evocar la memoria dos veces consecutivas no produce el reforzamiento de la memoria, sino que se requiere de un recordatorio que labilice la memoria para producir el fortalecimiento.

Evaluación a corto término

Una manera comúnmente utilizada para estudiar si un agente interfiere en el proceso de reestabilización de la memoria, es demostrar que el efecto aparece solo a largo término y no cuando la memoria es evaluada a corto término, luego de la labilización, en el cual la memoria blanco se encuentra labilizada pero intacta (Nader et al., 2000b; Pedreira et al., 2002).

De esta manera para estudiar si el reforzamiento solo se observa cuando la memoria ya se encuentra reconsolidada se diseñó el **experimento 3**, formado por dos grupos

experimentales, en el cual la memoria es evaluada inmediatamente después de ser labilizada. Ambos grupos recibieron el entrenamiento-L1 en el día 1. En el día 2 el **grupo recordatorio clave-corto término** (R_c -CT) recibió el recordatorio clave y a los cinco minutos fue evaluado. El **grupo recordatorio x2-corto término** ($R_c \times 2$ -CT) recibió el recordatorio clave dos veces y a los cinco minutos fue evaluado (Figura 25A).

No se encontraron diferencias significativas en las curvas de aprendizaje ni en el porcentaje de respuestas correctas en los últimos cuatro ensayos (Figura 4, Apéndice 4).

Los grupos que recibieron uno o dos recordatorios clave cometieron un número similar de errores durante la sesión de evaluación, ANOVA $F(1,18)=0,207$ $p=0,654$ (Figura 25B). Tampoco se encontraron diferencias en los tipos de error en blanco, intralista y confusión, ANOVA $F(1,18)=0,269$ $p=0,610$; $F(1,18)=1,000$ $p=0,331$; $F(1,18)=4,235$ $p=0,054$ respectivamente (Figura 25C).

Así, este experimento demostraría que para observar el reforzamiento se requiere que la memoria-L1 se haya reconsolidado.

Ventana temporal

Hasta este punto, se demostró que el reforzamiento ocurre cuando se presentan al menos dos recordatorios clave sucesivos en la misma sesión. En la vida real, fuera de los experimentos diseñados en el laboratorio, es de esperar que las reactivaciones ocurran en distintos momentos y no necesariamente una seguida de otra.

Los siguientes dos experimentos (**experimentos 4 y 5**) estudian el efecto de reactivar en sesiones diferentes. En los mismos el segundo recordatorio fue dado fuera o

dentro de la ventana temporal de la reconsolidación (a 24 o 2 horas del primer recordatorio). Además, en el experimento en el que se presentó el segundo recordatorio dentro de la ventana temporal de la reconsolidación se diseñó un grupo en el que el segundo recordatorio solo evoca la memoria-L1 sin labilizarla. El **experimento 4** fue realizado en cuatro días consecutivos y estuvo formado por dos grupos experimentales. Ambos grupos recibieron el entrenamiento-L1 en el día 1, y fueron evaluados en el día 4 (Figura 26A). El **grupo recordatorio clave-d4** (R_c -d4) recibió un único recordatorio clave en el día 2, y el **grupo recordatorio clave x2-d4** recibió dos recordatorios clave en sesiones diferentes (un recordatorio en el día 2 y otro a las 24 horas). El **experimento 5**, de tres días, estuvo formado por 3 grupos experimentales (Figura 27A). En el día 1 los Grupos recibieron el entrenamiento-L1, en el día 2 el **grupo recordatorio clave x2** (R_c x2) recibió el recordatorio que labiliza la memoria dos veces; el **grupo recordatorio clave x2-2h** (R_c x2-2h) recibió dos recordatorios clave separados por un intervalo de 2 horas; y el **grupo recordatorio mixto-2h** (R_cR_{ctx} -2h) recibió el recordatorio que labiliza la memoria y a las dos horas el recordatorio contexto que solo evoca la memoria-L1.

En ambos experimentos los aprendizajes fueron similares y no se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de respuestas en los cuatro últimos ensayos del mismo (Figuras 5 y 6, Apéndice 4).

En el **experimento 4** no se encontraron diferencias entre los grupos durante la sesión de evaluación, ANOVA $F(1,22)=0,171$ $p=0,683$ (Figura 26B). Particularmente, no se encontraron diferencias al analizar el tipo de error en blanco, intralista y confusión,

ANOVA $F(1,22)=2,084$ $p=0,163$; $F(1,22)=0,821$ $p=0,375$; $F(1,22)=0,622$ $p=0,438$ (Figura 26C).

En el **experimento 5** se encontró una diferencia significativa entre grupos, siendo que los grupos $R_c \times 2$ y $R_c \times 2-2h$ cometen menos errores que el grupo $R_c R_{ctx}$, ANOVA $F(2,27)=4,500$ $p=0,021$; LSD $R_c \times 2$ vs. $R_c R_{ctx}-2h$: $p=0,018$ $R_c \times 2-2h$ vs. $R_c R_{ctx}-2h$: $p=0,013$ $R_c \times 2$ vs. $R_c \times 2-2h$: $p=0,876$ (Figura 27B). Al analizar el tipo de error, no se encontraron diferencias significativas en los errores en blanco ni intralista, ANOVA $F(2,27)=1,253$ $p=0,302$; $F(2,27)=0,643$ $p=0,534$ respectivamente (Figuras 27C.1 y 27C.2), pero se evidenciaron diferencias para el error de tipo confusión, siendo que los grupos $R_c \times 2$ y $R_c \times 2-2h$ cometen menos errores que el grupo $R_c R_{ctx}-2h$, ANOVA $F(2,27)=12,808$ $p=0,0001$; LSD $R_c \times 2$ vs. $R_c R_{ctx}-2h$: $p=0,0003$ $R_c \times 2-2h$ vs. $R_c R_{ctx}-2h$: $p=0,0001$ $R_c \times 2$ vs. $R_c \times 2-2h$: $p=0,681$ (Figura 27C.3). Estos resultados demostrarían que el reforzamiento de la memoria se produce con dos reactivaciones cuando la segunda ocurre en la ventana temporal de la primera. Por el contrario, si se presenta el segundo recordatorio cuando la memoria blanco se encuentra reconsolidada o cuando el segundo recordatorio no reactiva a la memoria, la memoria conserva su vigor original mostrando una performance similar a la producida por un grupo que recibe un solo recordatorio.

DISCUSIÓN

En este Capítulo revelamos una de las posibles funcionalidades del fenómeno de reconsolidación hipotetizado originalmente por Susan Sara, el reforzamiento de la memoria (Sara & Hars, 2006). Vimos que cuando la memoria es labilizada por la presentación del recordatorio y el fenómeno es otra vez desencadenado por la presentación de un segundo recordatorio dentro de la ventana temporal de la reconsolidación, los sujetos pueden mejorar su performance en la sesión de evaluación, revelando el hecho de que al menos dos reactivaciones refuerzan la memoria (Experimento 1, 4 y 5). Vimos que el fenómeno de reforzamiento es dependiente de la labilización ya que cuando presentamos dos recordatorios consecutivos que evocan la memoria sin labilizarla no se observa la mejora en la performance (Experimento 2). Asimismo, demostramos que es dependiente de la reestabilización ya que al evaluar a corto término no se observa el reforzamiento (Experimento 3).

En este punto cabe destacar que los errores de confusión encontrados en los grupos en los cuales la memoria no es reforzada, corresponden en su mayoría a escribir dos letras correctas y una letra incorrecta en el triplete (por ejemplo: **OBS** en lugar de OBN, **FIT** en lugar de FOT, **AID** en lugar de AIO, **FLE** en lugar de GLE, **UON** en lugar de UOD). En particular, el reforzamiento está dado porque los sujetos logran completar la tercera letra de forma correcta.

Rasch postula que la formación de memorias de largo término se basa en la reactivación y redistribución de las representaciones mnésicas adquiridas recientemente

desde almacenajes transientes a redes neuronales estables (Rasch & Born, 2007). El modelo estándar de consolidación de la memoria declarativa considera que los trazos de memorias adquiridas recientemente son gradualmente redistribuidos a regiones neocorticales a través del reforzamiento de las conexiones cortico-corticales, haciendo que las memorias sean progresivamente independientes del hipocampo (Marr, 1971; Frankland & Bontempi, 2005; Squire & Bayley, 2007).

Estudios en patrones de reactivación durante el sueño en humanos, muestran que las regiones cerebrales activadas durante el entrenamiento de memorias no-declarativas son activadas subsecuentemente durante la fase de REM (*rapid eyelid movement*) del sueño (Peigneux et al., 2003). Por otro lado, las tareas que implican un aprendizaje declarativo muestran una reactivación del hipocampo durante la fase de ondas lentas (SWS, Peigneux et al., 2004).

Rasch y colaboradores, utilizando un estímulo olfativo para reactivar una memoria declarativa durante el sueño, demostraron que los participantes que aprendían una tarea visuoespacial bajo la presencia de un olor, si eran luego reexpuestos al olor durante la subsecuente fase SWS mostraban una mejora en la performance de dicha tarea durante la evaluación. Estos resultados apoyan la hipótesis de que una vez que el olor es asociado como contexto de una tarea visuoespacial, la reexposición al olor durante la subsecuente fase SWS actúa como clave contextual que reactiva la nueva memoria desencadenando su consolidación (Rasch et al., 2007).

En este Capítulo se demuestra, por primera vez, que en estado de vigilia y guiado por repetidas reactivaciones una memoria declarativa consolidada puede ser reforzada.

Estos resultados son similares a los hallados por Rasch durante la consolidación. En sus experimentos, cuando presentaban el olor durante la fase SWS la memoria blanco aún no se encontraba consolidada, es decir en el momento de recibir el recordatorio la memoria se encontraba desestabilizada. En nuestro caso, para que se produzca reforzamiento, el segundo recordatorio también tiene que presentarse cuando la memoria se encuentra labilizada (Experimento 1 y 5), ya que si se presenta a las 24 horas (Experimento 4) cuando la L1 se encuentra reconsolidada, el fenómeno de reforzamiento no se observa.

Un análisis especulativo puede desprenderse de los resultados de este Capítulo, pudiendo atribuirse el fenómeno de reforzamiento a dos causas. Por un lado, la memoria podría reestabilizarse mejor debido a que la segunda reestabilización se suma a la reestabilización previa. Así, la activación repetida de los caminos moleculares llevarían a una mayor expresión de las macromoléculas necesarias recuperar la estabilidad de la memoria. Para poner a prueba esta hipótesis debería diseñarse un nuevo experimento utilizando un modelo animal para observar si el efecto de repetidas labilizaciones provoca un aumento en las modificaciones asociadas a los cambios plásticos. Por otro lado, el fenómeno de reforzamiento podría desencadenarse como producto de una mayor labilización. Sin embargo, los mecanismos que subyacen al proceso de labilización son poco entendidos (Alberini et al., 2006; Ben Mamou et al., 2006) siendo los receptores LVGCC o CBI y la degradación por poliubiquitinación de proteínas postsinápticas importantes en este proceso (Suzuki et al, 2008; Lee et al., 2008; Lee, 2009). Así, la relación entre estos caminos moleculares y el reforzamiento de la memoria no emerge

claramente, dejando abierta la posibilidad a una relación mecánica entre el reforzamiento y el proceso de labilización.

Capítulo VI

Incorporación de nueva información en la memoria reactivada

Los resultados de este Capítulo se encuentran publicados en:

Forcato C., Rodríguez M. L. C., Pedreira M.E. & Maldonado H. (2010). Human Reconsolidation opens up declarative memory to the entrance of new information. *Neurobiology of Learning and Memory*. 93(1):77-84. (Maldonado H. y Pedreira M. E. contribuyeron de igual manera en este trabajo).

INTRODUCCIÓN

Con la formulación de la hipótesis de la reconsolidación surgieron varias controversias, una de ellas debida al hecho de llevar a una memoria consolidada a un estado pasajero de vulnerabilidad en el cual dicha información correría riesgo de ser perjudicada como planteamos en el Capítulo V. Buscando un valor funcional, muchos autores propusieron que el recordatorio desencadena el proceso de reconsolidación permitiendo la integración de nueva información a la memoria preexistente. A este fenómeno se lo denominó actualización de la memoria (*memory updating*, Lewis, 1969; Sara, 2000a; Nader et al., 2000b). Otros autores sugirieron que la funcionalidad del proceso está relacionada con que las memorias necesitan constantemente ser reforzadas (Alberini, 2007). Algunos trabajos dejaron evidencia de la incorporación de nueva información luego de la reexposición al contexto de aprendizaje, siempre que los animales reactiven la memoria bajo circunstancias en las cuales sea probable que ocurra nuevo aprendizaje, por ejemplo en paradigmas en los cuales el aprendizaje no alcanza el nivel asintótico o en situaciones en donde el estado del contexto de aprendizaje pueda variar en el tiempo (Rodríguez-Ortiz et al., 2005; Morris et al., 2006), mientras que en otros casos no observaron dicha funcionalidad (Tronel et al., 2005).

En este Capítulo estudiamos la posibilidad de incorporar nueva información en memorias preexistentes utilizando nuevo material verbal y una orden por parte del experimentador que guíe la incorporación. Trabajamos con un protocolo similar al de los Capítulos anteriores y estudiamos el efecto de cambiar tanto las condiciones paramétricas

del recordatorio como el tipo de instrucción en el momento hipotetizado de incorporación de información.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sujetos experimentales. 158 voluntarios estudiantes y graduados de la Universidad de Buenos Aires participaron de los experimentos. 30 voluntarios (19%) fueron excluidos del análisis de datos ya que escribieron en un papel y estudiaron la lista de sílabas, no vieron al recordatorio en el día 2 por no estar atentos cuando se presentó o no llegaron al criterio de 65% de respuestas correctas en los últimos 4 ensayos del entrenamiento (13/20 respuestas correctas). Antes de su participación firmaron el consentimiento informado, aprobado por el Comité de Ética de la Sociedad Argentina de Investigaciones Clínicas (SAIC). Sus edades oscilaron entre 20 a 35 años con una media de 25 (35% hombres, 65% mujeres). Cada participante fue asignado a uno de 12 grupos.

Procedimiento. Los experimentos de este Capítulo se realizaron en el Laboratorio de Neurobiología de la Memoria, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires.

Protocolo Experimental. Los experimentos se realizaron en 3 días consecutivos. Los mismos consistieron en una sesión de entrenamiento (día 1), sesión de tratamiento (día 2) y una sesión de evaluación (día 3).

Entrenamiento-L1. Cada ensayo estuvo formado, al igual que en los Capítulos anteriores por un período de contexto seguido por un período de sílabas. En este caso no presentamos contextos falsos, por el contrario un único contexto se presentaba y siempre asociado a la lista de sílabas. El contexto estuvo formado por la presentación de una luz roja por 2 segundos, seguido por la misma luz más la imagen de un bosque por 2 segundos más, seguido por la misma luz, imagen y música clásica por 4 segundos más y los tres estímulos permanecían durante la presentación de la lista. El período de presentación de sílabas es igual que en los experimentos de los Capítulos anteriores. Un ensayo completo tuvo una duración de 53 segundos (8 segundos de contexto solo y 45 segundos de contexto y lista) (Figura 28A.1).

El entrenamiento estuvo formado por la presentación de 10 ensayos, con intervalos entre ensayos de 4 segundos. Se trabajó con la misma lista (L1) que en los experimentos anteriores (Figura 28A.2). Todos los grupos experimentales recibieron el mismo entrenamiento. El entrenamiento duró 10 minutos.

Tipos de recordatorio

Recordatorio clave (R_c): Al igual que en los otros Capítulos el recordatorio clave estuvo formado por la presentación del contexto correcto, en este caso, 2 segundos de luz roja,

más 2 segundos de luz e imagen de un bosque, más 4 segundos de luz, imagen y música clásica. Luego aparecía una sílaba-clave por 2 segundos y el ensayo era interrumpido sin permitirles a los sujetos completar con la correspondiente sílaba-respuesta (Figura 28B.1)

Recordatorio clave-respuesta (R_{c-r}): Contexto correcto seguido por la presentación de una sílaba-clave, y el ensayo se interrumpía a los 5 segundos permitiéndoles completar a los voluntarios con la correspondiente sílaba-respuesta.

Tipos de instrucción verbal

Instrucción: “Ahora, vas a incorporar tres nuevos pares de sílabas a la tarea que aprendiste ayer. Los pares de sílabas van a presentarse solo una vez. Vos solo vas a tener que leer lo que aparece en la pantalla. No vas a tener que escribir nada (Figura 28 B.1).”

No-instrucción: “Ahora, vas a leer tres nuevos pares de sílabas. Los pares de sílabas van a presentarse solo una vez. Vos solo vas a tener que leer lo que aparece en la pantalla. No vas a tener que escribir nada.”

Información a incorporar

INFO: el ensayo-INFO seguía inmediatamente a la instrucción verbal y consistía en una única presentación en la cual los sujetos debían leer tres nuevos pares de sílabas. La presentación de estos pares fue más breve que en el aprendizaje original. El ensayo incluía un primer período de presentación del contexto correcto (2 segundos luz, 2 segundos

luz+imagen, 4 segundos luz+imagen+música) seguido por la presentación de una nueva sílaba-clave por 5 segundos y luego se autocompletaba con su correspondiente sílaba-respuesta por 3 segundos. Inmediatamente después aparecía otra sílaba-clave. El proceso se repetía hasta la aparición de los 3 pares de sílabas (Figura 28B.1). Los pares de sílabas fueron **OEN-SRO**, **TIU-PLA**, **KEC-CLO**. El ensayo tuvo una duración de 32 segundos (Figura 28B.2). El propósito de diseñar un ensayo de corta duración, que solo implicase la lectura de los nuevos pares de sílabas fue la de generar un aprendizaje débil, para que el mismo no actuase como agente amnésico bloqueando la reconsolidación de la memoria-L1.

Sesión de evaluación (día 3). Para los grupos principales, la sesión consistió en dos ensayos separados por un intervalo de 4 segundos. Cada ensayo estuvo formado por el contexto seguido por la lista de ocho pares de sílabas (cinco pares correspondientes a la L1 y 3 pares a la INFO) en orden aleatorio (Figuras 28C.1 y C.2). Para los grupos controles, la sesión consistió en la presentación de 5 pares de sílabas (lista-L1 solamente). Se evaluaron solo dos ensayos para ver la retención en el primero y el efecto del reentrenamiento en el segundo. La sesión de evaluación duró 3 minutos.

Grupos experimentales. Los sujetos fueron distribuidos al azar en doce grupos. Primero se realizó un experimento con cuatro grupos principales y luego se realizaron 4 experimentos cada uno con un grupo principal y su respectivo control.

Grupos principales:

Grupo recordatorio clave (R_c). En el día 1 recibieron el entrenamiento-L1, en el día 2 el recordatorio clave seguido por la Instrucción de incorporar los nuevos pares y a continuación la lista-INFO. Fueron evaluados en el día 3 para los 8 pares de sílabas (5 pares originales + 3 pares nuevos) presentados aleatoriamente.

Grupo no-recordatorio (NR). El protocolo fue similar al Grupo R_c con diferencia de que en el día 2 no recibieron recordatorio.

Grupo recordatorio clave-respuesta (R_{c-r}). El protocolo fue similar al grupo R_c con diferencia de que en el día 2 recibieron el recordatorio clave-respuesta.

Grupo no-instrucción (NI). El protocolo fue similar al grupo R_c con diferencia de que en el día 2 se les dio a los sujetos la instrucción de “leer” los pares de sílabas en lugar de “incorporar”.

Grupos controles:

Control-recordatorio clave (CTLR $_c$). Recibió en el día 1 el entrenamiento-L1, en el día 2 el recordatorio clave y en el día 3 fue evaluado para la lista-L1.

Control-no-recordatorio (CTLNR). El protocolo fue igual al grupo principal NR con la diferencia de que en el día 3 se evaluó solo la lista-L1.

Control-recordatorio clave-respuesta (CTLR $_{c-r}$). El protocolo fue igual al del grupo principal R_{c-r} con la diferencia de que en el día 3 se evaluó solo la lista-L1.

Control-no-instrucción (CTLNI). El protocolo fue similar al grupo principal NI con la diferencia de que en el día 3 se evaluó solo la lista-L1.

Estadística. *Performance en el entrenamiento.* La uniformidad en el entrenamiento fue analizada por ANOVA de medidas repetidas. El número total de errores en los últimos 4 ensayos fue analizado con ANOVA de un factor. *Performance en la sesión de evaluación.* Los resultados fueron reportados como porcentaje de errores por ensayo (1 y 2) para L1 e INFO. Fueron analizados por ANOVA de un factor, seguidos por comparaciones no-planeadas LSD (FISHER, $\alpha = 0.05$) entre grupos principales y entre grupos principales y controles.

RESULTADOS

Para evaluar la posibilidad de incorporar nueva información en una memoria preexistente se diseñó un experimento de tres días. En el primero los sujetos aprendieron la lista de sílabas-L1. En el día 2 recibieron el tratamiento (presencia o no de recordatorio, presencia o no de instrucción verbal) y recibieron la información a incorporar (INFO). Finalmente, en el día 3 se evaluó la memoria para los ocho pares de sílabas.

Se diseñaron cuatro grupos principales y sus respectivos controles. Los grupos principales estuvieron formados por el grupo **recordatorio clave (R_c)**, **no-recordatorio (NR)**, **recordatorio clave-respuesta (R_{c-r})** y **no-instrucción (NI)**. Los mismos se diferenciaron en el tratamiento recibido en el día 2 (Figura 29A). El grupo R_c recibió el recordatorio que desencadena la reconsolidación, seguido por la instrucción de incorporar

los pares de sílabas y a continuación se presentaron los nuevos pares (lista-INFO). El grupo NR recibió la instrucción de incorporar la nueva información seguida por la presentación de la lista-INFO. El grupo R_{c-r} recibió el recordatorio clave-respuesta que evoca la memoria sin labilizarla, la instrucción de incorporar los nuevos pares seguida de la lista-INFO. Finalmente, el grupo NI recibió el recordatorio clave, a continuación se instruyó a los sujetos a que solo leyeran los nuevos pares y se les presentó la lista-INFO (Figura 29A). Los grupos mostraron uniformidad en el entrenamiento (Figura 1, Apéndice 5).

Performance en el día 3

Se analizó el porcentaje de errores cometidos durante la sesión de evaluación para las sílabas nuevas (INFO) y las originales (L1) separadamente, obteniéndose un perfil diferente entre éstas para los ensayos 1 y 2 (Figura 29). Se puede observar que el grupo R_c cometió significativamente menos errores que los grupos NR, R_{c-r} y NI en las sílabas-INFO en el primer ensayo, ANOVA $F(3,44)=4,377$ $p=0,009$; LSD: $p=0,005$ $p=0,012$ $p=0,002$ respectivamente (Figura 29B.1). Sin embargo, en el segundo ensayo la disminución en el porcentaje de errores no llegó a ser significativa, ANOVA $F(3,44)=2,025$ $p=0,124$ (Figura 29B.2). Al observar la Figura 29B.1 puede llamar la atención el elevado número de errores encontrado en los distintos grupos. Hay que recordar que el diseño de este ensayo-INFO tuvo el propósito a generar un aprendizaje débil para que no interfiriese con la reconsolidación de la memoria-L1.

Por otro lado, al analizar las sílabas-L1 no se encontraron diferencias significativas entre los grupos en el primer ensayo, ANOVA $F(3,44)=1,401$ $p=0,254$ (Figura 29C.1),

mientras que en el segundo ensayo se observó una disminución significativa en el porcentaje de errores del grupo R_c comparado con los grupos NR, R_{c-r} y NI, $F(3,44)=3,644$ $p=0,020$; LSD $p=0,005$ $p=0,014$ $p=0,014$ respectivamente (Figura 29D).

Dado que el diseño experimental establece una relación temporal entre el momento de la labilización y la presentación de los nuevos tripletes, el ensayo-INFO presentado luego de la exposición al recordatorio clave podría actuar como interferente de la reestabilización (como lo hizo el entrenamiento-L2 en el Capítulo III y IV). Para corroborar que efectivamente el ensayo-INFO no interfería con la reconsolidación de la memoria-L1 realizamos un experimento con dos grupos. Un grupo repitió el protocolo del grupo recordatorio clave y otro fue entrenado con L1 el día 1, en el día 2 solo recibió el recordatorio clave y fue evaluado para L1 en el día 3 (grupo control- R_c). No se observaron diferencias significativas en ninguno de los dos ensayos, lo cual indicaría que el ensayo-INFO no afectó la reestabilización de la memoria-L1, ANOVA ensayo 1 $F(1,18)=0,108$ $p=0,745$; ensayo 2 $F(1,18)=0,477$ $p=0,498$ (Figura 30A). A su vez estos dos grupos partieron de un mismo nivel de aprendizaje (Apéndice 5).

Otra explicación posible para el alto número de errores en las sílabas-L1 para los grupos NR, R_{c-r} y NI podría deberse al hecho de que al evaluar simultáneamente ocho pares de sílabas se incrementa la dificultad de la tarea afectando la performance de L1, o a que se produzca una interferencia simultánea entre las memorias (L1 e INFO) ya que las mismas comparten claves (misma luz, imagen, música y forma de presentar las sílabas).

Para determinar la causa del alto porcentaje de errores observado en L1 en estos grupos se realizaron 3 experimentos, formados cada uno por un grupo principal y su respectivo control. Los grupos controles no-recordatorio, recordatorio clave-respuesta y recordatorio no-instrucción recibieron en el día 1 el entrenamiento-L1, la lista-INFO en el día 2 y fueron evaluados para L1 en el día 3. Se diferenciaron en el tratamiento que recibieron en el día 2, antes de la presentación de la INFO. El control no-recordatorio recibió solo la instrucción de incorporar la nueva información seguido de la INFO en el día 2; el control recordatorio clave-respuesta recibió el recordatorio que evoca la memoria sin labilizarla, la instrucción verbal y la INFO; el control recordatorio no-instrucción recibió el recordatorio clave, pero no se dio la orden de incorporar la información, se los instruyó a leer los pares de sílabas que se presentaran, y luego recibieron la INFO.

Las Figuras 30B, C y D muestran que no se encontraron diferencias durante la sesión de evaluación entre los grupos principales y sus respectivos controles tanto para el primer como segundo ensayo, ANOVA grupo NR ensayo 1: $F(1,18)=1,029$ $p=0,322$; ensayo 2: $F(1,18)=0,654$ $p=0,428$; grupo R_{c-r} : ensayo 1: $F(1,18)=0,265$ $p=0,613$; ensayo 2: $F(1,18)=0,613$ $p=0,443$; grupo NI: ensayo 1: $F(1,18)=0,080$ $p=0,780$; ensayo 2: $F(1,18)=0,305$ $p=0,587$. Es decir, que a pesar de que los grupos controles fueron evaluados solo para los cinco pares originales (y no para ocho pares simultáneos) cometieron un alto número de errores. Por lo tanto, el elevado número de errores en L1 para estos grupos principales no se atribuyó al hecho de que se evaluaron simultáneamente L1 e INFO. Este resultado indicaría que la INFO fue incorporada como una memoria independiente y que interfirió con la expresión de L1 en el día 3. De esta manera se infiere que el alto número

de errores en las sílabas-INFO para estos grupos también fue consecuencia de una interferencia simultánea de información relacionada. Estos grupos principales mostraron uniformidad en el entrenamiento respecto a sus respectivos grupos controles (Apéndice 5).

Por el contrario la buena performance del grupo recordatorio clave, tanto para L1 como para INFO, indicaría que luego del recordatorio la memoria-L1 se labilizó y la INFO se incorporó como parte de esa misma memoria, mientras que en los demás grupos se estarían formando dos memorias independientes que coexisten y compiten en el momento de la evocación.

DISCUSIÓN

En esta serie de experimentos vimos que luego de la presentación del recordatorio clave, durante el período de labilidad se puede incorporar nueva información a una memoria preexistente cuando la misma es precedida por una instrucción verbal.

En ausencia del recordatorio de la memoria-L1, la nueva información no es incorporada como parte de una misma memoria, sino que se forma una memoria independiente que coexiste con la original y consecuentemente ambas memorias interfieren simultáneamente en el momento de la evocación. Cuando se utiliza el recordatorio clave-respuesta, es decir, el recordatorio que evoca la memoria blanco sin producir el fenómeno de labilización, no se produce la incorporación de la nueva

información en L1. Un resultado por demás interesante es que si se omite la orden verbal de incorporar los nuevos pares de sílabas tampoco se incorporan, aún cuando la memoria se encuentra labilizada.

Hemos visto como en los grupos no-recordatorio, recordatorio clave-respuesta y grupo no-instrucción, la memoria-INFO coexiste con la L1. Sin embargo, es razonable considerar que la memoria-INFO es menos fuerte que la L1, dado que es adquirida como una memoria independiente en solo un ensayo de lectura (32 segundos del ensayo-INFO frente a 10 minutos de entrenamiento-L1). Esta diferencia puede explicar los dos resultados encontrados. Primero, cuando las sílabas-L1 son evaluadas, la evocación de la L1 recluta ítems de la memoria-INFO y éstos interfieren simultáneamente con la expresión de L1. Pero dado que la memoria-INFO es menos fuerte que la L1, se necesita un ensayo de reentrenamiento para obtener interferencia simultánea en el ensayo 2.

En los Capítulos anteriores vimos como un segundo aprendizaje luego de la presentación del recordatorio clave, actúa como agente amnésico interfiriendo la reestabilización de la memoria-L1. En este Capítulo la INFO no interfiere con la reestabilización, lo que apoya la idea de que la memoria-INFO es menos fuerte que la L1.

Por otra parte, en este Capítulo vemos nuevamente la importancia del **componente de la discordancia** para producir la labilización de la memoria. Es así como, el recordatorio clave-respuesta cumple con la expectativa del sujeto (presentación de una sílaba-clave → completar con la correspondiente sílaba-respuesta), no disparando el fenómeno de labilización-reestabilización de manera que no se incorpora la INFO en L1.

Vimos que solo se incorporaba la información cuando se presentaba el recordatorio clave, la instrucción verbal y la información a incorporar. En cambio si en lugar de recibir la instrucción de incorporar las sílabas, se les indicaba a los sujetos que debían leerlas, el fenómeno de actualización no sucedía. Podría considerarse que la instrucción verbal hace que la INFO cobre importancia para el sujeto, es decir, estaría haciendo relevante a la información que va a ser incorporada.

Así, partir de los resultados obtenidos podemos establecer las condiciones necesarias requeridas para incorporar la nueva información. Primero, es necesario que la memoria se encuentre labilizada; segundo, que durante el período de labilidad se presente la información a incorporar y; tercero, que la información sea relevante para el sujeto.

La demostración de que nueva información puede incorporarse a una memoria labilizada, produce un cambio crítico en la idea de que el patrimonio de memorias de un animal es confinado a memorias que son adquiridas una vez y que solo pueden ser modificadas por el debilitamiento inducido por el olvido. Este patrimonio puede ahora ser concebido como un ensamblaje continuamente enriquecido no solo por la adición de nueva información sino también por cambios frecuentes en el contexto de memorias preexistentes.

En el caso de los humanos, y como queda demostrado en estos experimentos por el peso de la instrucción, el escenario parece ser más dinámico y complejo al esperado ya que la nueva información puede incorporarse rápidamente a una memoria reactivada a través del uso del lenguaje.

Capítulo VII

Discusión general

En esta tesis desarrollamos un nuevo paradigma para evaluar una memoria declarativa en humanos, el mismo estuvo formado por el aprendizaje de una lista de sílabas asociada a un contexto determinado (luz proyectada en el fondo del cuarto, imagen presentada en el monitor y una música a través de auriculares). Vimos que el contexto resultó ser de alto valor predictivo para la tarea verbal a la vez que favoreció la retención de dicha memoria (Apéndice 1). Labilizamos la memoria de los pares de sílabas asociados presentando el contexto correcto seguido por la aparición de una sílaba-clave, interrumpiendo el ensayo sin permitir a los sujetos responder con la correspondiente sílaba-respuesta. A este fenómeno lo evidenciamos presentando en el período de labilidad un segundo aprendizaje que interfirió con la reestabilización del primero dentro de una ventana temporal específica (hasta las 6 horas la memoria es vulnerable, a las 10 horas deja de serlo) (Capítulo III).

El Recordatorio

En este punto es importante recordar las características de la reconsolidación establecidas a partir del paradigma de memoria contextual tradicionalmente utilizado en nuestro Laboratorio. En el modelo de aprendizaje contexto-señal en el cangrejo *Chasmagnathus granulatus* la presentación reiterada de una señal de peligro (una figura que pasa sobre el animal) desencadena una respuesta de escape que es reemplazada por una respuesta de inmovilidad (*freezing*) ante la presentación reiterada de la señal (Pereyra

et al., 1999; 2000). Este reemplazo de la respuesta de escape por la respuesta de inmovilidad a largo término implica una asociación entre el contexto donde tiene lugar el entrenamiento y la presentación de la pantalla.

Una vez establecida esta memoria, la presentación del contexto de entrenamiento, por un período breve sin la señal, disparara la reconsolidación (Pedreira et al., 2002; Pedreira & Maldonado, 2003). Se observó que para desencadenar la labilización el recordatorio no debe incluir el refuerzo, es decir que si el cangrejo había formado una asociación entre contexto de aprendizaje y la pantalla, el animal espera ésta pase si es colocado en el contexto de entrenamiento. Si la pantalla pasa, entonces la expectativa contexto-señal queda cumplida y el fenómeno no se dispara. Sin embargo, si solo se presenta el contexto el proceso se dispara, siendo la discordancia entre lo que el animal espera y lo que realmente ocurre fundamental para que la memoria contexto-señal atraviese la fase de reconsolidación. Demostrando así que no toda evocación desencadena la reconsolidación y la importancia del componente de discordancia (Pedreira et al., 2004).

Teniendo en cuenta este modelo interpretativo para el análisis de nuestros resultados de una memoria declarativa, solo se labilizó la memoria de la lista de sílabas cuando se presentó el contexto correcto seguido de la primera sílaba-clave sin permitirles a los sujetos completar con la correspondiente sílaba-respuesta. Por el contrario, si se les permitía a los sujetos responder con la correspondiente sílaba-respuesta no se disparaba el proceso. El hecho de completar con la sílaba-respuesta podría compararse con presentarles a los cangrejos el estímulo visual de peligro luego de ser reexpuestos al

contexto donde se dio el aprendizaje (Pedreira et al., 2004). En el caso del recordatorio formado únicamente por la presentación del contexto tampoco resultó suficiente para labilizar la memoria.

Si establecemos una analogía no muy estricta entre el condicionamiento clásico y el aprendizaje de sílabas asociadas, el estímulo condicionado (EC) en este caso parecería ser el contexto más la sílaba-clave y el estímulo incondicionado el hecho de poder ejecutar la sílaba-respuesta. Entonces al no presentar el EC completo (contexto + sílaba-clave), éste no sería efectivo para disparar la labilización-reestabilización.

Por otro lado, nunca probamos reexponer a los sujetos solo a la sílaba-clave, sin contexto. Para determinar si la sílaba-clave sola actúa como EC permitiendo la labilización de la memoria-L1 o si el contexto es necesario como parte de la estructura del recordatorio haría falta un experimento diseñado a tal fin.

Ahora, ***¿cómo puede una única sílaba-clave desencadenar la labilización-reestabilización de la lista completa de sílabas?*** Podría haber ocurrido que cada par de sílabas clave-respuesta se almacene como una memoria independiente. Teniendo en cuenta que un recordatorio clave produce la labilización-reestabilización del trazo específico y no de los trazos relacionados (Debiec et al., 2003), si se hubiesen formado cinco trazos independientes, un recordatorio formado por una única sílaba-clave no habría sido efectiva para labilizar los 5 pares, y solo se hubiesen observado errores en la sílaba que estuvo presente en el recordatorio. El hecho de que toda la memoria se vea afectada

por el agente amnésico presentado luego del recordatorio indicaría que los cinco pares formaron una única memoria y que el recordatorio está reactivando a la lista completa.

Más aún, teniendo en cuenta a los experimentos del Capítulo V, en los cuales se estudió el reforzamiento de la memoria, la mejora en la performance estuvo dada por una disminución en el número de errores de confusión de todas las sílabas y no solamente en el par ITE-OBN, que fue el utilizado como parte del recordatorio (Apéndice 6). Estos resultados indicarían que el recordatorio clave produce la labilización de los cinco pares de sílabas, permitiendo el reforzamiento de la memoria-L1 al presentar el segundo recordatorio clave cuando la memoria se encuentra desestabilizada.

También podríamos preguntarnos, ***¿cómo es que el hecho de completar con una única sílaba-respuesta impide que la memoria atraviese la fase de reconsolidación?***

Antes de elaborar una respuesta a esta pregunta, es importante aclarar, que al finalizar los experimentos, los sujetos debieron responder un cuestionario general en el cual se incluyó una pregunta acerca de lo que sintieron en el momento que recibieron el recordatorio. De estas entrevistas se desprende que la mayoría de los integrantes que recibieron el recordatorio clave-respuesta, consideraron que el ensayo se detuvo porque ellos completaron correctamente la sílaba y por lo tanto no hacía falta seguir completando con el resto de los pares. Sin embargo, la mayoría de los sujetos que recibieron el recordatorio clave se sorprendieron frente a la finalización del mismo, considerando que el ensayo había sido interrumpido debido a que ellos habían cometido un error o a que había un inconveniente en la computadora que no les permitía continuar. El reporte de lo

que experimentaron los sujetos parece corresponderse a lo observado en los distintos modelos, es decir, que para que se inicie el proceso de labilización-reestabilización, el recordatorio tiene que incluir en su estructura una discordancia entre lo asociado previamente, es decir, un desacuerdo entre lo que el sujeto espera y lo que realmente ocurre. En el caso de los humanos, la posibilidad de dar un reporte verbal permite asociar esta discordancia a la sensación de frustración que perciben al no poder completar con la sílaba-respuesta.

Finalmente, el hecho de que una única sílaba-respuesta impida que se dispare la reconsolidación apoyaría a la idea de que los pares se están almacenando como una única memoria.

Funcionalidad

Diferentes hipótesis han sido postuladas acerca de la posible funcionalidad de este fenómeno. Una de ellas plantea a la reconsolidación como un fenómeno que permite el reforzamiento de las memorias por sucesivas reactivaciones, la otra lo propone como un mecanismo que posibilita la incorporación de nueva información a memorias preexistentes (Sara, 2000a; Nader, 2003; Morris et al., 2006), pero hasta el momento muy pocos trabajos ilustran el posible rol de este fenómeno quedando la interpretación de los resultados abierta a debate (Tronel et al., 2005; Morris et al., 2006; Lee, 2009).

En nuestro modelo de memoria declarativa se observó que sucesivas reactivaciones producían el reforzamiento de la memoria. Y para que esto sucediera, el segundo recordatorio debía presentarse cuando la memoria original se encontraba desestabilizada. Como vimos, estos resultados son análogos a los encontrados en el reforzamiento de la consolidación durante el sueño (Rasch et al., 2007). En este último, los sujetos aprendían una tarea visuoespacial de reconocimiento de objetos bajo un contexto formado por un aroma determinado. Durante la fase del sueño de ondas lentas si se presentaba como recordatorio al aroma que había estado presente durante el aprendizaje, la memoria se reforzaba. Ahora, si comparamos los dos experimentos vemos que el reforzamiento en ambos casos ocurrió cuando la memoria se encontraba desestabilizada, ya sea por recordatorios sucesivos o porque aún no se había consolidado.

Por otro lado, se ha observado que dependiendo del número de presentaciones del recordatorio, las memorias no declarativas pueden atravesar la fase de reconsolidación o de extinción (Pedreira & Maldonado, 2003; Eisenberg & Dudai, 2004; Suzuki et al., 2004). Así, una reexposición breve al contexto de aprendizaje o al estímulo condicionado (EC) produce la labilización de la memoria original seguida por un período de reestabilización, mientras que reexposiciones repetidas del recordatorio, o una reexposición prolongada, lleva a una disminución de la respuesta original (memoria de extinción). Es así como, a través de este aprendizaje activo se establece una nueva asociación entre los estímulos originales, el EC no predice más la aparición del EI (Myers & Davis, 2002).

En nuestro modelo, al presentar sucesivos recordatorios clave podríamos haber arribado a un protocolo que llevase a una memoria de extinción en lugar de reforzar la memoria original. Una posibilidad es que las memorias declarativas no sufran extinción, o que para extinguir la memoria de pares de sílabas se requiera de otro protocolo. Por ejemplo, podría presentarse el contexto correcto y las cinco sílabas-clave, de a una por vez, con el cuadrado en blanco para completar pero inhabilitando el teclado para que los sujetos experimentales no puedan escribir, o alguna variante similar. Hasta el momento no fue publicado ningún trabajo sobre extinción de memorias declarativas, apoyando la idea de que este tipo de memoria no atraviesa esta fase de la memoria.

En cuanto a la segunda funcionalidad del fenómeno de reconsolidación: incorporación de nueva información en una memoria preexistente, la dificultad general que existe para poner a prueba esta hipótesis radica en que tienen que darse simultáneamente dos sucesos indispensables. En primer lugar, debe presentarse un recordatorio de la memoria de interés. Y en segundo lugar, en el período de labilidad (dentro de la ventana temporal específica) debe presentarse la información a incorporar. Es intuitivo pensar que no cualquier información puede incorporarse como parte de una misma memoria, así como no todos los estímulos pueden ser asociados para generar una respuesta condicionada (Breland & Breland, 1951). Por lo tanto, nosotros consideramos que la información a incorporar debe ser relevante para el sujeto experimental. Nuestro paradigma nos permitió superar este conflicto ya que, a través del lenguaje, se puede dar la instrucción de incorporar la nueva información en el momento en que la memoria se

encuentra labilizada (Capítulo VI). La importancia de la instrucción verbal parecería radicar en que la lista-INFO cobraría relevancia al pedirle a los sujetos que la incorporen. Es decir, la instrucción del experimentador guiaría la incorporación haciendo a la información relevante. En este punto cabe destacar que la instrucción podría ser dada externa o internamente por el mismo sujeto.

En resumen, el paradigma de memoria declarativa nos permitió demostrar por primera vez la incorporación de nueva información en una memoria labilizada, dando una instrucción verbal, es decir, utilizando una herramienta propia del hombre: el lenguaje.

El hecho de que nueva información sea incorporada a una memoria preexistente, fuera del proceso de reconsolidación, fue resultado de una larga línea de investigación (Loftus & Palmer, 1974; Loftus, 1975, 1977, 1979a, 1979b). Si bien el objetivo de estos trabajos fue determinar cómo la información postperceptual de un evento puede distorsionar al reporte de un testigo, se muestra que la evocación de una determinada característica de un evento específico puede ser afectada dependiendo del adjetivo que haya sido utilizado para calificar al evento en el primer día de experimento (Loftus & Palmer, 1974).

Otro antecedente importante es el estudio clásico de Izquierdo y Chaves (1988) en el cual se evalúa si la información adquirida durante la sesión de entrenamiento puede ser modificada si se presenta inmediatamente después o a las 3 horas una nueva información. Ellos vieron que hasta 3 horas luego del entrenamiento la nueva información podía

incorporarse. En nuestro trabajo no evaluamos la ventana temporal efectiva para la incorporación de nueva información luego de la reactivación.

Basados en el paradigma desarrollado en esta Tesis, mediante el cual evidenciamos el reforzamiento de la memoria por sucesivas reactivaciones (Capítulo V) y la incorporación de nueva información en una memoria preexistente (Capítulo VI), podría plantearse un nuevo experimento en el cual se presenten sucesivos recordatorios clave seguidos por la instrucción verbal de incorporar los nuevos pares y a continuación la nueva información. Así, podría ocurrir que no solo la memoria original se vea reforzada, sino que además la nueva información sea incorporada de forma más eficiente en la memoria original.

Teniendo en cuenta todos los resultados presentados en esta Tesis, la funcionalidad del fenómeno de reconsolidación está planteada como el reforzamiento y la posibilidad de incorporar nueva información en la memoria preexistente. Sin embargo, desde un punto de vista general, la funcionalidad de la reconsolidación pareciera ser la **modificación de la información adquirida**, ya sea labilizar la memoria y reforzarla, desestabilizarla e incorporar nueva información o perjudicar un trazo previamente consolidado interfiriendo su reestabilización. Desde un punto de vista biológico, la reconsolidación representaría una oportunidad única para modificar adaptativamente la información almacenada.

Memoria de predicción vs. memoria verbal

Resulta llamativo que en ningún experimento hayamos podido perjudicar a la memoria de predicción aún cuando complejizamos su aprendizaje, mientras que pudimos labilizar e interrumpir la consolidación y reconsolidación de la memoria de los pares de sílabas. En realidad no podemos saber si el problema fue que no logramos labilizarla o si el entrenamiento-L2 no resultó ser lo suficientemente fuerte como para interferir su reestabilización. Una de las posibles causas es que los sujetos hayan sido sobreentrenados en la tarea de predicción (32 ensayos de predicción frente a 10 de la lista), o que exista una diferencia en la complejidad entre los dos tipos de memoria, es decir, la tarea de predicción involucra la asociación de claves congruentes entre sí (luz roja, imagen de Nueva York, música de Jazz) frente a la asociación de triplete de letras sin asociación previa (Capítulo III y IV). Así, el sobreentrenamiento y el grado de sencillez de la tarea de predicción formarían una memoria fuerte difícil de labilizar y/o de interferir.

¿Daño en el núcleo de la memoria o en los trazos que guían su evocación?

En términos especulativos se podría imaginar a la memoria como un conjunto de nodos interconectados que forman **la traza mnésica (o núcleo)** y otros trazos que permiten llegar a la información almacenada: **los trazos que permiten la evocación**, una

idea similar a la planteada por Yadin Dudai y Mark Eisenberg (2004). Resulta entonces que si se perjudican los trazos que guían la evocación o si se perjudica la traza mnésica (núcleo), se obtendría la misma respuesta comportamental: una mala performance en el momento de la evaluación. En la presente Tesis todos los Capítulos fueron discutidos considerando que se estaba perjudicando la traza mnésica. Sin embargo, lo que puede estar ocurriendo es que el núcleo de la memoria permanezca intacto y lo que se esté debilitando sean los trazos que guían la evocación. Lo mismo puede pensarse en el caso de la incorporación de nueva información (Capítulo V). Podría suceder que la labilización producida por la presentación del recordatorio desestabilice los trazos que guían la evocación dejando al núcleo intacto y que la nueva información forme un nuevo núcleo y durante la reconsolidación se establezcan los trazos, quedando ambos conectados de manera que uno puede selectivamente recurrir a una información o a la otra.

Estudio del proceso de reconsolidación en diferentes paradigmas en humanos

A partir del año 2007 se comenzaron a publicar cada vez más trabajos estudiando la reconsolidación de diferentes tipos de memoria en humanos. En ese año, como vimos en el Capítulo III, Hupbach y colaboradores diseñaron un paradigma para estudiar la reconsolidación de memorias declarativas, en el cual los sujetos debían aprender dos listas de objetos (Hupbach et al., 2007). Consideramos que este trabajo presenta un

problema fundamental en el diseño, dado que el grupo que no recibe el recordatorio aprende la segunda lista de objetos en otro contexto de aprendizaje, mientras que el grupo que recibe el recordatorio aprende las dos tareas en el mismo contexto. Así, el aumento en el número de intrusiones de la lista 2 en la 1 para el grupo recordatorio puede ser explicado por una interferencia simultánea en la evocación y no a que la memoria se labilizó permitiendo así la incorporación de nueva información. En su siguiente trabajo, continuaron con el mismo protocolo, intentando destacar la importancia del contexto de aprendizaje para la reactivación, afirmando que las memorias serían reactivadas automáticamente cuando los sujetos son expuestos al contexto original en donde aprendieron la tarea (Hupbach et al., 2008). Dado que en su primer trabajo no se puede saber si la canasta azul que presentan como recordatorio desencadena realmente al proceso de labilización-reestabilización, en este nuevo trabajo en donde omiten al grupo que no recibe recordatorio las conclusiones a las que arriban pueden ponerse en duda. Estos últimos resultados, de acuerdo a nuestra interpretación, dejan aún más en evidencia que el fenómeno que están observando es una interferencia simultánea en la evocación dado que solo ven aumento de intrusiones cuando los sujetos aprenden las dos tareas en un mismo contexto.

Merel Kindt y colaboradores diseñaron un paradigma aversivo en el cual los sujetos experimentales fueron condicionados con imágenes de arañas asociadas a un choque eléctrico, de baja intensidad, en la muñeca (Kindt et al., 2009). Demostraron que la administración oral de un antagonista de los receptores β -adrenérgicos, propranolol, una hora y media antes de la presentación del recordatorio, borra la expresión de la memoria

de miedo adquirida 24 horas antes. Una crítica que puede hacerse a este trabajo es que presentan al agente amnésico antes del recordatorio. Así, surge una interpretación alternativa: la evocación en presencia de la droga podría tener un efecto a largo término en la expresión de la respuesta de miedo en lugar de bloquear la reconsolidación de la memoria.

Un año más tarde, Daniela Schiller y colaboradores pusieron en evidencia el fenómeno de reconsolidación utilizando un condicionamiento sencillo y una técnica no invasiva como interferente de la reconsolidación, un protocolo similar al utilizado previamente en ratas (Monfils et al., 2009). Demostraron que se podía modificar una memoria de miedo previamente consolidada si luego de la reactivación se presentaba el estímulo condicionado en ausencia del EI. Como consecuencia, las respuestas de miedo no son expresadas, durando el efecto incluso hasta un año después de la reexposición (Schiller et al., 2010).

El grupo de Oliver Wolf demostró la existencia de reconsolidación en memorias autobiográficas, propias de los sujetos experimentales. Observaron que si los sujetos se exponían a una situación de estrés luego de la reactivación, se afectaba a la memoria de episodios neutros mientras que los episodios con carga emocional no eran afectados (Schawbe & Wolf, 2009). A su vez, demostraron que la reconsolidación de estas memorias podía ser bloqueada con un nuevo aprendizaje (Schawbe & Wolf, 2010).

Petra Tollenaar y colaboradores estudiaron el impacto en la reconsolidación de memorias con contenido emocional, al administrar oralmente una dosis de cortisol o propranolol. Observaron que las memorias neutras o con contenido emocional podían ser

perjudicadas si los sujetos recibían una dosis de cortisol luego de la reactivación. Sin embargo, el propranolol no parecía afectarlas (Tollenaar et al., 2009).

En nuestro laboratorio se desarrolló otra línea experimental en humanos para evaluar los efectos de las benzodiazepinas⁴ sobre la reconsolidación de la memoria declarativa. En una serie de experimentos utilizando el paradigma presentado en el Capítulo VI de la presente Tesis, se demostró que una dosis oral de estos agonistas GABAérgicos cuando la memoria se encontraba reactivada, producía el reforzamiento de la memoria previamente consolidada. Sin embargo, cuando se evocaba a la memoria sin labilizarla (ya que se presentaba el recordatorio clave-respuesta), o si se la reactivaba pero se administraba placebo el efecto reforzador dejaba de observarse (Rodríguez et al., 2011). Una crítica que podría hacerse a este trabajo es que dado que la benzodiazepina utilizada tiene una vida media intermedia, la misma está presente durante la sesión de evaluación pudiendo afectar a la evocación de la memoria de interés. Sin embargo, al tener el paradigma diferentes tipos de recordatorio (uno que labiliza y otro que evoca la memoria sin labilizarla) está controlado que solo los grupos reactivados son los que refuerzan la memoria y no los grupos que reciben la droga y la evocan sin labilizarla.

Como conclusión general podemos ver que esta tesis suma evidencias a favor de la universalidad de la reconsolidación que es consistente con la idea general de que muchos principios de la organización de las memorias, así como componentes básicos de los mecanismos que la subyacen, surgieron a través de la evolución en animales muy

⁴ **Benzodiazepinas:** agonistas de los receptores GABAérgicos.

diferentes (Carew, 2000; Pedreira & Maldonado, 2003). Y que el principal papel de la reconsolidación estaría dado por la posibilidad de actualizar la información adquirida, permitiendo a los distintos organismos adaptarse a los cambios permanentes que surgen en su ambiente y que condicionan sus comportamientos.

Referencias Bibliográficas

- Abel, T. & Kandel, E. (1998).** Positive and negative regulatory mechanisms that mediate long-term memory storage. *Brain Research Reviews* **26**, 360-378.
- Agranoff, B. W., Davis, R. E. & Brink, J. J. (1965).** Memory fixation in the goldfish. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **54**, 788-793.
- Alberini, C. M., Milekic, M.H. & Tronel, S. (2006).** Mechanisms of memory stabilization and de-stabilization. *Cellular and Molecular Life Sciences* **63**, 999-1008.
- Alberini, C. M. (2007).** Reconsolidation: the samsara of memory consolidation. *Debates in Neuroscience* **1**, 17-24.
- Alpern, H. P., & McGaugh, J. L. (1968).** Retrograde amnesia as a function of duration of electroshock stimulation. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* **65**, 265-269.
- Anderson, M. C., Bjork, R. A. & Bjork, E. L. (1994).** Remembering can cause forgetting: retrieval dynamics in long-term memory. *Journal of experimental psychology* **20**, 1063-87.
- Anderson, M. C. & Neely, J. H. (1996).** Interference and inhibition in memory retrieval. *Memory* **22**, 586.
- Anderson, M. C. (2003).** Rethinking interference theory: Executive control and the mechanisms of forgetting. *Journal of Memory and Language* **49**, 415-445.
- Anokhin, K. V., Tiunova, A. A. & Rose, S. P. (2002).** Reminder effects - reconsolidation or

retrieval deficit? Pharmacological dissection with protein synthesis inhibitors following reminder for a passive-avoidance task in young chicks. *The European Journal of Neuroscience* **15**, 1759-65.

Bailey, C. H., Bartsch, D. & Kandel, E. R. (1996). Toward a molecular definition of long-term memory storage. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **93**, 13445-13452.

Bailey, C. H., Kandel, E. R. & Si, K. (2004). The persistence of long-term memory: a molecular approach to self-sustaining changes in learning-induced synaptic growth. *Neuron* **44**, 49-57.

Ben Mamou, C., Gamache, K. & Nader, K. (2006). NMDA receptors are critical for unleashing consolidated auditory fear memories. *Nature Neuroscience* **9**, 1237-1239.

Berman, D. E., Hazvi, S., Stehberg, J., Bahar, A. & Dudai, Y. (2003). Conflicting processes in the extinction of conditioned taste aversion: behavioral and molecular aspects of latency, apparent stagnation, and spontaneous recovery. *Learning and memory* **10**, 16-25.

Boccia, M. M., Blake, M. G., Acosta, G. B. & Baratti, C. M. (2005). Memory consolidation and reconsolidation of an inhibitory avoidance task in mice: effects of a new different learning task. *Neuroscience* **135**, 19-29.

Bouton, M. E. (2004). Context and behavioral processes in extinction. *Learning & Memory* **11**, 485-494.

- Breland, K. & Breland, M. (1951).** A field of applied animal psychology. *American Psychology* **6**, 202–204.
- Carew, T. J. (2000).** *Behavioral neurobiology. The cellular organization of natural behavior* Sinauer, Sunderland, MA.
- Cho, Y. H, Beracochea, D. & Jaffard, R. (1993).** Extended temporal gradient for the retrograde and anterograde amnesia produced by ibotenate entorhinal cortex lesion in mice. *The Journal of Neuroscience* **13**, 1759-1766.
- Clark, R. E., Broadbent, N. J., Zola, S. M. & Squire, L. R. (2002).** Anterograde amnesia and temporally graded retrograde amnesia for a nonspatial memory task after lesions of hippocampus and subiculum. *The Journal of Neuroscience* **22**, 4663-4669.
- Davis, H. P. & Squire, L. R. (1984).** Protein synthesis and memory: a review. *Psychological Bulletin* **96**, 518-559.
- Debiec, J. & Ledoux, J. E. (2004).** Disruption of reconsolidation but not consolidation of auditory fear conditioning by noradrenergic blockade in the amygdala. *Neuroscience* **129**, 267-72.
- Debiec, J., Doyère, V., Nader, K. & Ledoux, J. E. (2006).** Directly reactivated, but not indirectly reactivated, memories undergo reconsolidation in the amygdala. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **103**, 3428-3433.

- Dudai, Y. & Morris, R. G. M. (2000).** To consolidate or not to consolidate: What are the questions? *Brain, perception, memory. Advances in Cognitive Sciences*, ed. J. J. Bulhuis, 149-162. Oxford: Oxford Univ. Press.
- Dudai, Y. (2002).** Memory from A to Z. Keywords, Concepts and Beyond. *Oxford UP, Oxford, UK.*
- Dudai, Y. (2004).** The neurobiology of consolidations, or, how stable is the engram? *Annual Review of Psychology* **55**: 51–86.
- Dudai, Y. & Eisenberg, M. (2004).** Rites of passage of the engram: reconsolidation and the lingering consolidation hypothesis. *Neuron* **44**, 93-100.
- Duman, R. S., Nakagawa, S. & Malberg, J. (2001).** Regulation of adult neurogenesis by antidepressant treatment. *Neuropsychopharmacology* **25**, 836-844.
- Duman, R. S. (2002).** Synaptic plasticity and mood disorders. *Molecular Psychiatry* **7 Suppl 1**, S29-34.
- Duvarci, S. & Nader, K. (2004).** Characterization of fear memory reconsolidation. *The Journal of Neuroscience* **24**, 9269-75.
- Ebbinghaus, D. (1885).** Über das Gedächtnis. *Dunker & Humbolt, Leipzig, Germany.*
- Eisenberg, M. & Dudai, Y. (2004).** Reconsolidation of fresh, remote, and extinguished fear memory in Medaka: old fears don't die. *The European journal of neuroscience* **20**, 3397-403.
- Eisenberg, M., Kobilov, T., Berman, D. E. & Dudai, Y. (2003).** Stability of retrieved memory: inverse correlation with trace dominance. *Science* **301**, 1102-4.
- Flood, J. F., Rosenzweig, M. R., Bennett, E. L. & Orme, A. E. (1973).** The influence of

duration of protein synthesis inhibition on memory. *Physiology and Behaviour* **10**, 555-562.

Frankland, P.W. & Bontempi, B. (2005). The organization of recent and remote memories *Nature Review Neuroscience* **6**, 119-130.

Frenkel, L., Maldonado, H., and Delorenzi, A. (2005). Memory strengthening by a real-life episode during reconsolidation: An outcome of water deprivation via brain angiotensin II. *The European Journal of Neuroscience* **22**: 1757–1766.

Gerard, R.W. (1949). Physiology and psychology. *The American Journal of Psychology* **106**, 161-173.

Goelet, P., Castellucci, V. F., Schacher, S. & Kandel, E. R. (1986). The long and the short of long-term memory--a molecular framework. *Nature* **322**, 419-422.

Gordon, W. C. (1983). Animal cognition and behavior, The malleability of memory in animals, ed Mellgren, R.L. North Holland Press, Amsterdam, 399–399.

Hebb, D. (1949). The organization of behavior. New York: Wiley.

Hupbach, A., Gomez, R., Hardt, O. & Nadel, L. (2007). Reconsolidation of episodic memories: a subtle reminder triggers integration of new information. *Learning and memory N.Y* **14**, 47-53.

Hupbach, A., Hardt, O., Gomez, R. & Nadel, L. (2008). The dynamics of memory: context-dependent updating. *Learning and Memory* **15**, 574-579.

Izquierdo, I. & Chaves, M. L. (1988). The effect of non-factual post-training negative comment on the recall of verbal information. *Journal of Psychiatric Research* **22**, 165-169.

- Johnson, S. K. & Anderson, M. C. (2004).** The role of inhibitory control in forgetting semantic knowledge. *Psychological Science* **15**, 448-453.
- Judge, M. E. & Quartermain, D. (1982).** Characteristics of retrograde amnesia following reactivation of memory in mice. *Physiology and Behavior* **28**, 585-590.
- Kandel, E. R., Jessell, T. M., Schwartz J. H. (2000).** Mecanismos celulares del aprendizaje y la memoria. *Neurociencia y Conducta*. Cap. 36. 715-742. Ed. Practice Hall. Madrid.
- Kim, J. J, Clark, R. E. & Thompson, R. F. (1995).** Hippocampectomy impairs the memory of recently, but not remotely, acquired trace eyeblink conditioned response. *Behavioral Neuroscience* **109**, 195-203.
- Kindt, M., Soeter, M. & Vervliet B. (2009).** Beyond extinction: erasing human fear responses and preventing the return of fear. *Nature Neuroscience* **12**, 256-258.
- Knapska, E. & Kaczmarek, L. (2004).** A gene for neuronal plasticity in the mammalian brain: Zif268/Egr-1/NGFI-A/Krox-24/TIS8/ZENK? *Progress in Neurobiology* **74**, 183-211.
- Lechner, H. A., Squire, L. R. & Byrne, J. H. (1999).** 100 Years of Consolidation - Remembering Müller and Pilzecker. *Learning and Memory* **6**, 77-87.
- Lee, J. L. (2008).** Memory reconsolidation mediates the strengthening of memories by additional learning. *Nature Neuroscience* **11**, 1264-1266.
- Lee, J. L. (2009).** Reconsolidation: maintaining memory relevance. *Trends in Neuroscience* **32**, 413-420.
- Lee, S. H., Choi, J. H., Lee, N., Lee, H. R., Kim, J. I., Yu, N. K., Choi, S. L., Lee, S. H., Kim, H. & Kaang, B. K. (2008).** Synaptic protein degradation underlies destabilization of

retrieved fear memory. *Science* **319**, 1253-1256.

Levy, B. J. & Anderson, M. C. (2002). Inhibitory processes and the control of memory retrieval. *Trends in cognitive sciences* **6**, 299-305.

Levy, B. J., McVeigh, N. D., Marful, A. & Anderson, M. C. (2007). Inhibiting your native language: the role of retrieval-induced forgetting during second-language acquisition. *Psychological Science* **18**, 29-34.

Lewis, D. J. & Maher, B. A. (1965). Neural consolidation and electroconvulsive shock. *Psychological Review* **72**, 225-239.

Lewis, D. J. (1969). Sources of experimental amnesia. *Psychological Review* **76**, 461-472.

Loftus, E. F. & Palmer, J. C. (1974). Reconstruction of automobile destruction. An example of the interaction between language and memory. *Journal of Verbal Learning and Verbal Behavior*, **13**, 585-589.

Loftus, E. F. (1975). Leading questions and the eyewitness report. *Cognitive Psychology* **7**, 560-572. 577.

Loftus, E. F. (1977). Shifting human color memory. *Memory and Cognition* **S696-S699**. 575.

Loftus, E. F. (1979a). Eyewitness testimony. Cambridge, Mass: Harvard University Press. 572

Loftus, E. F. (1979b). Reactions to blatantly contradictory information. *Memory and Cognition* **7**, 368-374. 574.

- Lozada, M., Romano, A. & Maldonado, H. (1990).** Long-term habituation to a danger stimulus in the crab *Chasmagnathus granulatus*. *Physiology and Behavior* **47**, 35-41.
- MacLeod, M. D. & Macrae, C. N. (2001).** Gone but not forgotten: the transient nature of retrieval-induced forgetting. *Psychological Science* **12**, 148-152.
- Mactutus, C., Riccio, D. & Ferek, J. (1979).** Retrograde amnesia for old (reactivated) memory: some anomalous characteristics. *Science* **204**, 1319 -1320.
- Maldonado, H. (2002).** Crustaceans as models to investigate memory illustrated by extensive behavioral and physiological studies in *Chasmagnathus*. In *The Crustacean Nervous System* (ed. K. Wiese), pp 314-327. Springer, Berlin.
- Marr, D. (1971).** Simple memory: a theory for archicortex. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **262**, 23-81.
- Mayes, A. & Downes, J. (1997).** Theories of organic amnesia. *Memory* **5**, 1-2.
- McGaugh, J. (1966).** Time-dependent processes in memory storage. *Science* **153**, 1351-1358.
- McGaugh, J. L. (2000).** Memory--a century of consolidation. *Science* **287**, 248-251.
- McGeoch, J. A. (1932).** Forgetting and the law of disuse. *Psychological Review* **39**, 352-370.
- Merlo, E., Freudenthal, R., Maldonado, H. & Romano, A. (2005).** Activation of the transcription factor NF-kappaB by retrieval is required for long-term memory reconsolidation. *Learning and Memory* **12**, 23-29.
- Milner, B. (1959).** The memory defect in bilateral hippocampal lesions. *Psychiatry*

Research Republic American Psychiatric Association **11**, 43-58.

Milner, M., Squire, L. R. & Kandel E. R. (1998). Cognitive Neuroscience Review and the Study of Memory. *Neuron* **20**, 445–468.

Misanin, J. R., Miller, R. R. & Lewis, D. J. (1968). Retrograde amnesia produced by electroconvulsive shock after reactivation of a consolidated memory trace. *Science* **160**, 554-555.

Monfils, M. H., Cowansage, K. K., Klann, E. & LeDoux, J. E. (2009). Extinction-reconsolidation boundaries: key to persistent attenuation of fear memories. *Science* **324**, 951-955.

Morris, R. G., Inglis, J., Ainge, J. A., Olverman, H. J., Tulloch, J., Dudai, Y. & Kelly, P. A. (2006). Memory reconsolidation: sensitivity of spatial memory to inhibition of protein synthesis in dorsal hippocampus during encoding and retrieval. *Neuron* **50**, 479-89.

Müller, G. E. & Pilzecker, A. (1900). Experimentelle beitrage zur lerhe Vom gedachtnis. *Z Psychol. Suppl.*1.

Myers, K. M. & Davis, M. (2002). Behavioral and neural analysis of extinction. *Neuron* **36**, 567-84.

Nader, K. (2003). Memory traces unbound. *Trends in neurosciences* **26**, 65-72.

Nader, K., Schafe, G. E. & LeDoux, J. E. (2000a). Fear memories require protein synthesis in the amygdala for reconsolidation after retrieval. *Nature* **406**, 722-6.

Nader, K., Schafe, G. E. & LeDoux, J. E. (2000b). The labile nature of consolidation theory. *Nature reviews* **1**, 216-9.

- Pavlov, I. P. (1927).** *Conditioned Reflexes: An Investigation of the Physiological Activity of the Cerebral Cortex.* London: Oxford University Press.
- Pedreira, M. E., Perez-Cuesta, L. M. & Maldonado, H. (2002).** Reactivation and reconsolidation of long-term memory in the crab *Chasmagnathus*: protein synthesis requirement and mediation by NMDA-type glutamatergic receptors. *The Journal of Neuroscience* **22**, 8305-11.
- Pedreira, M. E. & Maldonado, H. (2003).** Protein synthesis subserves reconsolidation or extinction depending on reminder duration. *Neuron* **38**, 863-9.
- Pedreira, M. E., Perez-Cuesta, L. M. & Maldonado, H. (2004).** Mismatch between what is expected and what actually occurs triggers memory reconsolidation or extinction. *Learning and memory* **11**, 579-85.
- Peigneux, P., Laureys, S., Fuchs, S., Destrebecqz, A., Collette, F., Delbeuck, X., Phillips, C., Aerts, J., Del Fiore, G., Degueldre, C., Luxen, A., Cleeremans, A. & Maquet, P. (2003).** Learned material content and acquisition level modulate cerebral reactivation during posttraining rapid-eye-movements sleep. *Neuroimage* **20**, 125-134.
- Peigneux, P., Laureys, S., Fuchs, S., Collette, F., Perrin, F., Reggers, J., Phillips, C., Degueldre, C., Del Fiore, G., Aerts, J., Luxen, A. & Maquet, P. (2004).** Are spatial memories strengthened in the human hippocampus during slow wave sleep? *Neuron* **44**, 535-545.
- Penfield, W. (1952).** Memory Mechanisms. *AMA Archives of Neurology and Psychiatry* **67**, 178-198.

- Pereyra, P., Saraco, M. & Maldonado, H. (1999).** Decreased response or alternative defensive strategy in escape: Two novel types of long-term memory in the crab *Chasmagnathus*. *Journal of Comparative Physiology* **184**, 301-310.
- Pereyra, P., Gonzalez Portino, E. & Maldonado, H. (2000).** Long-lasting and context-specific freezing preference is acquired after spaced repeated presentations of a danger stimulus in the crab *Chasmagnathus*. *Neurobiology of Learning & Memory*, **74**, 119-134.
- Przybylski, J. & Sara, S. J. (1997).** Reconsolidation of memory after its reactivation. *Behavioural Brain Research* **84**, 241-246.
- 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**, 6623-8.
- Postman, L. (1971).** Transfer, interference and forgetting. In Woodworth and Schlosberg's: *Experimental psychology* (eds. J.W. Kling and L.A. Riggs), 3d ed., pp. 1019–1132. Holt, Rinehart & Winston, New York.
- Rasch, B. & Born, J. (2007).** Maintaining memories by reactivation. *Current Opinion in Neurobiology* **17**, 698-703.
- Rasch, B., Büchel, C., Gais, S. & Born, J. (2007).** Odor cues during slow-wave sleep prompt declarative memory consolidation. *Science* **315**, 1426-1429.
- Rescorla, R.A. (2004).** Spontaneous recovery. *Learning and Memory*, **11**, 501-509.
- Ribot, T. (1882).** *Diseases of Memory*. London: Kegan Paul, Trench.

- Rodríguez, L. M. C., Campos, Leiguarda, R. C., Maldonado, H. & Pedreira, M. E. (2011).** Reinforcement of a declarative memory in humans by clonazepam administration. (*manuscrito en preparación*).
- Rodríguez-Ortiz, C. J., De la Cruz, V., Gutierrez, R. & Bermudez-Rattoni, F. (2005).** Protein synthesis underlies post-retrieval memory consolidation to a restricted degree only when updated information is obtained. *Learning and memory* **12**, 533-7.
- Sangha, S., Scheibenstock, A. & Lukowiak, K. (2003).** Reconsolidation of a long-term memory in *Lymnaea* requires new protein and RNA synthesis and the soma of right pedal dorsal 1. *The Journal of Neuroscience* **23**, 8034-40.
- Sara, S. J. (2000a).** Retrieval and reconsolidation: toward a neurobiology of remembering. *Learning and Memory* **7**, 73-84.
- Sara, S. J. (2000b).** Strengthening the shaky trace through retrieval. *Nature Reviews Neuroscience* **1**, 212-213.
- Sara, S. J. & Hars, B. (2006).** In memory of consolidation. *Learning and Memory* **13**, 515-521.
- Schacter, D. L. & Tulving, E. (1982).** Memory, amnesia, and the episodic/semantic distinction. In R. L. Isaacson & N. E. Spear (Eds.), *Expression of knowledge* (pp. 33-65). New York: Plenum.
- Schacter, D. L. (1987).** Implicit expressions of memory in organic amnesia: learning of new facts and associations. *Hum Neurobiol* **6**, 107-118.
- Schacter, D. L. (1992).** Understanding implicit memory. A cognitive neuroscience approach. *American Psychology* **47**, 559-569.

- Schiller, D., Monfils, M.H., Raio, C. M., Johnson, D. C., Ledoux, J. E. & Phelps, E. A. (2010).** Preventing the return of fear in humans using reconsolidation update mechanisms. *Nature* **463**, 49-53.
- Schreurs, B. G. (1989).** Classical conditioning of model systems: A behavioral review. *Psychobiology* **17**, 145-155.
- Schwabe, L. & Wolf, O. T. (2009).** New episodic learning interferes with the reconsolidation of autobiographical memories. *PLoS One* **21**, e7519.
- Schwabe, L. & Wolf, O. T. (2010).** Stress impairs the reconsolidation of autobiographical memories. *Neurobiology of Learning and Memory* **94**, 153-7.
- Squire, L. R. (1987).** The organization and neural substrates of human memory. *International Journal of Neurology* **21-22**, 218-222.
- Squire, L. R. (1992).** Memory and the hippocampus: a synthesis from findings with rats, monkeys, and humans. *Psychological Review* **99**, 195-231.
- Squire, L. R. & Bayley, P. J. (2007).** The neuroscience of remote memory. *Current Opinion in Neurobiology* **17**, 185-196.
- Storm, B. C., Bjork, E. L., Bjork, R. A. & Nestojko, J. F. (2006).** Is retrieval success a necessary condition for retrieval-induced forgetting? *Psychonomic Bulletin Reviews* **13**, 1023-1027.
- Suzuki, A., Josselyn, S. A., Frankland, P. W., Masushige, S., Silva, A. J. & Kida, S. (2004).** Memory reconsolidation and extinction have distinct temporal and biochemical signatures. *The Journal of Neuroscience* **24**, 4787-95.

- Suzuki, A., Mukawa, T., Tsukagoshi, A., Frankland, P. W. & Kida, S. (2008).** Activation of LVGCCs and CB1 receptors required for destabilization of reactivated contextual fear memories. *Learning & Memory* **15**, 426-433.
- Thoenen, H. (1995).** Neurotrophins and neuronal plasticity. *Science* **270**, 593-598.
- Tollenaar M. S., Elzinga B. M., Spinhoven P. & Everaerd W. (2009).** Immediate and prolonged effects of cortisol, but not propranolol, on memory retrieval in healthy young men. *Neurobiology of Learning and Memory* **91**, 23-31.
- Tomsic D, Romano A, Maldonado H. (1998).** Behavioral and mechanistic bases of long-term habituation in the crab *Chasmagnathus*. *Advances in Experimental Medicine and Biology* **446**, 17-35.
- Tronel, S., Milekic, M. H. & Alberini, C. M. (2005).** Linking new information to a reactivated memory requires consolidation and not reconsolidation mechanisms. *PLoS Biology* **3**, e293.
- Tulving, E. (1972).** Episodic and semantic memory. In E. Tulving & W. Donaldson (Eds.), *Organization of memory*. New York: Academic Press.
- Tulving, E. (2002).** Episodic memory: from mind to brain. *Annual Review of Psychology* **53**, 1-25.
- Walker, M. P., Brakefield, T., Hobson, J. A. & Stickgold, R. (2003).** Dissociable stages of human memory consolidation and reconsolidation. *Nature* **425**, 616-20.
- Winocur, G. (1990).** Anterograde and retrograde amnesia in rats with dorsal hippocampal or dorsomedial lesions. *Behavioral Brain Research* **38**, 145-154.
- Wixted, J. T. & Ebbesen, E. B. (1997).** Genuine power curves in forgetting: a quantitative

analysis of individual subject forgetting functions. *Memory and cognition* **25**, 731-

9.

Apéndice

APÉNDICE 1

CORRESPONDIENTE AL CAPÍTULO II

En este Apéndice encontraremos una reseña de trabajos en los cuales nos basamos para diseñar el paradigma de memoria declarativa, y una descripción de los pasos que fuimos siguiendo, así como la argumentación de la selección de los distintos parámetros y variables.

Puesta a punto del paradigma

El primer desafío al cual nos enfrentamos fue el diseño y puesta a punto del paradigma, para ello nos basamos en los experimentos realizados por Ebbinghaus (1885), continuados luego por Müller y Pilzecker (1900), en los experimentos en reconsolidación en humanos en memorias motoras de Walker y colaboradores (2003) y finalmente en los experimentos desarrollados en el Laboratorio de Neurobiología de la Memoria, IFIByNE-CONICET, FCEN-UBA en el modelo de memoria aversiva en el cangrejo *Chasmagnathus granulatus* (Maldonado, 2002; Pedreira et al., 2002; Pedreira & Maldonado, 2003; Pedreira et al., 2004).

Uno de los primeros en trabajar en memorias declarativas en humanos fue Ebbinghaus (1885). La tarea que diseñó consistía en aprender listas de sílabas sin sentido formadas por tres letras (consonante-vocal-consonante). La ventaja de trabajar con sílabas sin sentido en lugar de palabras, es evitar asociaciones previas, que unas se

aprendan mejor que otras debido al grado de familiaridad que el sujeto tuviera con las mismas, o debido al valor subjetivo que puede poseer cada palabra.

Ebbinghaus, quien era sujeto experimental de sus propios experimentos, recitaba siempre en voz alta las series de sílabas sin sentido que se proponía aprender, hasta que era capaz de recitar la serie completa, sin interrupciones, a una velocidad determinada y sin cometer errores. Siempre leía la serie entera de principio a final, sin intentar aprenderla por partes, leyendo cada sílaba siguiendo una velocidad constante. En estos experimentos demostró que el tiempo y el número de repeticiones necesarias para aprender sin errores una lista de sílabas sin sentido aumenta mucho más que la longitud de la lista que se ha de aprender, así, por ejemplo, si una lista de diez sílabas requiere diez repeticiones y diez minutos; otra de veinte sílabas necesitará mucho más de veinte minutos y más de veinte repeticiones. Una lista después de aprendida si se vuelve a aprender necesita mucho menos tiempo que cualquier otra del mismo tamaño que nunca se aprendió. La repetición de una lista larga es más eficaz cuando se realiza con períodos de descanso que cuando se hace seguido, sin descanso alguno. Y que los recuerdos no se olvidan progresiva o gradualmente. Una gran cantidad se pierde relativamente pronto, mientras que según va pasando el tiempo cada vez hay un porcentaje de pérdida menor.

Posteriormente retomaron sus experimentos de memoria Müller y Pilzecker. La metodología utilizada por estos difería en tres aspectos a la utilizada por Ebbinghaus. Primero, ellos entrenaban a los sujetos usando pares de sílabas sin sentido presentadas como pares asociados. Las listas eran leídas en voz alta enfatizando una sílaba de por medio. Para testear la memoria a los voluntarios se les presentaba como clave la primera

sílaba de cada par, en orden aleatorio y se les pedía que evocaran la segunda sílaba del par. Por ejemplo para la lista A-b-C-d-E-f (donde cada letra mayúscula representa la sílaba enfatizada del par), la respuesta correcta para las sílabas claves E, A, C serían las sílabas f, b y d. La segunda diferencia era que en lugar de contar el número de ensayos necesarios para reproducir los pares asociados correctamente, Müller y Pilzecker fijaron el número de ensayos del entrenamiento y cuantificaron la memoria determinando el porcentaje de respuestas incorrectas, correctas y fallas en la evocación. Tercero, ellos construyeron un aparato sofisticado para determinar la latencia en responder.

En el tercer trabajo en que basamos nuestro diseño experimental fue el de Walker y colaboradores publicado en el año 2003, en donde demuestran por primera vez la reconsolidación de una memoria motora en humanos. En su forma más básica el experimento se realiza en 3 días consecutivos. El primer día de aprendizaje de una tarea motora, el segundo de reexposición y aprendizaje de otra tarea motora y el tercer día de evaluación. La tarea motora consistía en el aprendizaje de una secuencia de tipeo. Los sujetos debían presionar con sus dedos de la mano no dominante una secuencia de cinco elementos tan rápido y bien como pudiesen en un ensayo de 30 segundos (secuencia X: 4-1-3-2-4; secuencia Y: 2-3-1-4-2) (Figura 1, Apéndice 1). El entrenamiento consistía en 12 ensayos consecutivos (30 segundos entre ensayo) y la evaluación en 3 ensayos consecutivos. Medían el número de secuencias completas correctamente y el número de errores cometidos en relación al número de secuencias correctas.

Finalmente, nos basamos en los experimentos en el modelo invertebrado *Chasmagnathus granulatus* desarrollados en el Laboratorio de Neurobiología de la

Memoria. En el modelo de aprendizaje contexto-señal en el cangrejo *Chasmagnathus* están caracterizados desde el punto de vista comportamental, farmacológico y molecular los procesos de consolidación, reconsolidación y de extinción (Maldonado, 2002; Pedreira et al., 2002; Pedreira & Maldonado, 2003; Pedreira et al., 2004; Merlo et al., 2005). En este paradigma de memoria asociativa contextual, la presentación reiterada de una señal de peligro (una figura pasante sobre el animal) desencadena una respuesta de escape que es reemplazada por una respuesta de inmovilidad (*freezing*) ante la presentación reiterada de la señal (Pereyra et al., 1999; 2000). Este reemplazo de la respuesta de escape por la respuesta de inmovilidad a largo término implica una asociación entre el contexto donde tiene lugar el entrenamiento y la presentación de la señal. La memoria de largo término así formada se denomina memoria contexto-señal (MCS; Maldonado, 2002). Una vez establecida esta memoria, la presentación del contexto sin la presencia de la señal puede llevar a reconsolidación o a extinción dependiendo del tiempo de exposición a dicho estímulo. En ambos casos, tanto para la reconsolidación como para la extinción, se requiere de síntesis proteica (Pedreira et al., 2002; Pedreira & Maldonado, 2003).

De estos resultados surgió la importancia de generar un contexto enriquecido, asociado a la tarea de interés, para luego presentarlo como recordatorio y poder así determinar la posibilidad de labilizar la memoria, así como la distribución de las distintas sesiones (entrenamiento, reexposición, agente interferente, sesión de evaluación). Es decir, enseñarles a los sujetos una tarea declarativa, reexponerlos a las 24 horas cuando la memoria se encontrara consolidada, e inmediatamente presentar un segundo aprendizaje

para que interfiriera con la reestabilización de la tarea de interés, y evaluar un día después presentando la tarea original.

Así fue como nuestro desafío consistió en desarrollar un paradigma para evaluar la existencia de la fase de reconsolidación de una memoria declarativa, ya que hasta el momento no se había estudiado esta fase en este tipo de memoria. El mismo debía estar formado por una tarea verbal y ésta a su vez asociada a un contexto determinado, de manera tal que pudiésemos evocar la memoria presentando elementos del contexto y evaluar así la posibilidad de labilizarla e interferirla.

Como tarea verbal utilizamos pares de sílabas sin sentido presentadas en el monitor de una computadora y como contexto asociado una combinación de estímulos visuales y sonoros.

Elección de las Sílabas

Pensamos en trabajar con pares de sílabas sin sentido en lugar de pares de palabras para evitar posibles asociaciones preexistentes en los sujetos experimentales que pudiesen afectar el resultado del experimento.

La elección de las sílabas estuvo guiada por un especialista en lenguaje. El criterio de selección se basó en la posible combinación de letras que formaran sílabas respetando la estructura fonológica del español, las sílabas sugeridas fueron las siguientes, en donde V representa una vocal y C una consonante: CCV, CCC, CVV, VVV, VVC, VCC, CVC, VCV.

Dentro de estas posibilidades se diseñaron diferentes pares para utilizar en los experimentos (Figura 2, Apéndice 1).

En lugar de trabajar con un rotor como en los experimentos de Müller y Pilzecker, las sílabas se presentaron en el monitor de una computadora ubicada a un metro de distancia del sujeto experimental (Figura 3, Capítulo I).

Cuarto experimental

Los experimentos se llevaron a cabo en un gabinete ubicado en el Hospital Italiano (Figura 5, Capítulo II). En el fondo del cuarto, detrás de la computadora se dispuso un tablero de luces de colores (4 luces rojas, 4 azules, 4 amarillas y 4 verdes) ubicadas intercaladamente (roja-azul-amarilla-verde-roja-azul-amarilla-verde, etc.). Para favorecer la iluminación del cuarto se pintaron el techo y la pared donde se ubicó el tablero de luces de color blanco, mientras que las paredes laterales de color gris. El cuarto a su vez estuvo equipado con una computadora, un teclado a través del cual los sujetos respondieron las sílabas, auriculares a través de los cuales se emitió el sonido y una lámpara para iluminar el teclado.

Experimento Preliminar: Importancia del contexto de entrenamiento

Se diseñó un primer experimento para determinar la importancia del contexto de entrenamiento en la retención de la memoria.

Para ello se realizaron dos grupos experimentales, el grupo contexto enriquecido (CTXe) y el grupo contexto pobre (CTXp). Ambos grupos debían aprender una lista de 5

pares de sílabas formada por los pares **ITE**-OBN, **NEB**-FOT, **AIC**-POA, **COS**-GLE, **ASP**-UOD (en negrita la sílaba-clave, seguida de su correspondiente sílaba-respuesta), con la diferencia de que el grupo CTXe recibía la lista en un contexto formado por la presentación de una luz roja en el fondo del cuarto, la imagen de la ciudad de Nueva York en el monitor y música de jazz por los auriculares. Mientras que el grupo CTXp recibía solo la lista en una pantalla negra y solo estaba iluminado el teclado por una lámpara especial ubicada sobre el mismo. En la Figura 3A de este Apéndice se puede ver la distribución de los estímulos en el tiempo.

En el caso del grupo CTXe, primero se presentaba la luz por 5 segundos, luego la luz más la imagen por 5 segundos más, después la luz, la imagen y la música por 10 segundos. Luego aparecía la lista de sílabas y el contexto permanecía mientras ésta se presentaba. En el primer ensayo los sujetos veían las sílabas y en los ensayos sucesivos debían completarlas. La sílaba-clave aparecía a la izquierda del monitor junto con un espacio en blanco a la derecha para que el sujeto experimental complete con la correspondiente sílaba-respuesta. Tenían 5 segundos para responder. Luego tres situaciones eran posibles: Si no respondían, aparecía en rojo la sílaba correcta por 4 segundos más. Si respondían bien, permanecía por 4 segundos más la respuesta correcta en color negro, y si respondían mal, aparecía la respuesta correcta en rojo y permanecía 4 segundos. Inmediatamente después desaparecía el par y se presentaba (en una fila por debajo) otra sílaba-clave y el espacio en blanco para la sílaba-respuesta.

En el caso del grupo CTXp se presentaba una pantalla negra sin luz de fondo por 25 segundos, y luego aparecía la lista de sílabas. Para evitar que haya una diferencia en el

nivel de atención entre los grupos, en el momento en donde debía aparecer la imagen (a los 5 segundos) a este grupo se le presentaba en la pantalla un contorno rectangular blanco.

En este primer experimento, como no sabíamos el número de ensayos que íbamos a fijar para el entrenamiento, trabajamos con el criterio utilizado por Ebbinghaus, los sujetos debían completar bien dos veces seguidas la lista para que el programa se detuviera.

La Figura 3A de este Apéndice muestra que no hay diferencia entre los grupos en el día de entrenamiento tanto para el número de ensayos ejecutados hasta llegar a criterio, ANOVA $F(1,18)=0,160$ $p=0,694$ (Figura 3A.1), como el número de errores cometido, ANOVA $F(1,18)=0,001$ $p=0,958$ (Figura 3B.2).

En el día 3, se evaluó la memoria de los pares asociados. El grupo CTXe llegó a criterio en menos ensayos que el grupo CTXp, ANOVA $F(1,18)=5,285$ $p=0,036$ (Figura 3B.1). Al observar el número de errores hasta alcanzar el criterio, se ve claramente como el grupo CTXp comete más errores que el grupo CTXe, $F(1,18)=7,840$ $p=0,013$ (Figura 3B.2). Este resultado estaría indicando que el contexto es de fundamental importancia para la retención y/o evocación de la memoria verbal.

A su vez, dado que para llegar a criterio los sujetos debían resolver correctamente toda la lista dos veces consecutivas, el tiempo para resolver la tarea podía variar considerablemente de un sujeto a otro, pudiendo llegar a durar una sesión de entrenamiento desde 20 minutos a 1 hora por ello fijamos el número de ensayos tanto para el entrenamiento como para la sesión de evaluación. Basados en los resultados del

primer experimento fijamos en 10 ensayos el entrenamiento ya que el 85% de los sujetos tenía un nivel de aprendizaje del 80% de respuestas correctas.

Para fortalecer la asociación entre el contexto y la tarea verbal decidimos incorporar al diseño contextos que nunca estuviesen asociados a la lista (contextos incorrectos) y un único contexto siempre asociado (contexto correcto). De esta manera podíamos cuantificar el reconocimiento del contexto asociado a través de las teclas de expectativa. Los sujetos debían presionar la tecla roja correspondiente a “SI” cuando consideraban que ese contexto se asociaba a la lista o “NO” en el caso contrario. Asimismo, con esta tarea nos asegurábamos de que tuviesen un nivel de atención constante a lo largo del experimento.

APÉNDICE 2

CORRESPONDIENTE AL CAPÍTULO III

En esta sección se detalla el análisis y las figuras de los entrenamientos del Capítulo III.

Experimento 2

La Figura 1 muestra uniformidad en los entrenamientos de los grupos Con(A), Con(B), CTL1(Con) y CTL2(Con) para L1 (Figura 1A) y L2 (Figura 1B), ANOVA de medidas repetidas, interacción L1: $F(16,216)=0,356$ $p=0,990$; grupos L1: $F(2,27)=0,08$ $p=0,920$; interacción L2: $F(16,216)=0,624$ $p=0,863$; grupos L2: $F(2,27)=1,471$ $p=0,248$. Así como tampoco se hallaron diferencias en los últimos cuatro ensayos del entrenamiento [Figura 1A *inset*, $F(2,27)=0,096$ $p=0,908$; Figura 1B *inset*, $F(2,27)=1,938$ $p=0,164$].

Experimento 3

La Figura 2 muestra uniformidad en los entrenamientos de los grupos R(A), R(B), CTL1(R) y CTL2(R) para L1 (Figura 2A) y L2 (Figura 2B), ANOVA de medidas repetidas, interacción L1 $F(16,216)=0,726$ $p=0,766$; grupos L1: $F(2,27)=0,167$ $p=0,847$; interacción L2: $F(16,216)=1,179$ $p=0,287$; grupos L2: $F(2,27)=0,684$ $p=0,513$. Así como tampoco se

hallaron diferencias en los últimos cuatro ensayos del entrenamiento [Figura 1A *inset*, $F(2,27)=0,203$ $p=0,818$; Figura 1B *inset*, $F(2,27)=0,228$ $p=0,797$].

Experimento 4

La Figura 3 muestra uniformidad en los entrenamientos de los grupos R6(A), R6(B), CTL1(R6) y CTL2(R6) para L1 (Figura 3A) y L2 (Figura 3B), ANOVA de medidas repetidas, interacción L1: $F(16,216)=0,329$ $p=0,994$; grupos L1: $F(2,27)=0,098$ $p=0,907$; interacción L2: $F(16,216)=0,551$ $p=0,917$; grupos L2: $F(2,27)=0,485$. Así como tampoco se hallaron diferencias en los últimos cuatro ensayos del entrenamiento [Figura 3A *inset*, $F(2,27)=0,062$ $p=0,940$; Figura 3B *inset*, $F(2,27)=1,231$ $p=0,308$].

Experimento 5

La Figura 4 muestra uniformidad en los entrenamientos de los grupos R10(A), R10(B), CTL1(R10) y CTL2(R10) para L1 (Figura 4A) y L2 (Figura 4B), ANOVA de medidas repetidas, interacción L1: $F(16,216)=0,624$ $p=0,862$; grupos L1: $F(2,27)=3,063$ $p=0,063$; interacción L2: $F(16,216)=0,495$ $p=0,948$; grupos L2: $F(2,27)=0,733$ $p=0,490$. Así como tampoco se hallaron diferencias en los últimos cuatro ensayos del entrenamiento [Figura 4A *inset*, $F(2,273,303)=0,059$; Figura 4B *inset*, $F(2,27)=1,713$ $p=0,199$].

Experimento 6

La Figura 5 muestra uniformidad en los entrenamientos de los grupos NR48, CTL1(NR48) y CTL2(NR48) para L1 (Figura 5A) y L2 (Figura 5B), ANOVA de medidas repetidas, interacción L1: $F(8,144)=0,411$ $p=0,913$; grupos L1: $F(1,18)= 0,119$ $p=0,734$; interacción L2: $F(8,144)=0,719$ $p=0,675$; grupos L2: $F(1,18)= 0,463$ $p=0,505$. Así como tampoco se hallaron diferencias en los últimos cuatro ensayos del entrenamiento [Figura 5A *inset*, $F(1,18)= 0,338$ $p=0,568$; Figura 5B *inset*, $F(1,18)= 0,435$ $p=0,518$].

Experimento 7

La Figura 6 muestra uniformidad en los entrenamientos de los grupos R48, CTL1(R48) y CTL2(R48) para L1 (Figura 6A) y L2 (Figura 6B), ANOVA de medidas repetidas, interacción L1: $F(8,144)=0,698$ $p=0,693$; grupos L1: $F(1,18)= 0,116$ $p=0,738$; interacción L2: $F(8,144)=0,612$ $p=0,767$; grupos L2: $F(1,18)= 1,783$ $p=0,198$. Así como tampoco se hallaron diferencias en los últimos cuatro ensayos del entrenamiento [Figura 6A *inset*, $F(1,18)= 0,015$ $p=0,903$; Figura 6B *inset*, $F(1,18)= 1,358$ $p=0,259$].

APÉNDICE 3

CORRESPONDIENTE AL CAPÍTULO IV

En esta sección se detalla el análisis y las figuras de los entrenamientos del Capítulo IV.

Experimento 1

La Figura 1 muestra uniformidad en los entrenamientos de los grupos NR y sus controles para L1 [ANOVA de medidas repetidas, interacción: $F(8,192)=0,914$ $p=0,506$; grupos: $F(1,24)=0,195$ $p=0,663$], y para L2 [ANOVA de medidas repetidas, interacción: $F(8,192)=0,927$ $p=0,496$; grupos: $F(1,24)=1,099$ $p=0,305$]. Así como tampoco se hallaron diferencias para L1 ni L2 en los últimos cuatro ensayos del entrenamiento [inset Figura 1A y 1B, $F(1,24)=0,021$ $p=0,885$; $F(1,24)=0,897$ $p=0,353$ respectivamente].

Experimento 2

La Figura 2 muestra uniformidad en los entrenamientos de los grupos R_c y sus controles para L1 [ANOVA de medidas repetidas, interacción: $F(8,192)=0,914$ $p=0,506$; grupos: $F(1,24)=0,018$ $p=0,894$], y para L2 [ANOVA de medidas repetidas, interacción: $F(8,192)=0,382$ $p=0,929$; grupos: $F(1,24)=1,000$ $p=0,327$]. Así como tampoco se hallaron

diferencias para L1 ni L2 en los últimos cuatro ensayos del entrenamiento [*inset* Figura 2A y 2B, $F(1,24)=0,095$ $p=0,903$; $F(1,24)=0,689$ $p=0,415$ respectivamente].

Experimento 3

La Figura 3 muestra uniformidad en los entrenamientos de los grupos R_{ctx} y sus controles para L1 [ANOVA de medidas repetidas, interacción: $F(8,192)=0,737$ $p=0,659$; grupos: $F(1,24)=0,231$ $p=0,635$] y para L2 [ANOVA de medidas repetidas, interacción: $F(8,192)=0,211$ $p=0,989$; grupos: $F(1,24)=0,826$ $p=0,372$]. Así como tampoco se hallaron diferencias para L1 ni L2 en los últimos cuatro ensayos del entrenamiento [*inset* Figura 3A y 3B, $F(1,24)=0,275$ $p=0,605$; $F(1,24)=0,536$ $p=0,471$ respectivamente].

Experimento 4

La Figura 4 muestra uniformidad en los entrenamientos de los grupos R_{c-r} y sus controles para L1 [ANOVA de medidas repetidas, interacción: $F(8,192)=0,265$ $p=0,976$; grupos: $F(1,24)=0,017$ $p=0,899$], y para L2 [ANOVA de medidas repetidas, interacción: $F(8,192)=0,253$ $p=0,980$; grupos: $F(1,24)=0,156$ $p=0,693$]. Así como tampoco se hallaron diferencias para L1 ni L2 en los últimos cuatro ensayos del entrenamiento [*inset* Figura 4A y 4B, $F(1,24)=0,009$ $p=0,926$; $F(1,24)<0,001$ $p=1,000$ respectivamente].

APÉNDICE 4

CORRESPONDIENTE AL CAPÍTULO V

En esta sección se detalla el análisis estadístico y las figuras de los entrenamientos del Capítulo V.

Experimento 1

La Figura 1 muestra uniformidad en los entrenamientos de los grupos R_c , $R_c \times 2$ y $R_c \times 4$ [ANOVA de medidas repetidas, interacción: $F(16,288)=0,885$ $p=0,587$; grupos: $F(2,36)=0,452$ $p=0,640$]. Así como tampoco se hallaron diferencias en los últimos cuatro ensayos del entrenamiento [Figura 1 *inset*, $F(2,36)=1,043$ $p=0,361$].

Experimento 1 Adicional

La Figura 2A muestra el protocolo experimental de los grupos no-recordatorio y recordatorio clave. Se observó uniformidad en los entrenamientos de lo éstos grupos, ANOVA de medidas repetidas, interacción: $F(8,144)=0,744$ $p=0,642$; grupos: $F(1,18)=0,010$ $p=0,922$]. Así como tampoco se hallaron diferencias en los últimos cuatro ensayos del entrenamiento [Figura 3 *inset*, $F(1,18)=0,245$ $p=0,628$]. A su vez, tampoco se encontraron diferencias durante la sesión de evaluación ANOVA $F(1,18)=0,039$ $p=0,845$.

Experimento 2

La Figura 3 muestra uniformidad en los entrenamientos de los grupos R_c y $R_{c-r} \times 2$ [ANOVA de medidas repetidas, interacción: $F(8,144)=0,641$ $p=0,743$; grupos: $F(1,18)=0,005$ $p=0,943$]. Así como tampoco se hallaron diferencias en los últimos cuatro ensayos del entrenamiento [Figura 3 *inset*, $F(1,18)=0,240$ $p=0,630$].

Experimento 3

La Figura 4 muestra uniformidad en los entrenamientos de los grupos R_c -CT y $R_c \times 2$ -CT [ANOVA de medidas repetidas, interacción: $F(8,144)=0,876$ $p=0,539$; grupos: $F(1,18)=0,010$ $p=0,923$]. Así como tampoco se hallaron diferencias en los últimos cuatro ensayos del entrenamiento [Figura 4 *inset*, $F(1,18)=0,067$ $p=0,798$].

Experimento 4

La Figura 5 muestra uniformidad en los entrenamientos de los grupos R_c -d4 y $R_c \times 2$ -d4 [ANOVA de medidas repetidas, interacción: $F(8,176)=1,611$ $p=0,125$; grupos: $F(1,22)=0,815$ $p=0,376$]. Así como tampoco se hallaron diferencias en los últimos cuatro ensayos del entrenamiento [Figura 5 *inset*, $F(1,22)=1,158$ $p=0,294$].

Experimento 5

La Figura 6 muestra uniformidad en los entrenamientos de los grupos $R_c \times 2$, $R_c \times 2-2h$ y $R_c R_{ctx} \times 2h$ [ANOVA de medidas repetidas, interacción: $F(16,216)=0,307$ $p=0,996$; grupos: $F(2,27)=0,612$ $p=0,550$]. Así como tampoco se hallaron diferencias en los últimos cuatro ensayos del entrenamiento [Figura 6 *inset*, $F(2,27)=0,506$ $p=0,608$].

APÉNDICE 5

CORRESPONDIENTE AL CAPÍTULO VI

En esta sección se detalla el análisis estadístico y las figuras de los entrenamientos del Capítulo VI.

Grupos principales

La Figura 1 muestra uniformidad en los entrenamientos de los grupos principales R_c , NR, R_{c-r} y NI [ANOVA de medidas repetidas, interacción: $F(24,352)=0,922$ $p=0,572$; grupos: $F(3,44)=0,735$ $p=0,537$]. Así como tampoco se hallaron diferencias en los últimos cuatro ensayos del entrenamiento [Figura 1 inset, $F(3,44)=0,433$ $p=0,730$]. De esta manera nos aseguramos de que las diferencias en la sesión de evaluación se deben a diferencias en los tratamientos recibidos y no a diferencias en los niveles de aprendizaje.

Grupo recordatorio vs. control recordatorio

La Figura 2 muestra uniformidad en los entrenamientos de los grupos recordatorio clave y su respectivo control [ANOVA de medidas repetidas, interacción: $F(8,144)=0,969$ $p=0,463$; grupos: $F(1,18)=1,778$ $p=0,197$]. Así como tampoco se hallaron diferencias en los últimos cuatro ensayos del entrenamiento [Figura 1 inset, $F(1,18)=0,074$ $p=0,788$].

Grupo no-recordatorio vs. control no-recordatorio

La Figura 3 muestra uniformidad en los entrenamientos de los grupos no-recordatorio y su respectivo control [ANOVA de medidas repetidas, interacción: $F(8,144)=1,748$ $p=0,100$; grupos: $F(1,18)=1,778$ $p=0,580$]. Así como tampoco se hallaron diferencias en los últimos cuatro ensayos del entrenamiento [Figura 1 inset, $F(1,18)=0,128$ $p=0,724$].

Grupo recordatorio clave-respuesta vs. control recordatorio clave-respuesta

La Figura 4 muestra uniformidad en los entrenamientos de los grupos recordatorio clave-respuesta y su respectivo control [ANOVA de medidas repetidas, interacción: $F(8,144)=866$ $p=0,547$; grupos: $F(1,18)=0,037$ $p=0,850$]. Así como tampoco se hallaron diferencias en los últimos cuatro ensayos del entrenamiento [Figura 1 inset, $F(1,18)=0,007$ $p=0,936$].

Grupo no-instrucción vs. control no-instrucción

La Figura 5 muestra uniformidad en los entrenamientos de los grupos no-instrucción y su respectivo control [ANOVA de medidas repetidas, interacción: $F(8,144)=1,181$

$p=0,313$; grupos: $F(1,18)=0,068$ $p=0,797$]. Así como tampoco se hallaron diferencias en los últimos cuatro ensayos del entrenamiento [Figura 1 inset, $F(1,18)=0,194$ $p=0,664$].

APÉNDICE 6

Respuestas de los sujetos durante el día de reexposición al recordatorio y aclaraciones en cuanto al tipo de recordatorio recibido

Es importante destacar que a los sujetos que recibieron el recordatorio durante la sesión de tratamiento, se les registró la respuesta en cuanto a la tarea de predicción (Capítulos III, IV, V y VI) y a la tarea verbal (Capítulo IV, V y VI). En todos los Capítulos, en todos los tipos de recordatorio los grupos respondieron el bien 100% de las veces, en cuanto a la tarea de predicción, es decir, que reconocían correctamente al contexto asociado a la lista.

En cuanto a la tarea verbal, los únicos grupos a los cuales el programa les permitía responder fueron a los que recibieron el recordatorio clave-respuesta. Recordemos como era la estructura de este ensayo: comenzaba con la presentación del contexto correcto, los sujetos daban su respuesta de predicción a través de las teclas de expectativa (SI-NO) luego se presentaba una sílaba-clave y se les permitía completar con la correspondiente sílaba-respuesta. Un detalle importante de este recordatorio, fue que la respuesta dada por los sujetos no era corregida por el programa. Es decir, la sílaba-respuesta que ellos escribían permanecía en color negro aún si habían escrito una sílaba incorrecta. Para los Capítulos IV y V, el %100 de las veces los grupos respondieron la sílaba correcta. Por el contrario, en el Capítulo VI, el 70% (7 de 10 sujetos) respondieron la sílaba correctamente. Igualmente, el resultado del día 3 de los 3 sujetos que respondieron mal en el día 2, no alteraba el número medio de errores totales del grupo por lo que fueron incluidos en el análisis.

Sílaba-Clave utilizada como parte del recordatorio

En todos los Capítulos se utilizó la misma sílaba-clave como parte del recordatorio clave y recordatorio clave-respuesta (ITE). En el caso del Capítulo VI, en el cual se presentaron recordatorios sucesivos, cabe destacar que también se usó siempre la misma sílaba como recordatorio. De este diseño puede desprenderse una interpretación alternativa. Podría estar sucediendo que los pares de sílabas se almacenen como cinco memorias diferentes y el recordatorio clave presentado sucesivas veces esté desencadenando solo la extinción del par ITE-OBN. Para descartar esa posible interpretación, analizamos el número de errores cometido para este par por los grupos R, R_cx2 y R_cX4. Si esta visión alternativa fuese correcta, se encontraría un mayor número de errores para este par en los grupos R_cx4 y R_cx2. Sin embargo no se observa esta diferencia, dejando mayor evidencia de que los pares se almacenan como una única memoria y la mejora se produce sobre la lista completa (media del total de errores en OBN para R_c: 0,48 +/- 0,14; para R_cx2: 0,23 +/- 0,12; para R_cx4: 0,38 +/- 0,21; ANOVA, F(2,36)=0,512 p=0,603).

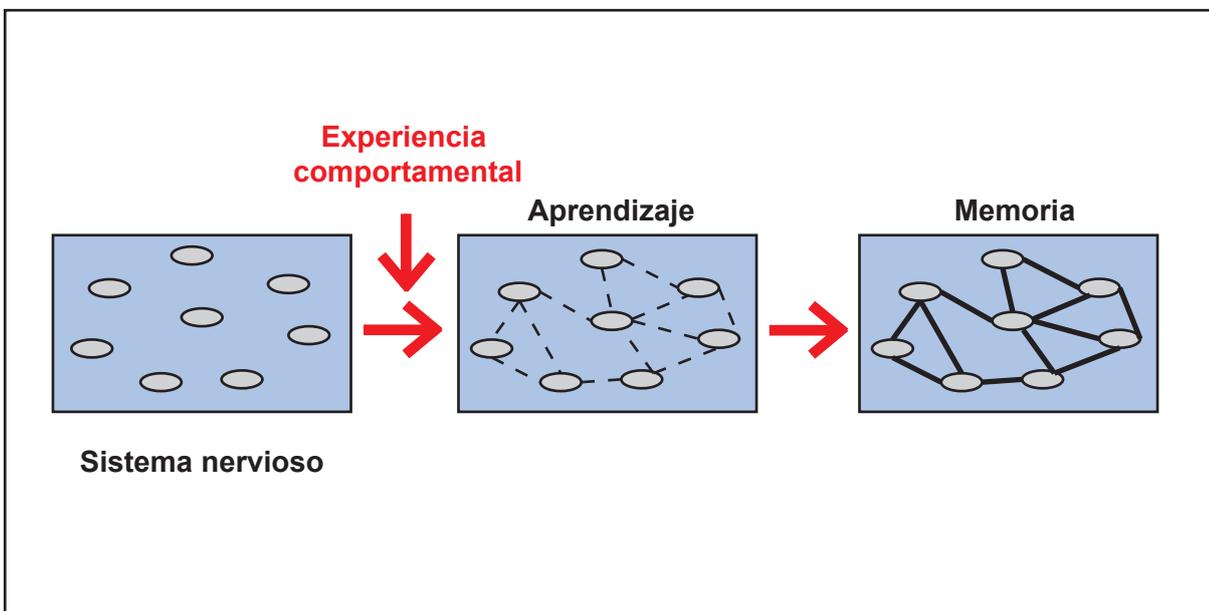


FIGURA 1. Esquema ejemplificando la teoría de la traza mnésica. La experiencia comportamental codificada en circuitos neuronales.

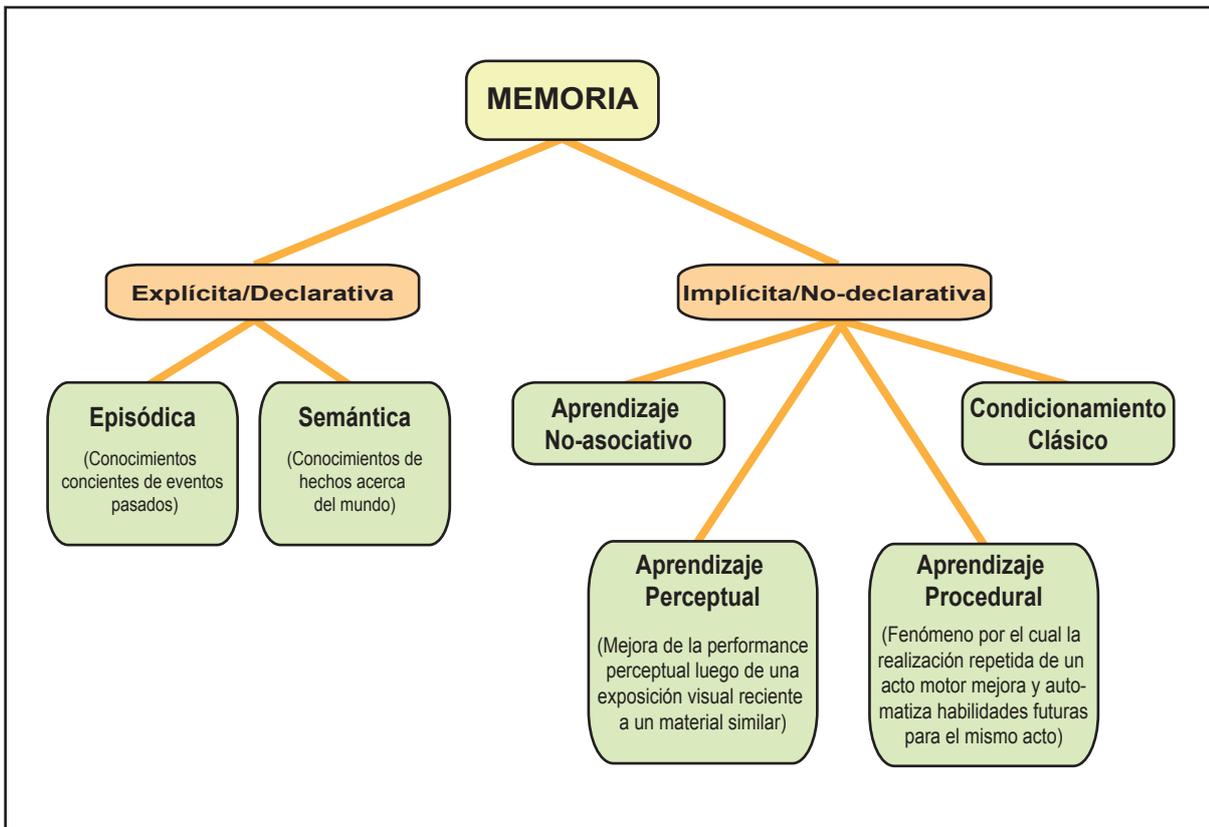


FIGURA 2: Taxonomía de los sistemas de memoria (adaptado de Milner et al., 1998).

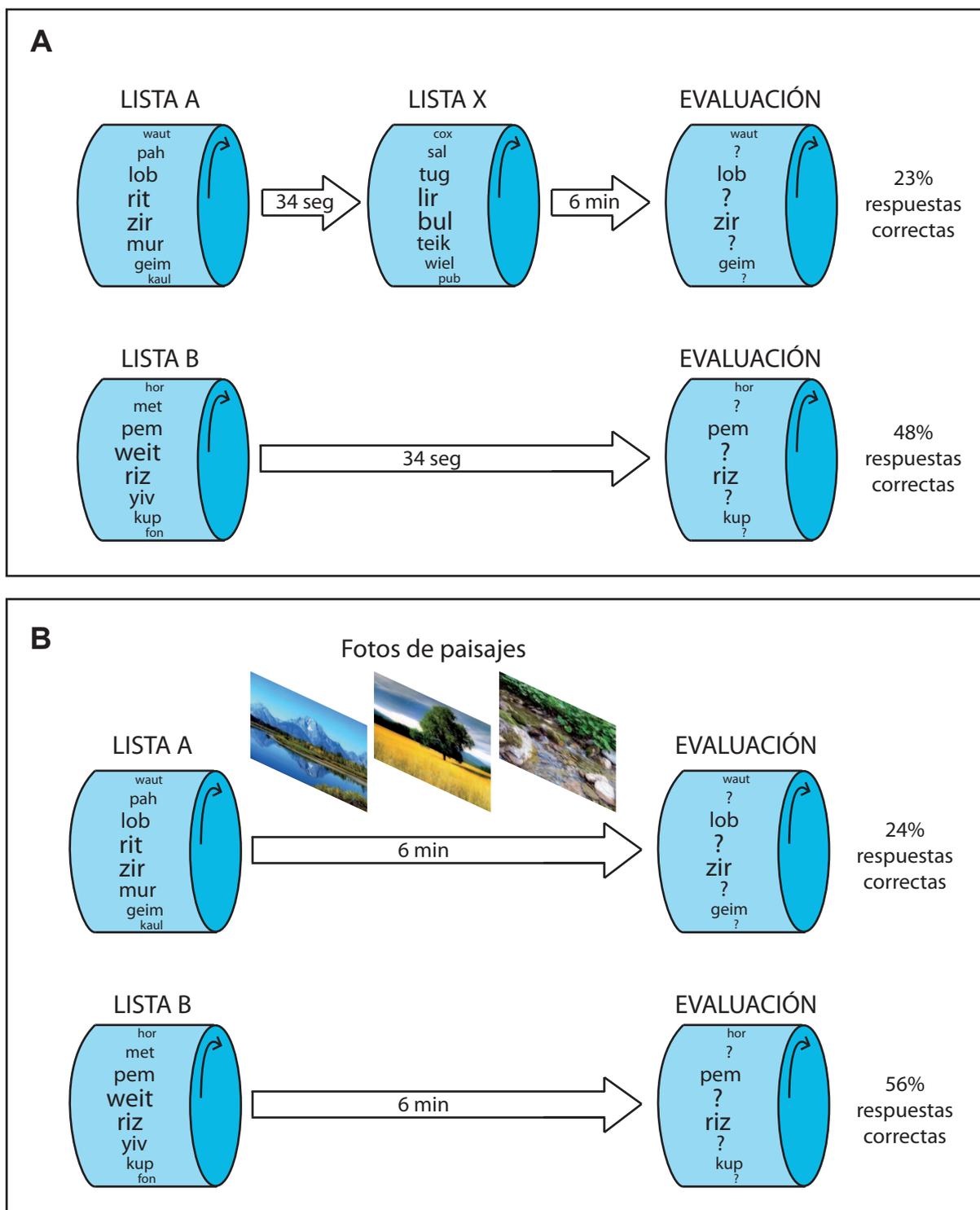


FIGURA 3: Diseño experimental de los experimentos realizados por Müller y Pilzecker. **A)** una lista de 12 sílabas era montada en un tambor rotatorio y leída en voz alta. Los sujetos recibían 8 ensayos de entrenamiento de la lista A seguido por 8 ensayos de la lista X. La retención era evaluada a los 6 min y comparada con la retención de una tercera lista B. La retención de la lista A era menor que la lista B. **B)** Luego del aprendizaje de la lista A se les presentaba a los sujetos fotos de paisajes, a los 6 minutos se volvía a evaluar la lista A, mostrando una performance menor que el grupo que no recibía las fotografías. Material no relacionado al original podría interferir el proceso (modificado de Lechner et al., 1999)

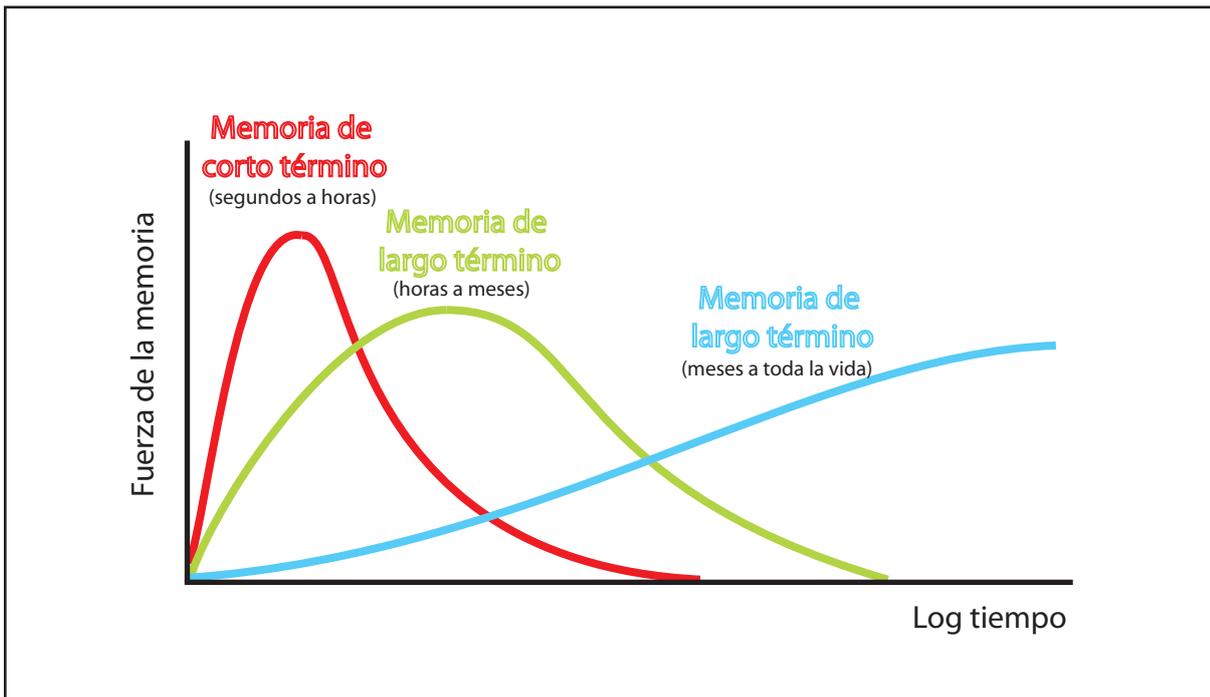


FIGURA 4: Tipos de memoria. La evidencia de que tratamientos con drogas pueden bloquear selectivamente tanto memorias a corto plazo (segundos a horas) o memorias a largo plazo (horas a meses) sugieren que los estados dependientes del tiempo se basan en procesos independientes que actúan en paralelo. Siguiendo estados de consolidación resultan en memorias que pueden durar toda la vida y parecen involucrar interacciones de sistemas cerebrales en organizar y estabilizar conexiones distribuidas (modificado de McGaugh, 2000).



FIGURA 5: Cuarto experimental. Distribución del equipo utilizado en los experimentos.

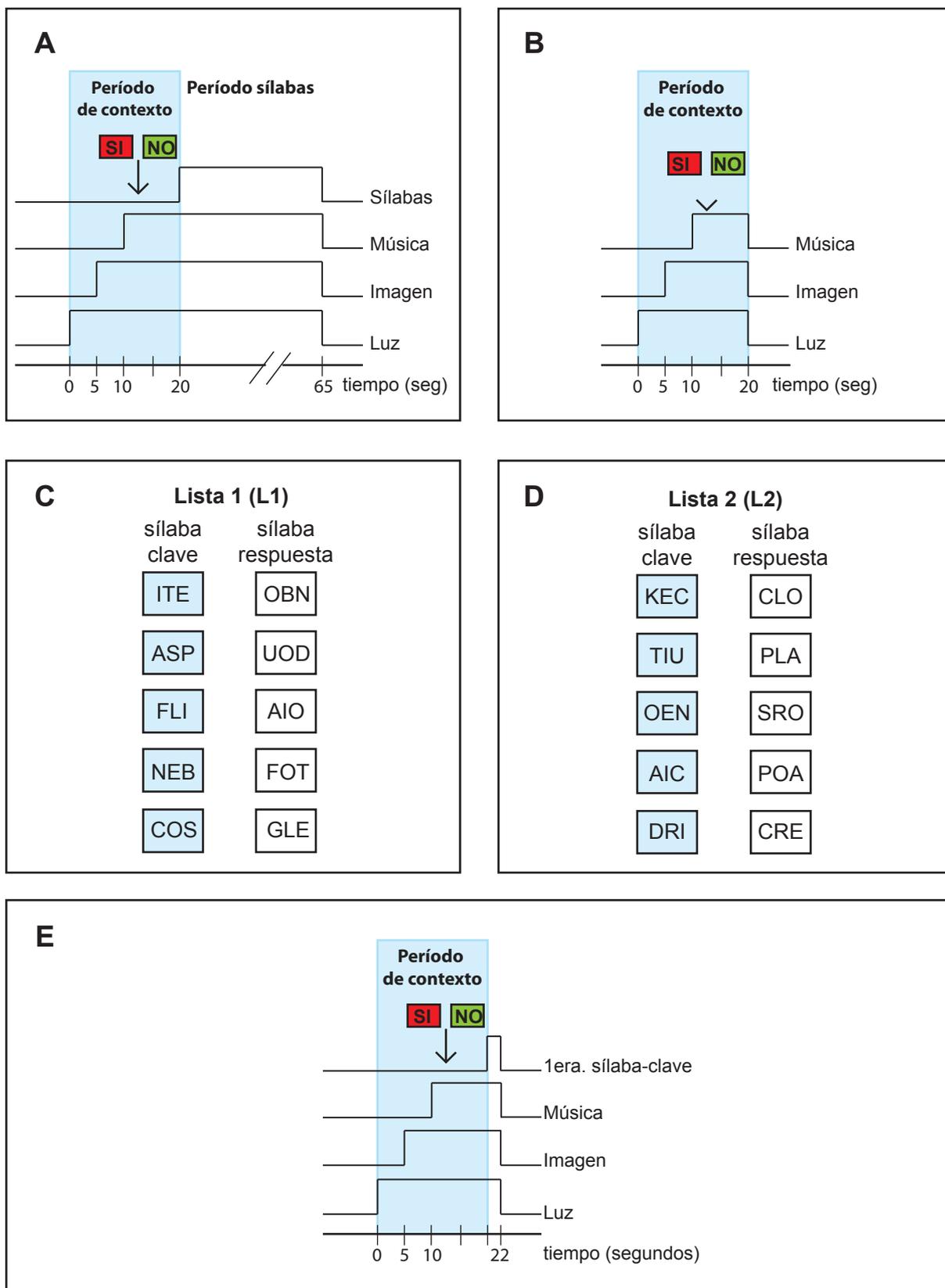


FIGURA 6: Protocolo experimental. A) Ensayo correcto. El mismo comenzaba con la presentación de la luz, imagen y música, a los 13 segundos aparecían en la parte inferior del monitor un cuadrado rojo que decía SI y un cuadrado verde que decía NO. En ese momento los sujetos debían responder a través del teclado si consideraban o no que ese contexto era el que se asociaba a la lista. A los 20 segundos comenzaba la presentación de los pares de sílabas. **B) Ensayo falso.** Estaban formados por combinaciones de luz, imagen y músicas que nunca acompañaban a la lista. **C) Lista 1. D) Lista 2. E) Recordatorio.** El mismo estuvo formado por la presentación del contexto correcto, luego se presentaba la primer sílaba clave por 2 segundos y el ensayo era interrumpido sin permitirles a los sujetos responder con la correspondiente sílaba-repuesta.

A

EXPERIMENTO-1	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3
Grupo NR(A)	TRL1	TRL2	TSL1—TSL2
Grupo NR(B)	TRL1	TRL2	TSL2—TSL1
Grupo CTL1(NR)	TRL1	---	TSL1
Grupo CTL2(NR)	---	TRL2	TSL2

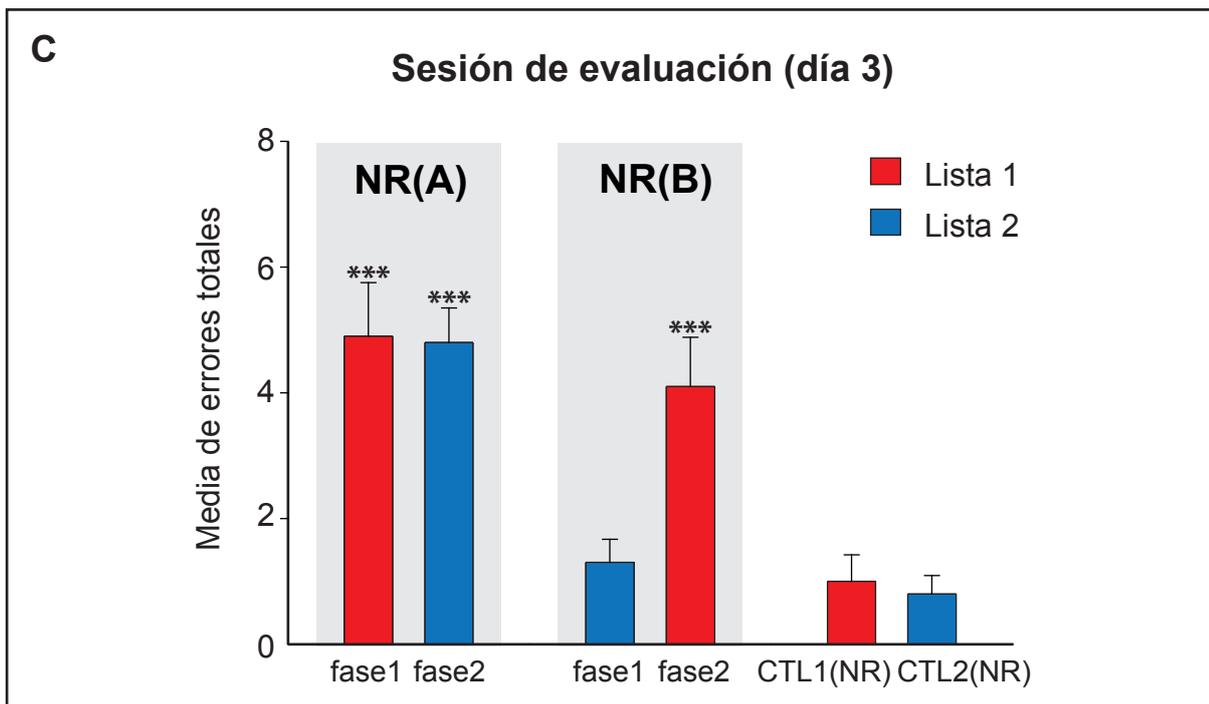
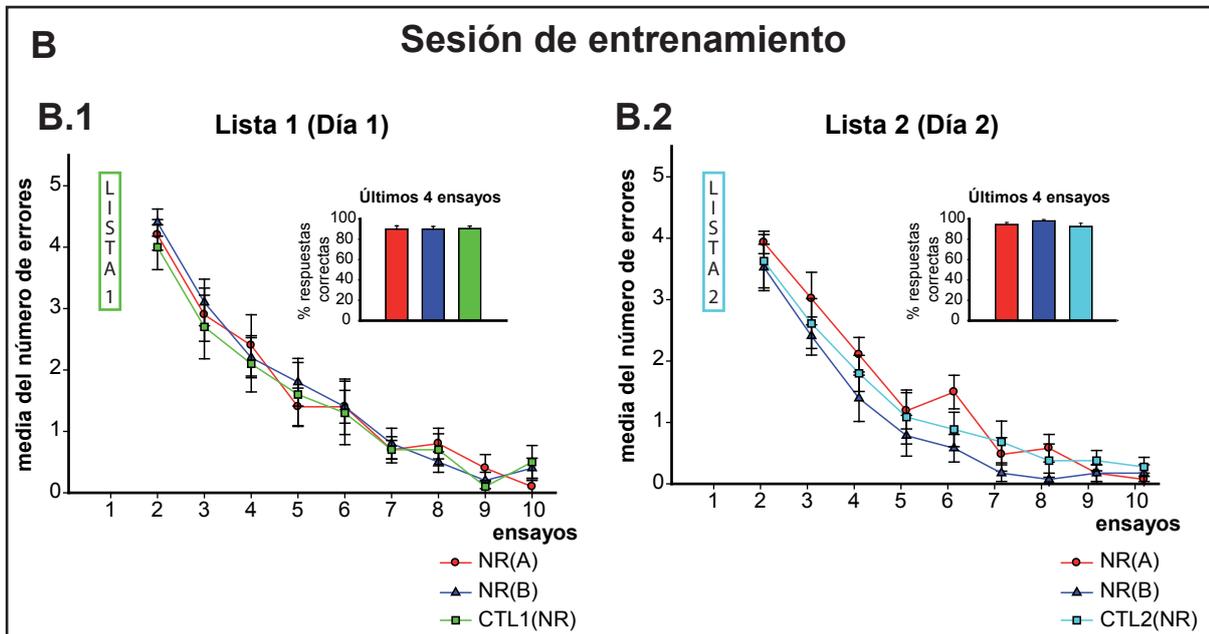


FIGURA 7. Experimento 1 (n=10). Interacción entre memorias en el momento de la evocación. A) Protocolo experimental correspondiente a los grupos no-recordatorio A, B y sus respectivos controles. TRL1 representa al entrenamiento 1, TRL2 al entrenamiento 2, TSL1 y TSL2 a la evaluación de L1 y L2 respectivamente. **B)** Sesión de entrenamiento. **B.1)** Curva de aprendizaje de la Lista 1. **B.2)** Curva de aprendizaje de la Lista 2. **C)** Sesión de evaluación. Media de errores totales +/- SEM en el día 3. NR(A) y NR(B) representan al grupo no-recordatorio A, y B respectivamente; CTL1(NR) al grupo control-L1, y CTL2(NR) al grupo control-L2. Las barras rojas corresponden a la lista 1 y las barras azules a la lista 2. Fase 1 representa a la lista que fue evaluada en primer lugar; fase 2, a la lista evaluada en segundo lugar. *******, $p < 0,001$

A

EXPERIMENTO-2	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3
Grupo Con(A)	TRL1 —TRL2	---	TSL1 —TSL2
Grupo Con(B)	TRL1 —TRL2	---	TSL2 —TSL1
Grupo CTL1(Con)	TRL1	---	TSL1
Grupo CTL2(Con)	TRL2	---	TSL2

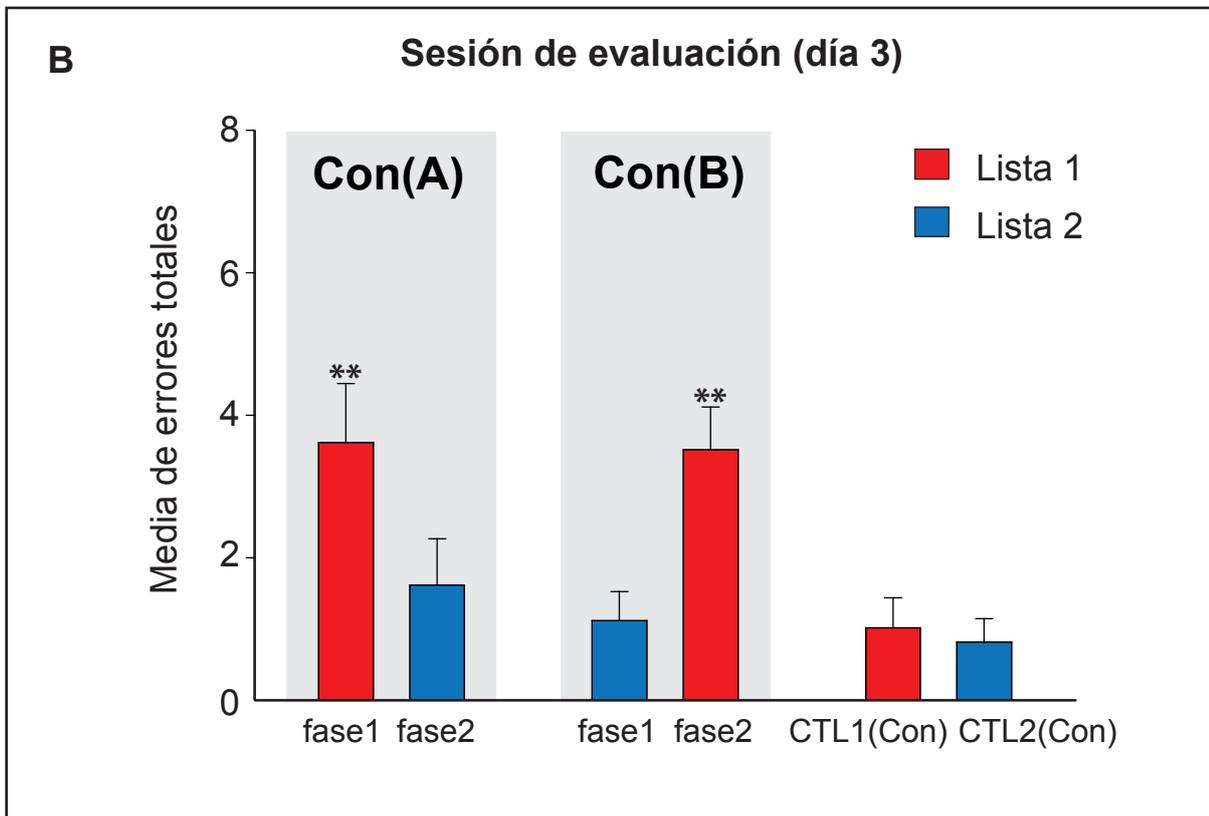


FIGURA 8. Experimento 2 (n=10). Interferencia en la consolidación de la memoria. A) Protocolo experimental correspondiente a los grupos consolidación A, B y sus respectivos controles. TRL1, TRL2, TSL1 y TSL2 igual al protocolo de la Figura 7. **B)** Sesión de evaluación. Media de errores totales +/- SEM en el día 3. Con(A) y Con(B) representan al grupo consolidación A y B respectivamente; CTL1(Con) al grupo control-L1, y CTL2(Con) al grupo control-L2. Símbolos, igual que en la Figura 7. **, $p < 0,01$.

A

EXPERIMENTO-3	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3
Grupo R(A)	TRL1	R—TRL2	TSL1—TSL2
Grupo R(B)	TRL1	R—TRL2	TSL2—TSL1
Grupo CTL1(R)	TRL1	R	TSL1
Grupo CTL2(R)	---	TRL2	TSL2

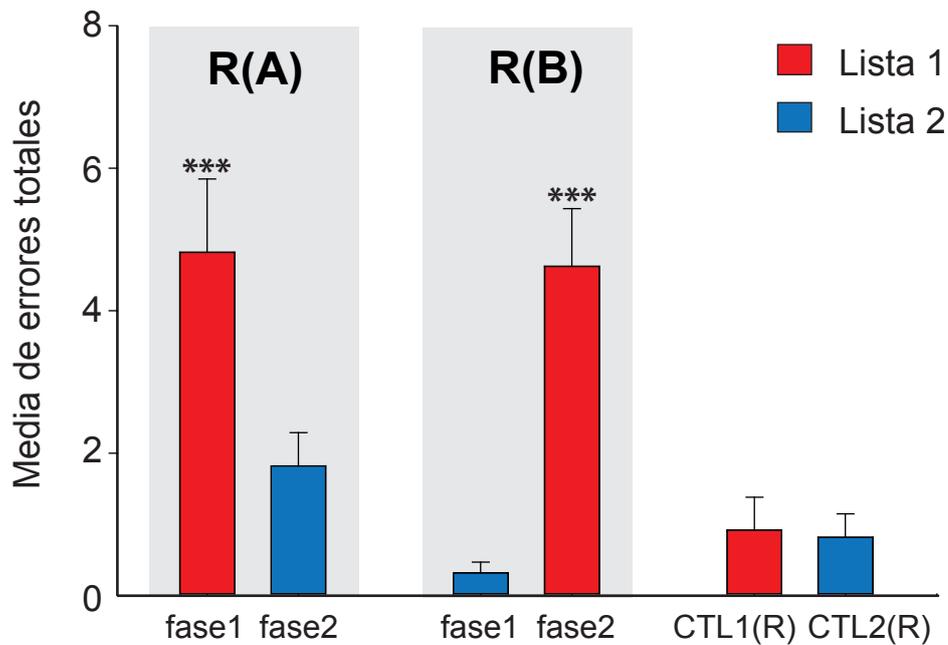
B**Sesión de evaluación (día 3)**

FIGURA 9. Experimento 3 (n=10). Interferencia en la reconsolidación de la memoria. A) Protocolo experimental correspondiente a los grupos recordatorio A, B y sus respectivos controles. TRL1, TRL2, TSL1 y TSL2 igual al protocolo de la Figura 7. R, corresponde al recordatorio. **B)** Sesión de evaluación. Media de errores totales +/- SEM en el día 3. R(A) y R(B) representan al grupo recordatorio A, y B respectivamente; CTL1(R) al grupo control-L1, y CTL2(R) al grupo control-L2. Símbolos igual que en la Figura 7. ***, p<0,001.

A

EXPERIMENTO-4	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3
Grupo R6(A)	TRL1	R ^{6hs} TRL2	TSL1—TSL2
Grupo R6(B)	TRL1	R ^{6hs} TRL2	TSL2—TSL1
Grupo CTL1(R6)	TRL1	R	TSL1
Grupo CTL2(R6)	---	TRL2	TSL2

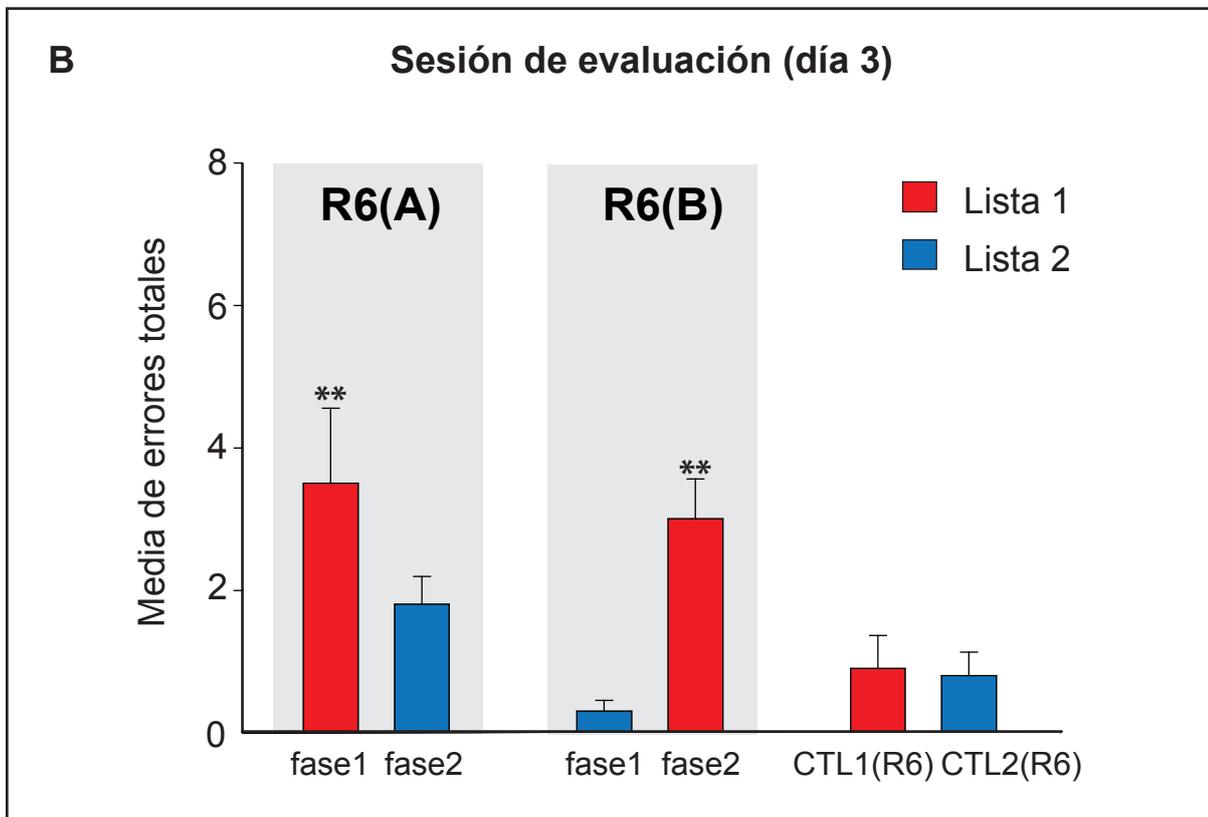


FIGURA 10. Experimento 4 (n=10). Ventana temporal de la reconsolidación (6 horas). A) Protocolo experimental correspondiente a los grupos recordatorio 6 horas A, B y sus respectivos controles. TRL1, R, TRL2, TSL1 y TSL2 igual al protocolo de la Figura 9. 6hs, representa el intervalo de 6 horas entre la presentación del recordatorio y el entrenamiento-L2. **B)** Sesión de evaluación. Media de errores totales +/- SEM en el día 3. R6(A) y R6(B) representan al grupo recordatorio 6 horas A, y B respectivamente; CTL1(R6) al grupo control-L1, y CTL2(R6) al grupo control-L2. Símbolos igual que en la Figura 9. **, p<0,01.

A

EXPERIMENTO-5	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3
Grupo R10(A)	TRL1	R ^{10hs} TRL2	TSL1—TSL2
Grupo R10(B)	TRL1	R ^{10hs} TRL2	TSL2—TSL1
Grupo CTL1(R10)	TRL1	R	TSL1
Grupo CTL2(R10)	---	TRL2	TSL2

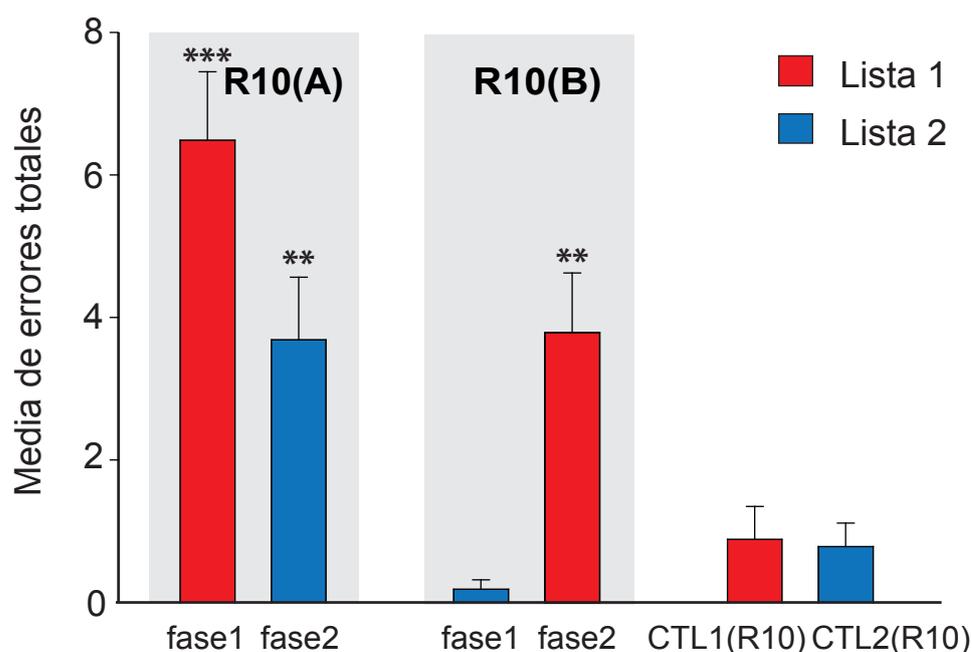
B**Sesión de evaluación (día 3)**

FIGURA 11. Experimento 5 (n=10). Ventana temporal de la reconsolidación (10 horas). **A)** Protocolo experimental correspondiente a los grupos recordatorio 10 horas A, B y sus respectivos controles. TRL1, R, TRL2, TSL1 y TSL2 igual al protocolo de la Figura 9. 10hs, representa el intervalo de 10 horas entre la presentación del recordatorio y el entrenamiento-L2. **B)** Sesión de evaluación. Media de errores totales +/- SEM en el día 3. R10(A) y R10(B) representan al grupo recordatorio 10 horas A, y B respectivamente; CTL1(R10) al grupo control-L1, y CTL2(R10) al grupo control-L2. Símbolos igual que en la Figura 9. ***, p<0,001; **, p<0,01.

A	EXPERIMENTO-6				
	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 4	
Grupo NR48	TRL1	TRL2	---	TSL1—TSL2	
Grupo CTL1(NR48)	TRL1	---	---	TSL1	
Grupo CTL2(NR48)	---	TRL2	---	TSL2	

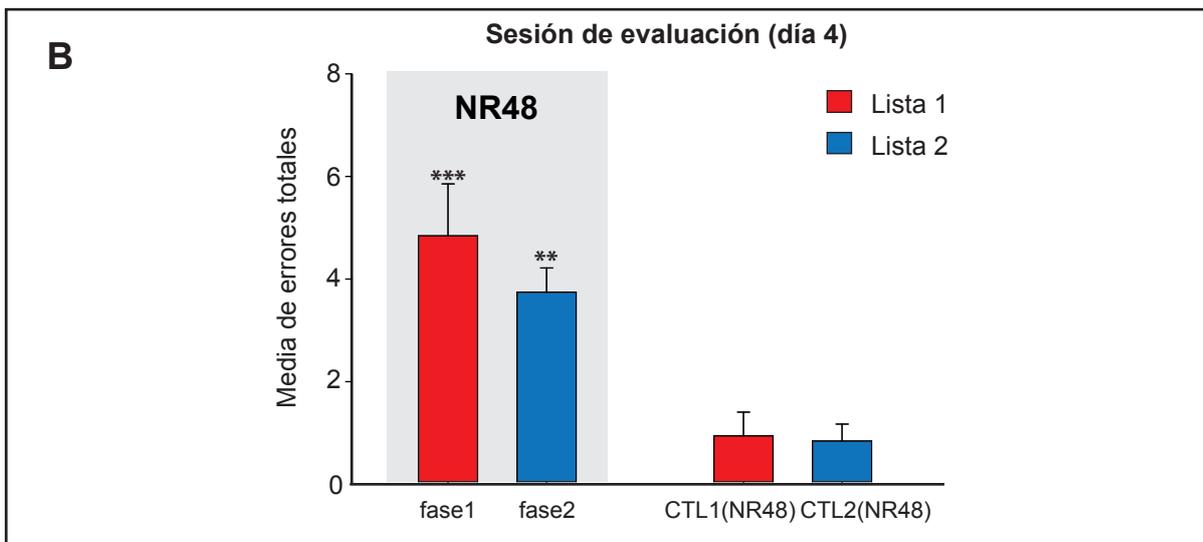


FIGURA 12. Experimento 6 (n=10). ¿Interferencia en la reconsolidación o facilitación de la extinción? **A)** Protocolo experimental correspondiente a los grupos no-recordatorio 48 horas y sus respectivos controles. TRL1, TRL2, TSL1 y TSL2 igual al protocolo de la Figura 7. **B)** Sesión de evaluación. Media de errores totales +/- SEM en el día 4. NR48 representa al grupo no-recordatorio 48 horas; CTL1(NR48) al grupo control-L1, y CTL2(NR48) al grupo control-L2. Símbolos igual que en la Figura 7. ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$.

A	EXPERIMENTO-6				
	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 4	
Grupo R48	TRL1	R—TRL2	---	TSL1—TSL2	
Grupo CTL1(R48)	TRL1	R	---	TSL1	
Grupo CTL2(R48)	---	TRL2	---	TSL2	

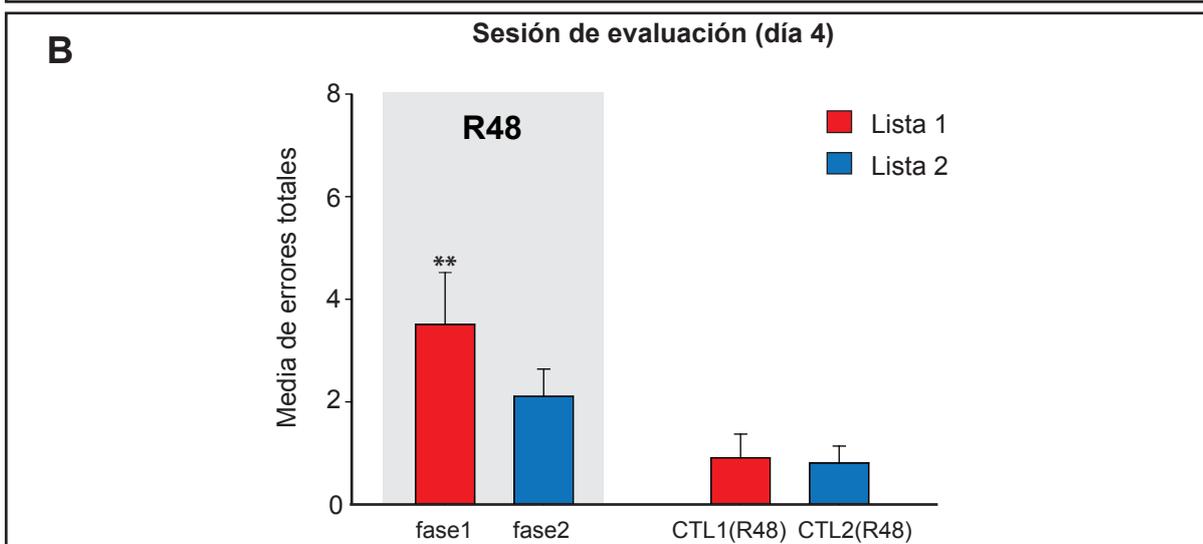


FIGURA 13. Experimento 7 (n=10). ¿Interferencia en la reconsolidación o facilitación de la extinción? **A)** Protocolo experimental correspondiente a los grupos recordatorio 48 horas y sus respectivos controles. TRL1, R, TRL2, TSL1 y TSL2 igual al protocolo de la Figura 9. **B)** Sesión de evaluación. Media de errores totales +/- SEM en el día 4. R48 representa al grupo recordatorio 48 horas; CTL1(R48) al grupo control-L1, y CTL2(R48) al grupo control-L2. Símbolos igual que en la Figura 9. **, $p < 0,01$.

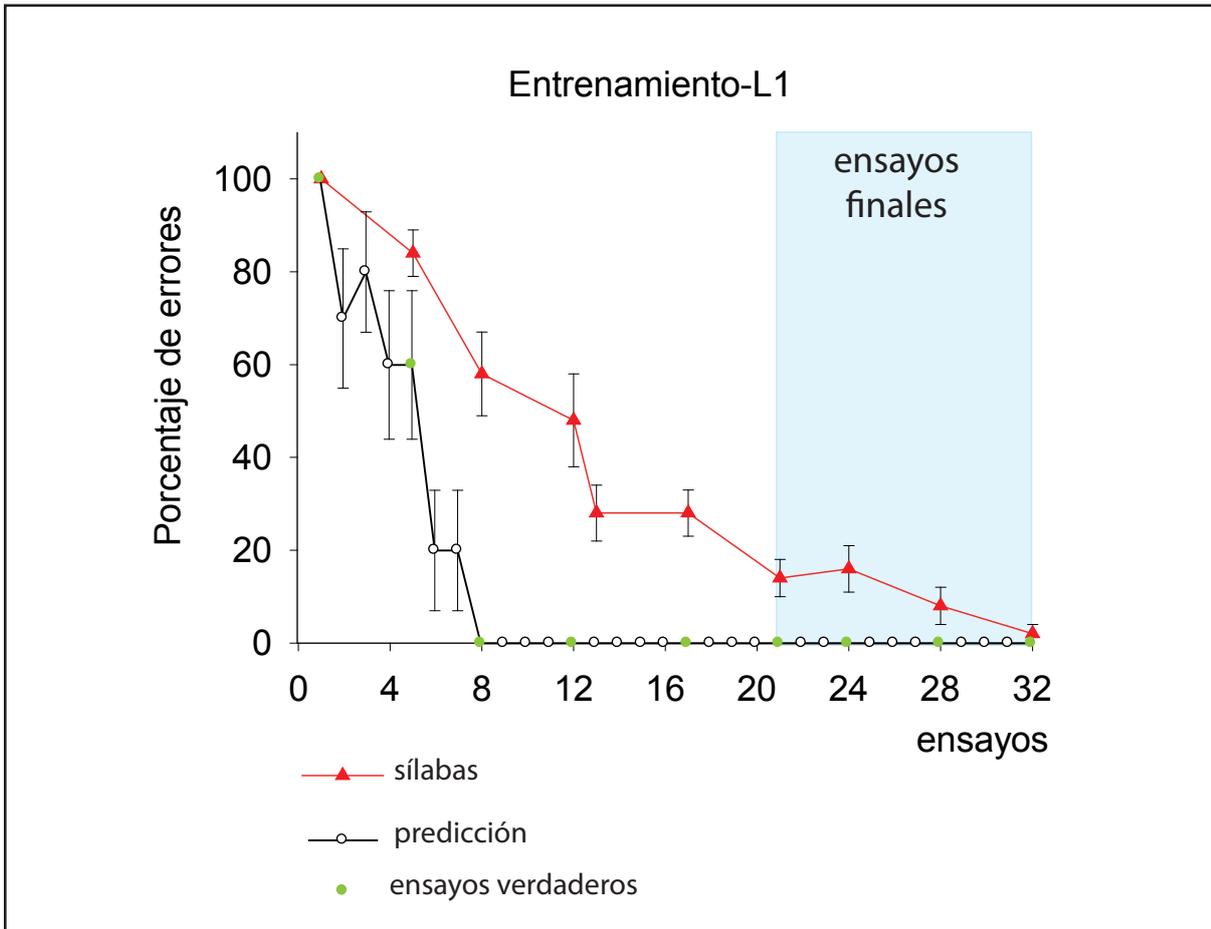


FIGURA 14. Ejemplo de un entrenamiento. La curva roja corresponde al porcentaje de error en sílabas por ensayo; la curva negra, al de predicción. El entrenamiento estuvo formado por un total de 32 ensayos, 10 de los cuales corresponden a ensayos correctos (puntos verdes, respuesta en predicción; triángulos rojos, respuesta en sílabas). El rectángulo en celeste indica los 4 últimos ensayos que se utilizan para determinar el criterio de inclusión al experimento.

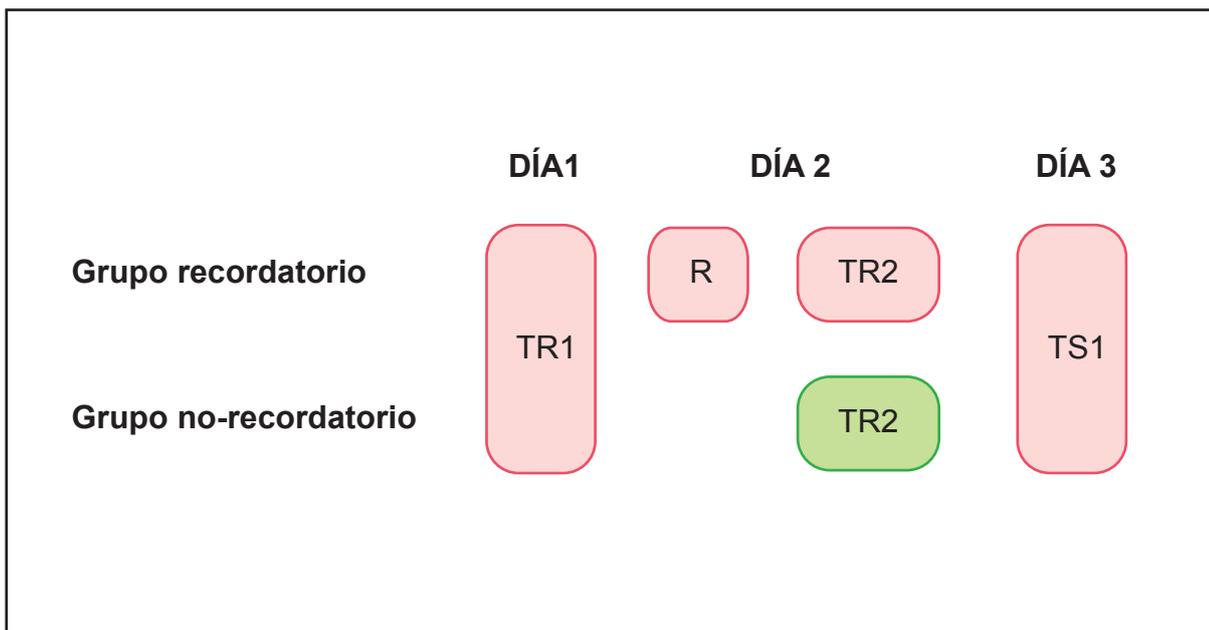


FIGURA 15. Esquema del protocolo para los grupos recordatorio y no-recordatorio utilizado por Hupbach y colaboradores (2007). El rectángulo rosa simboliza el contexto 1: cuarto experimental 1, experimentador 1; el rectángulo verde simboliza el contexto 2: cuarto experimental 2, experimentador 2. TR1, corresponde al entrenamiento 1; TR2, al entrenamiento 2; R al recordatorio y TS1 al testeo de la lista de objetos que aprendieron los sujetos en el primer día. Por lo tanto, las diferencias entre los grupos recordatorio y no-recordatorio no están dadas solamente por la presencia o no de recordatorio sino porque los sujetos reciben en un caso todas las tareas en un contexto (grupo recordatorio) y otro grupo recibe las tareas en contextos diferentes (grupo no-recordatorio).

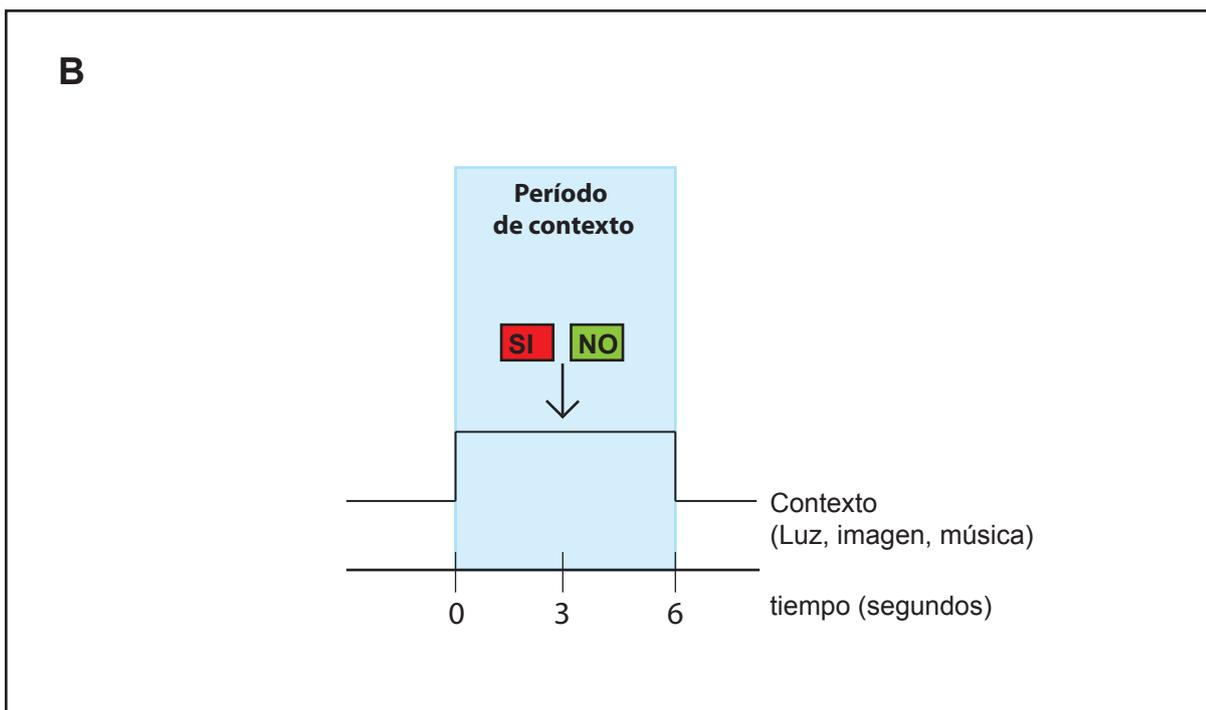
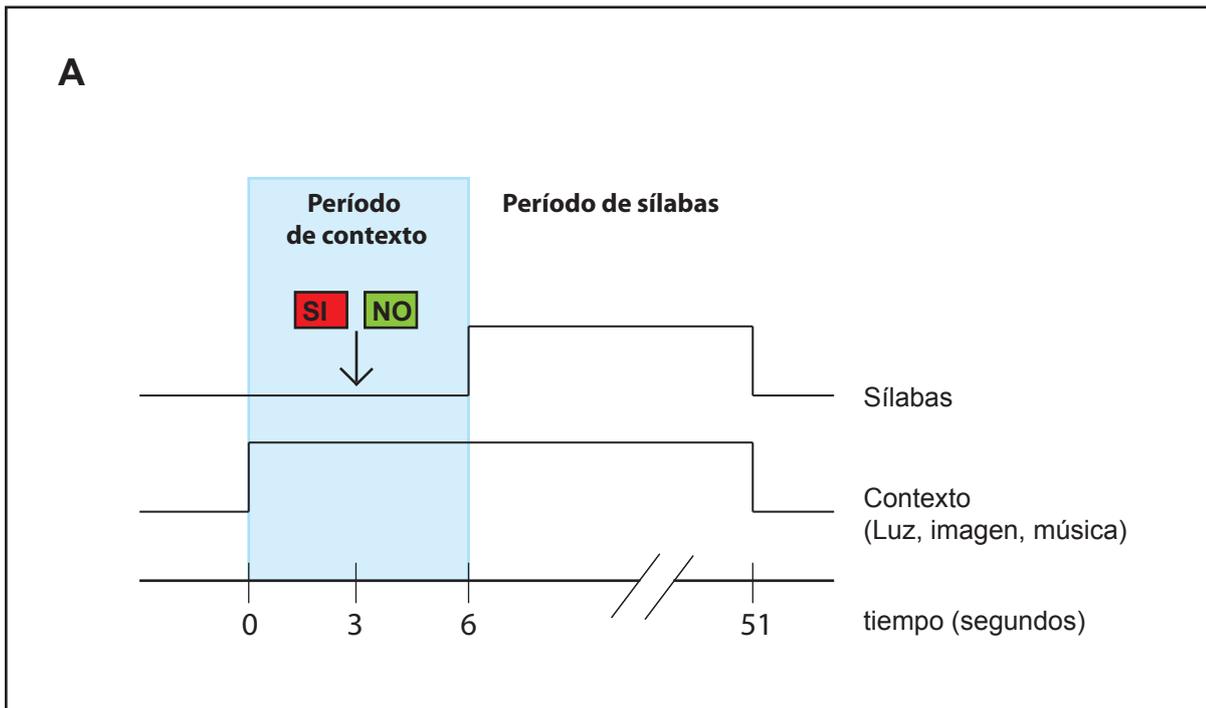


FIGURA 16. Tipos de ensayos. A) Ensayo correcto. El mismo comenzaba con la presentación simultánea de la luz, imagen y música, a los 3 segundos aparecían, en la parte inferior del monitor, un cuadrado rojo que decía «SI» y un cuadrado verde que decía «NO». En ese momento los sujetos debían responder a través del teclado si consideraban o no que ese contexto era el que se asociaba a la lista. A los 6 segundos comenzaba la presentación de los pares de sílabas. **B) Ensayo falso.** Estaban formados por combinaciones de luz, imagen y músicas que nunca acompañaban a la lista y tenían una duración de 6 segundos.

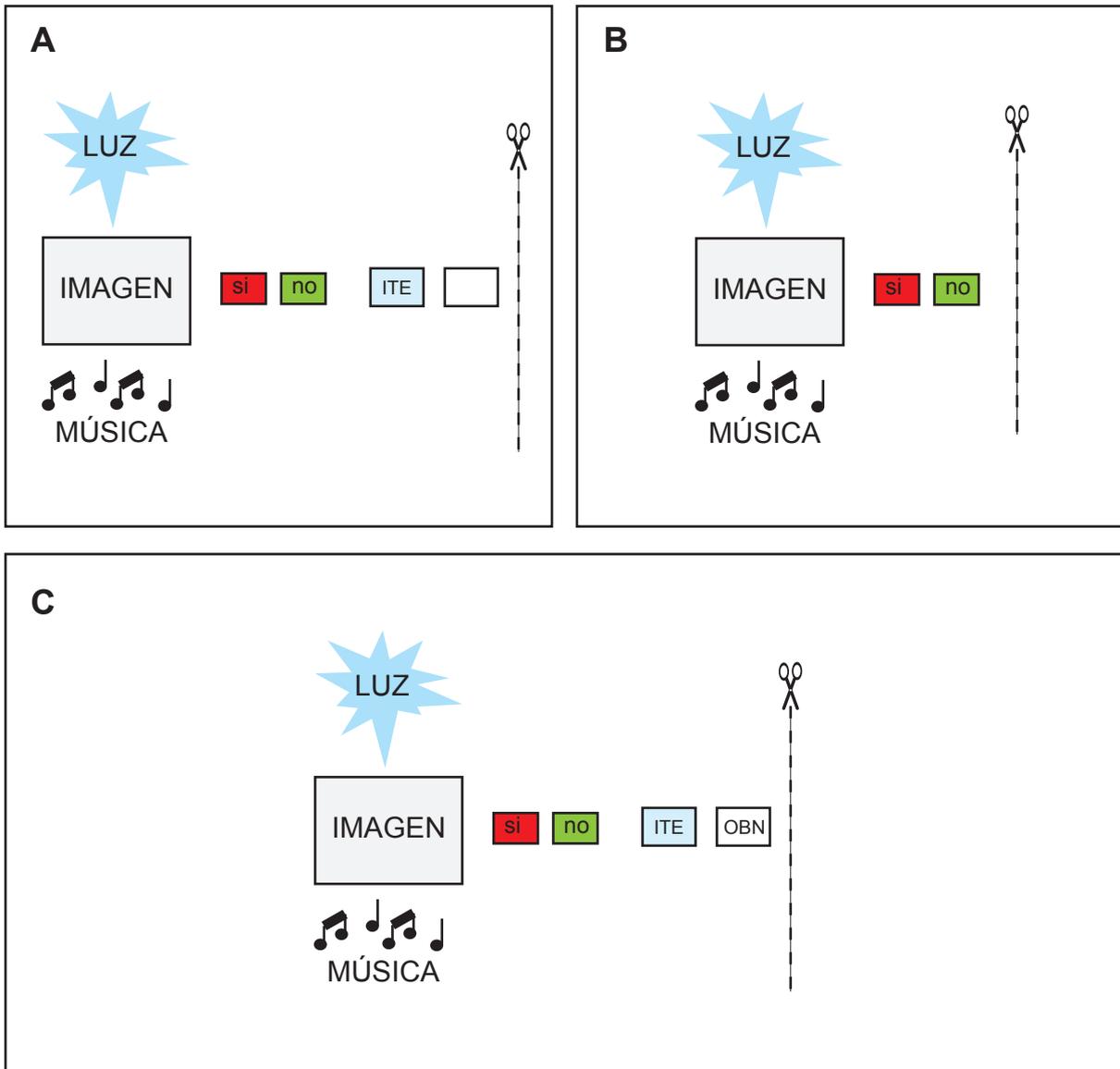


FIGURA 17. Tipos de recordatorios. **A) Recordatorio clave.** El ensayo comenzaba con la presentación del contexto correcto, a los 3 segundos los sujetos debían responder [SÍ] si consideraban que a continuación aparecería la lista, y por [NO] en el caso contrario. 3 segundos después aparecía una sílaba-clave (ITE), y se interrumpía la sesión sin permitirles a los sujetos responder con la correspondiente sílaba-respuesta. La línea punteada representa la interrupción de la sesión. **B) Recordatorio contexto.** Su estructura fue similar a la del recordatorio clave con la diferencia de que el ensayo se interrumpió a los 6 segundos, sin que se presente la primera sílaba-clave. **C) Recordatorio clave-respuesta.** Su estructura fue similar a la del recordatorio clave pero en este caso se permitió a los sujetos completar con la correspondiente sílaba-respuesta (OBN).

A	EXPERIMENTO-1				
	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3		
	Grupo NR	TRL1	TRL2	TSL1—TSL2	
	Grupo CTL1(NR)	TRL1	---	TSL1	
Grupo CTL2(NR)	---	TRL2	TSL2		

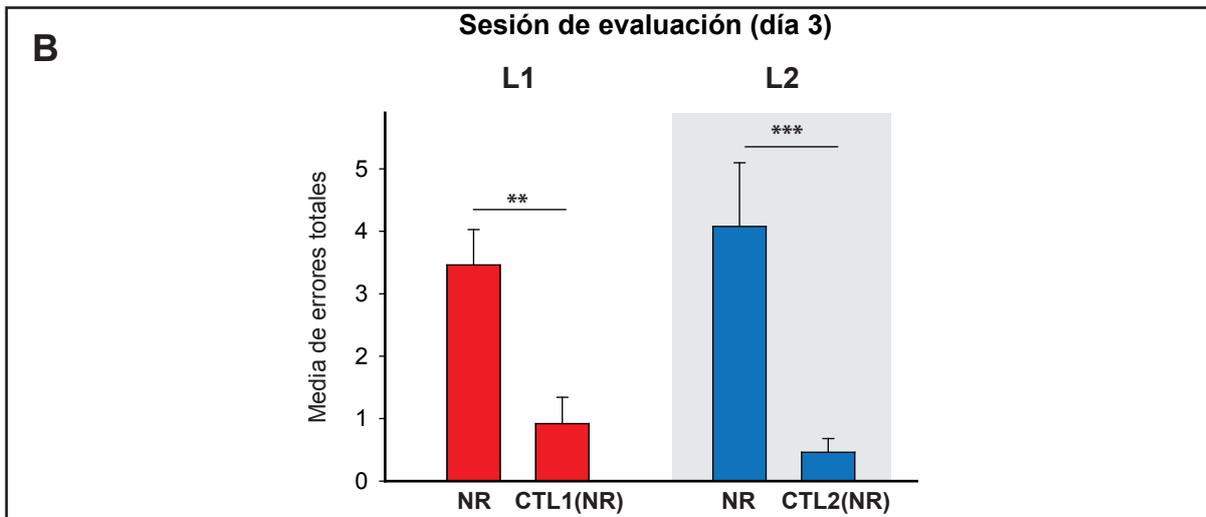


FIGURA 18. Experimento 1 (n=13). Corroboración de la primera característica diagnóstica de la reconsolidación. A) Protocolo experimental correspondiente a los grupos no-recordatorio y sus respectivos controles. TRL1 y TRL2 corresponden los entrenamientos de L1 y L2 respectivamente; TSL1 y TSL2, a las evaluaciones L1 y L2 respectivamente. **B)** Sesión de evaluación. Media de errores totales +/- SEM en el día 3. NR representa al grupo no-recordatorio, CTL1(NR) al grupo control-L1, y CTL2(NR) al grupo control-L2. Las barras rojas corresponden a la performance en L1, las barras azules a la performance en L2. ***, $p < 0,001$, **, $p < 0,01$.

A	EXPERIMENTO-2				
	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3		
	Grupo R _c	TRL1	R _c —TRL2	TSL1—TSL2	
	Grupo CTL1(R _c)	TRL1	R _c	TSL1	
Grupo CTL2(R _c)	---	TRL2	TSL2		

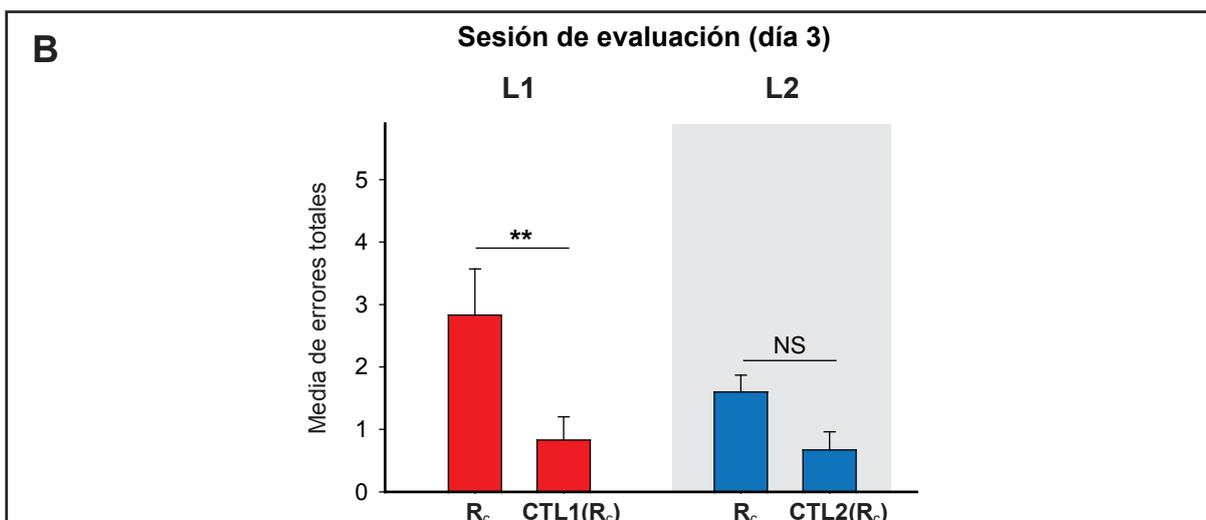


FIGURA 19. Experimento 2 (n=13). Corroboración de la primera característica diagnóstica de la reconsolidación. A) Protocolo experimental correspondiente a los grupos recordatorio clave y sus respectivos controles. TRL1,TRL2, TSL1 y TSL2, como en la figura 18. R_c representa al recordatorio clave. **B)** Sesión de evaluación. Media de errores totales +/- SEM en el día 3. R_c representa al grupo recordatorio, CTL1(R_c) al grupo control-L1, y CTL2(R_c) al grupo control-L2. Símbolos igual que la Figura 18. **, $p < 0,01$; NS, diferencia estadística no significativa $p > 0,05$.

A

EXPERIMENTO-3	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3
Grupo R _{ctx}	TRL1	R _{ctx} — TRL2	TSL1 — TSL2
Grupo CTL1(R _{ctx})	TRL1	R _{ctx}	TSL1
Grupo CTL2(R _{ctx})	---	TRL2	TSL2

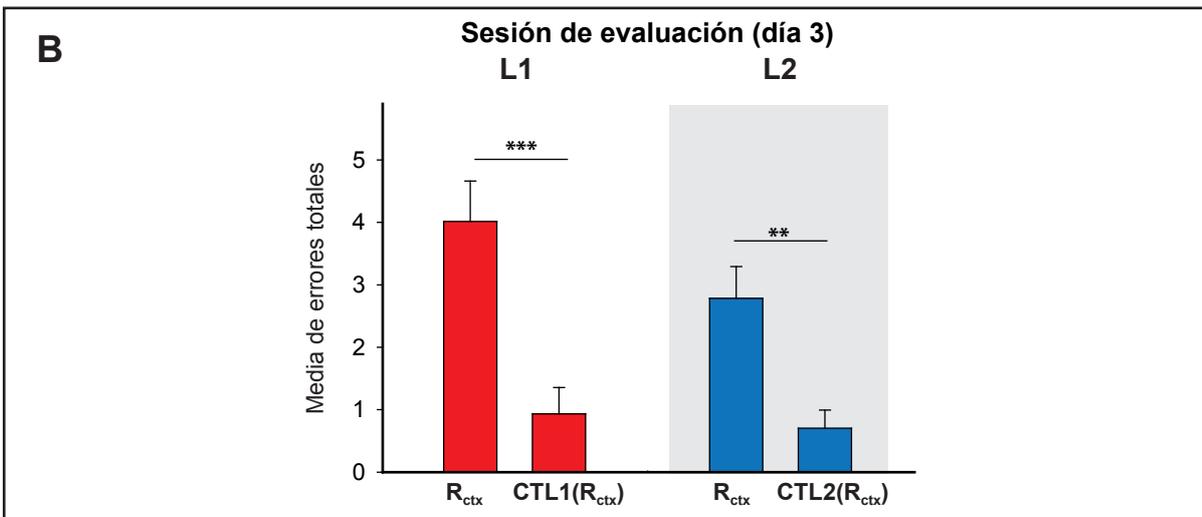


FIGURA 20. Experimento 3 (n=13). Segunda característica diagnóstica de la reconsolidación. A) Protocolo experimental correspondiente a los grupos recordatorio contexto y sus respectivos controles. TRL1, TRL2, TSL1 y TSL2, como en la Figura 18. R_{ctx} representa al recordatorio contexto. **B)** Sesión de evaluación. Media de errores totales +/- SEM en el día 3. R_{ctx} representa al grupo recordatorio contexto, CTL1(R_{ctx}) al grupo control-L1, y CTL2(R_{ctx}) al grupo control-L2. Símbolos igual que la Figura 18. ***, p<0,001; **, p<0,01.

A

EXPERIMENTO-4	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3
Grupo R _{c-r}	TRL1	R _{c-r} — TRL2	TSL1 — TSL2
Grupo CTL1(R _{c-r})	TRL1	R _{c-r}	TSL1
Grupo CTL2(R _{c-r})	---	TRL2	TSL2

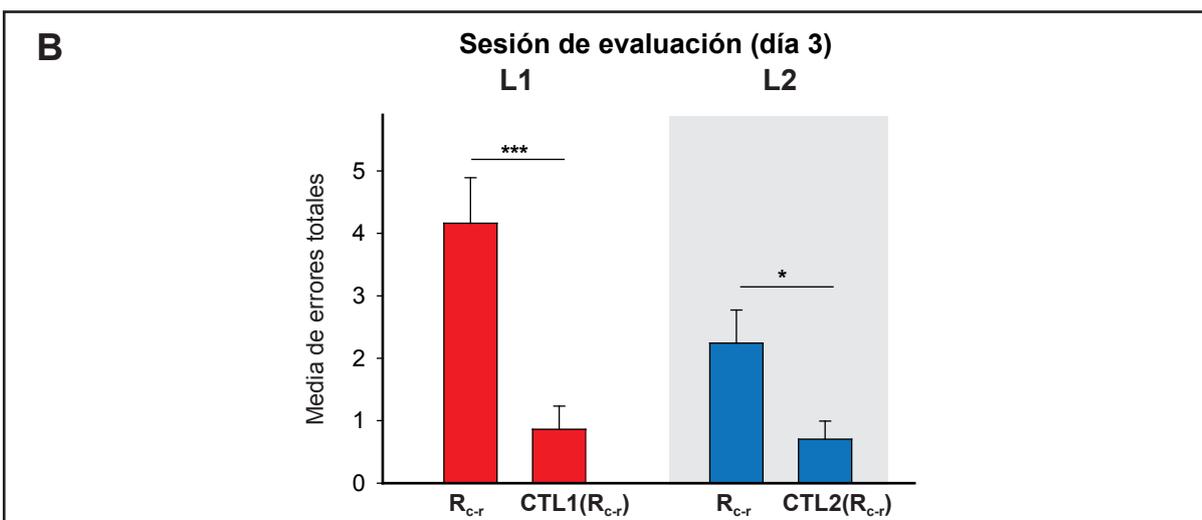


FIGURA 21. Experimento 4 (n=13). Segunda característica diagnóstica de la reconsolidación. A) Protocolo experimental correspondiente a los grupos recordatorio clave-respuesta y sus respectivos controles. TRL1, TRL2, TSL1 y TSL2, como en la Figura 18. R_{c-r} representa al recordatorio clave-respuesta. **B)** Sesión de evaluación. Media de errores totales +/- SEM en el día 3. R_{c-r} representa al grupo recordatorio clave-respuesta, CTL1(R_{c-r}) al grupo control-L1, y CTL2(R_{c-r}) al grupo control-L2. Símbolos igual que la Figura 18. ***, p<0,001; *, p<0,05.

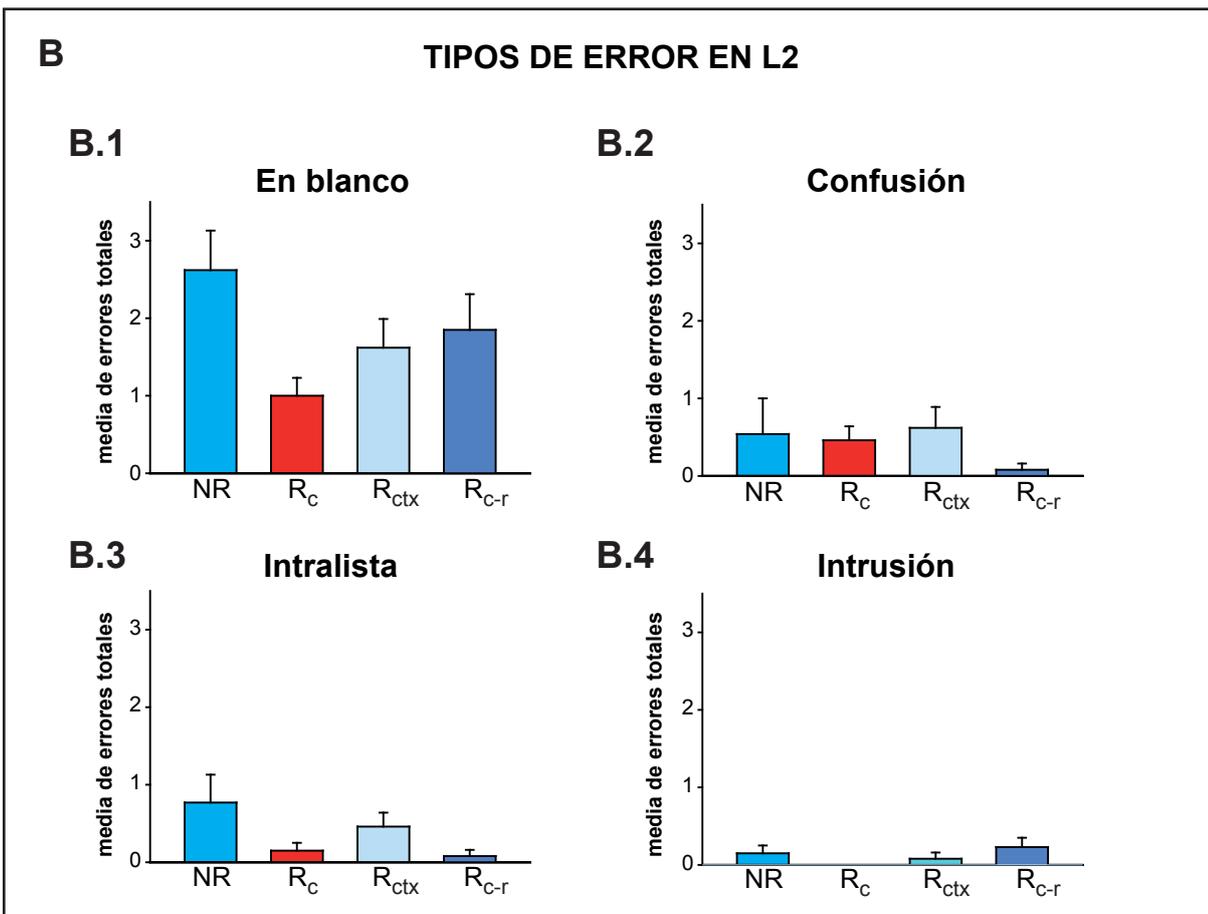
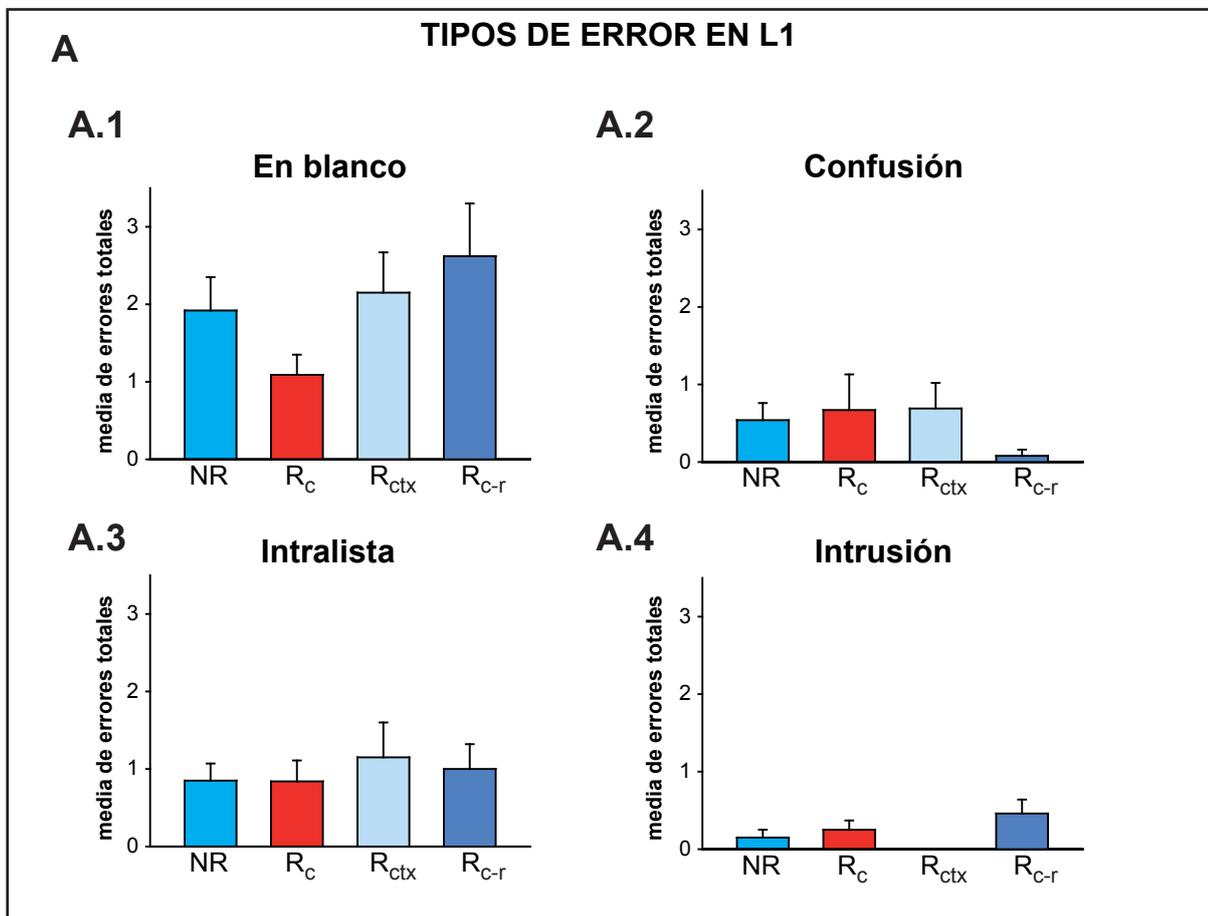


FIGURA 22. Tipos de error. Media de errores totales \pm SEM en el día 3. NR, grupo no-recordatorio; R_C, grupo recordatorio clave; R_{ctx}, grupo recordatorio contexto; R_{C-r}, grupo recordatorio clave-respuesta. **A)** Tipos de error en L1. **A.1)** Error en blanco. **A.2)** Error de confusión. **A.3)** Error intralista. **A.4)** Error de intrusión. **B)** Tipos de error en L2. **B.1)** Error en blanco. **B.2)** Error de confusión. **B.3)** Error intralista. **B.4)** Error de intrusión.

A	EXPERIMENTO-1			
		DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3
	Grupo R_c	TRL1	R_c	TSL1
	Grupo $R_c \times 2$	TRL1	$R_c - R_c$	TSL1
Grupo $R_c \times 4$	TRL1	$R_c - R_c - R_c - R_c$	TSL1	

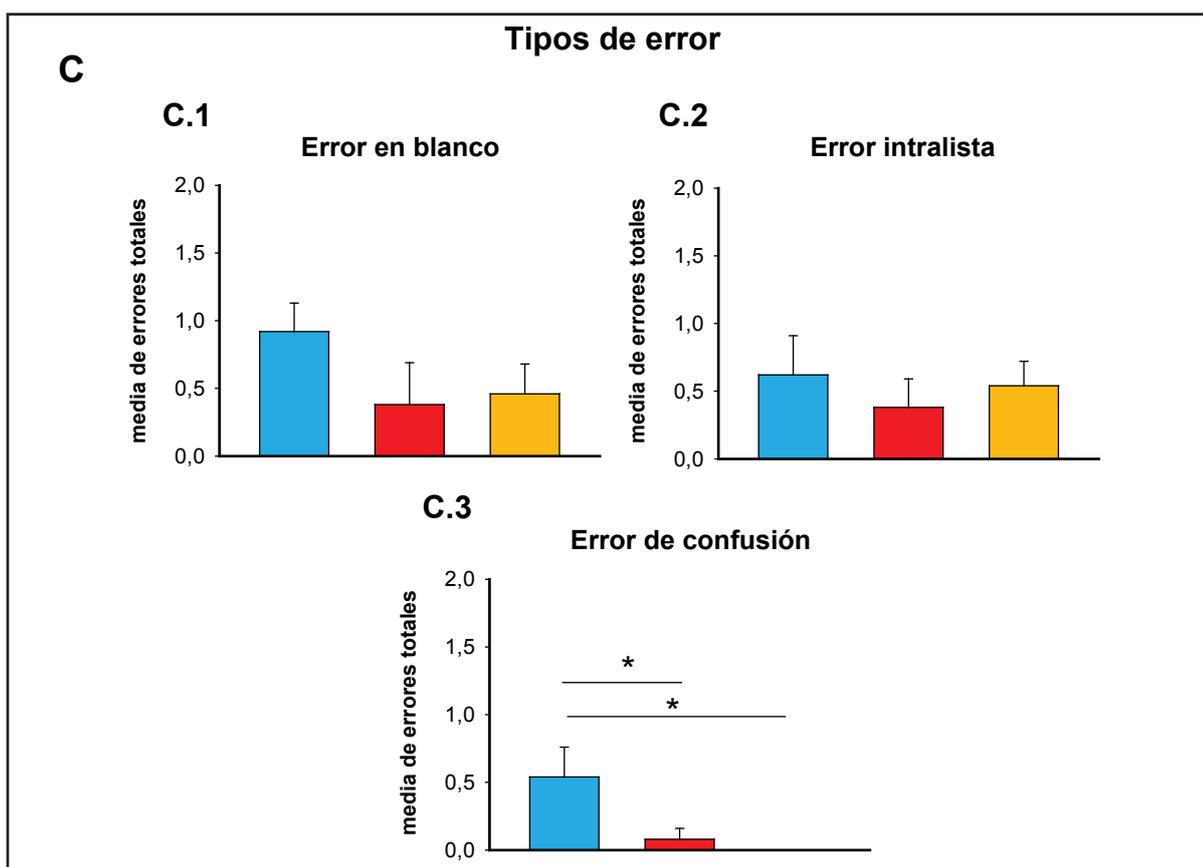
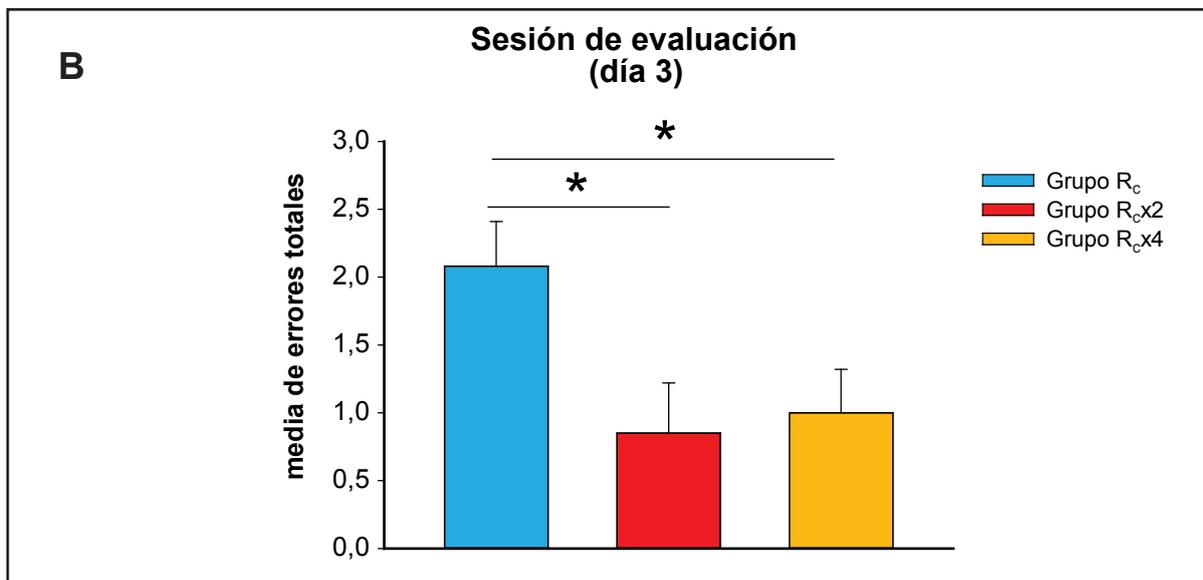


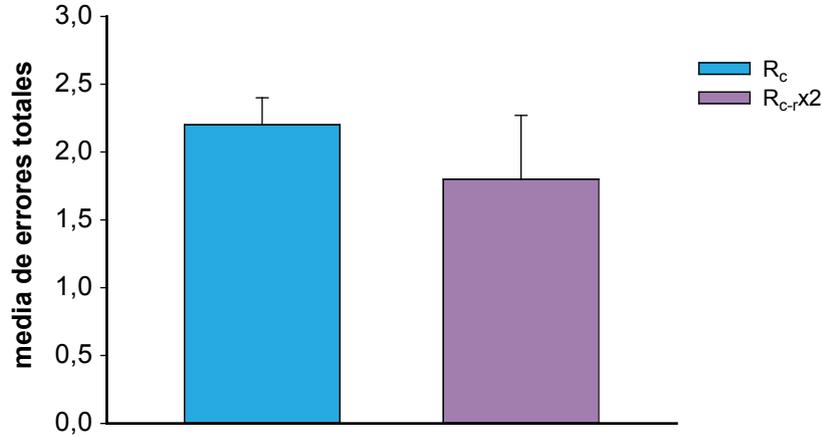
FIGURA 23. Experimento 1 (n=13). Efecto de sucesivas reactivaciones sobre una memoria consolidada. A) Protocolo experimental correspondiente a los grupos recordatorio clave, recordatorio clave x2 y recordatorio clave x4. TRL1 representa al entrenamiento-L1, R_c al recordatorio clave y TSL1 a la sesión de evaluación-L1. La diferencia entre los distintos grupos está dada por la cantidad de recordatorios que recibe cada uno en el día 2. **B)** Sesión de evaluación. Media de errores totales +/- SEM en el día 3. Las barras azules corresponden al grupo R_c , las rojas al grupo $R_c \times 2$ y las amarillas al grupo $R_c \times 4$. *, $p < 0,05$. **C)** Tipos de error. Media de errores totales para cada tipo de error +/- SEM en el día 3. **C.1)** Error en blanco. **C.2)** Error intralista. **C.3)** Error de confusión. Barras y símbolos igual que en el punto B.

A

EXPERIMENTO-2	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3
Grupo R_c	TRL1	R_c	TSL1
Grupo $R_{c-r} \times 2$	TRL1	$R_{c-r} - R_{c-r}$	TSL1

B

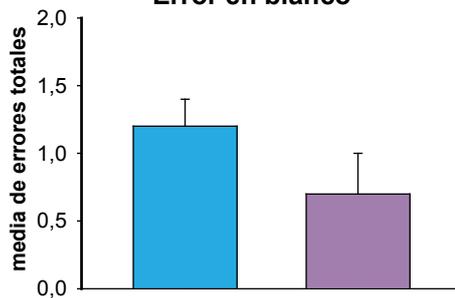
Sesión de evaluación (día 3)

**C**

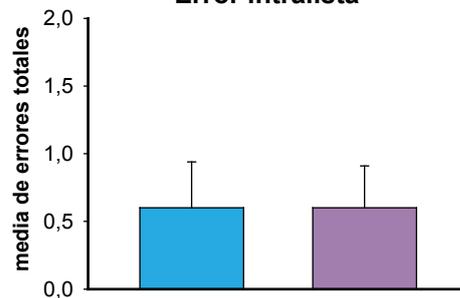
Tipos de error

C.1

Error en blanco

**C.2**

Error intralista

**C.3**

Error de confusión

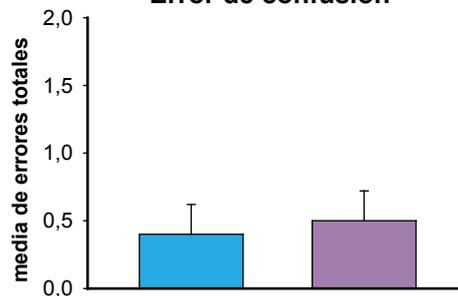


FIGURA 24. Experimento 2 (n=10). Estudio sobre la dependencia de la labilización para reforzar la memoria. A) Protocolo experimental correspondiente a los grupos recordatorio clave y recordatorio clave-respuesta x2. TRL1, R_c y TSL1 igual que en la Figura 23, R_{c-r} corresponde al recordatorio clave-respuesta. **B)** Sesión de evaluación. Media de errores totales +/- SEM en el día 3. Las barras celestes corresponden al grupo R_c y las púrpuras al grupo $R_{c-r} \times 2$. **C)** Tipos de error. Media de errores totales para cada tipo de error +/- SEM en el día 3. **C.1)** Error en blanco. **C.2)** Error intralista. **C.3)** Error de confusión. Barras igual que en el punto B.

A

EXPERIMENTO-3	DÍA 1	DÍA 2
Grupo R_c -CT	TRL1	R_c -TSL1
Grupo $R_c \times 2$ -CT	TRL1	R_c - R_c -TSL1

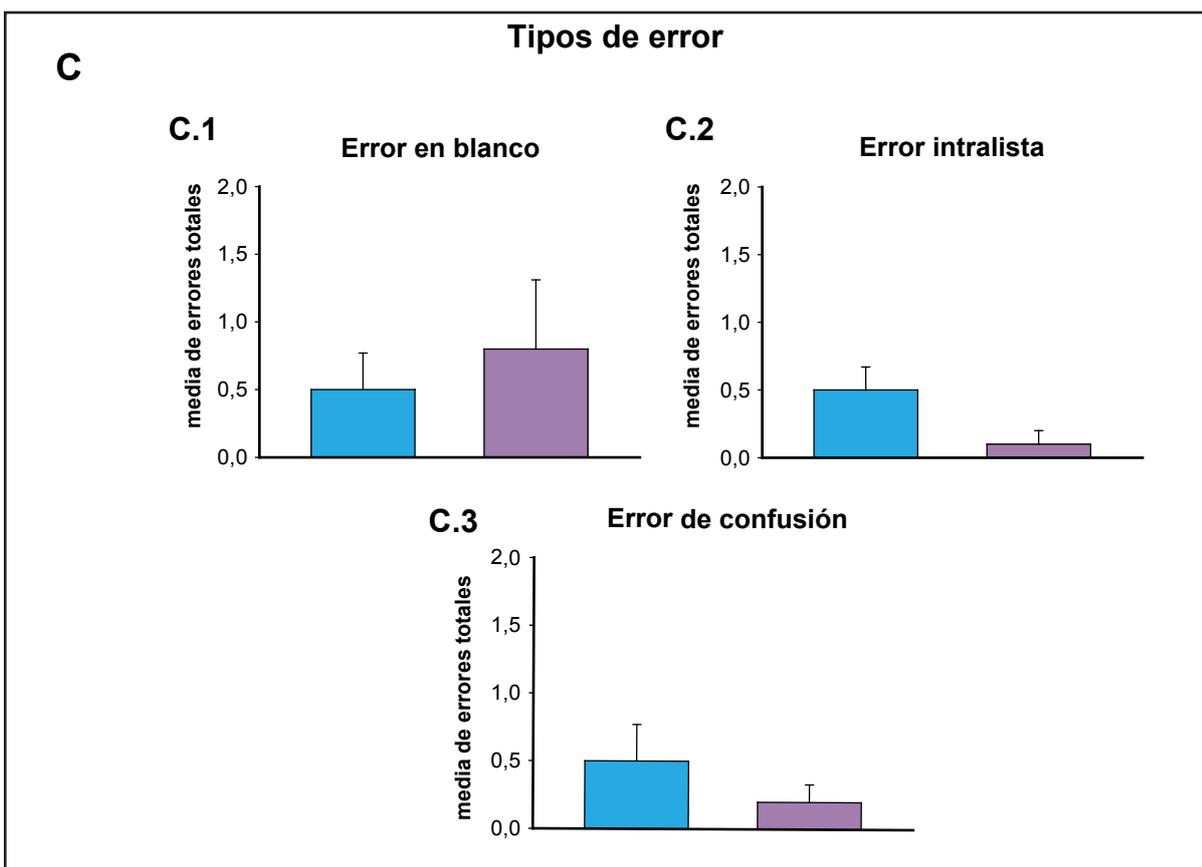
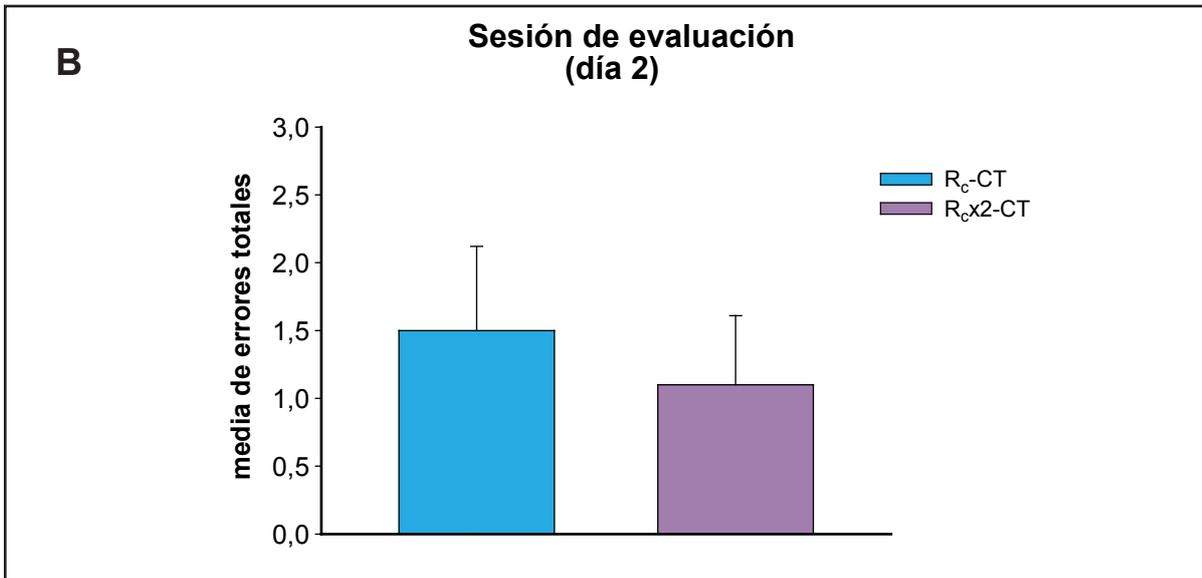


FIGURA 25. Experimento 3 (n=10). Evaluación a corto término. A) Protocolo experimental correspondiente a los grupos recordatorio clave corto-término y recordatorio clave x2 corto-término. TRL1, R_c y TSL1 igual que en la Figura 23. **B)** Sesión de evaluación. Media de errores totales +/- SEM en el día 2. Las barras celestes corresponden al grupo R_c -CT y las púrpuras al Grupo $R_c \times 2$ -CT. **C)** Tipos de error. Media de errores totales para cada tipo de error +/- SEM en el día 2. **C.1)** Error en blanco. **C.2)** Error intralista. **C.3)** Error de confusión. Barras igual que en el punto B.

A

EXPERIMENTO-4	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 4
Grupo R_c -d4	TRL1	R_c	---	TSL1
Grupo R_c x2-d4	TRL1	R_c	R_c	TSL1

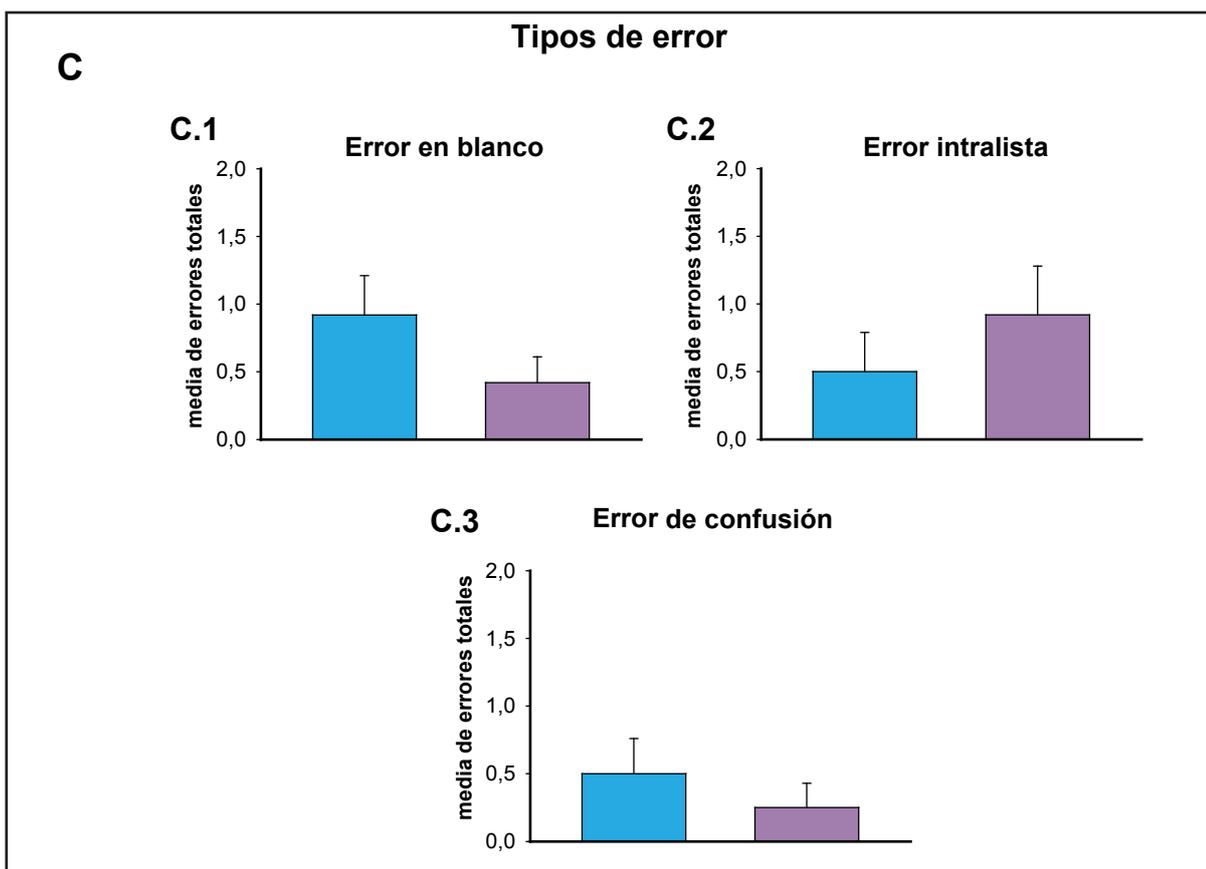
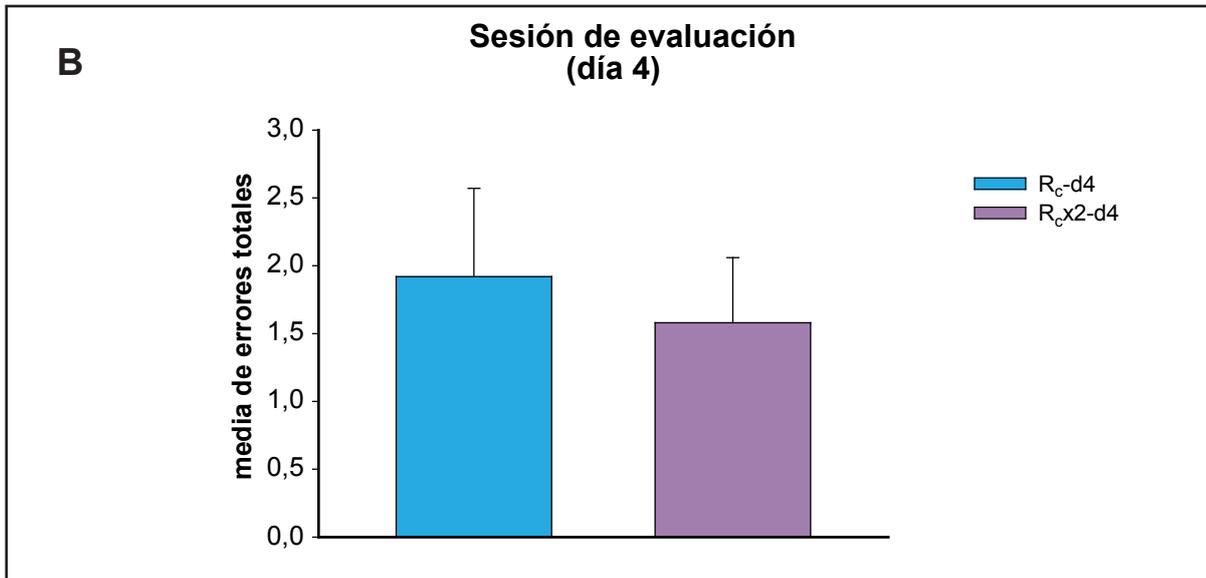


FIGURA 26. Experimento 4 (n=12). Ventana temporal (24hs). **A)** Protocolo experimental correspondiente a los grupos recordatorio clave-4 días y recordatorio clave x2-4 días. TRL1, R_c y TSL1 igual que en la Figura 23. **B)** Sesión de evaluación. Media de errores totales +/- SEM en el día 4. Las barras celestes corresponden al grupo R_c -d4 y las púrpuras al grupo R_c x2-d4. **C)** Tipos de error. Media de errores totales para cada tipo de error +/- SEM en el día 4. **C.1)** Error en blanco. **C.2)** Error intralista. **C.3)** Error de confusión. Barras igual que en el punto B.

A

EXPERIMENTO-5	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3
Grupo $R_c \times 2$	TRL1	$R_c - R_c$	TSL1
Grupo $R_c \times 2-2h$	TRL1	$R_c^{2h} - R_c$	TSL1
Grupo $R_c R_{ctx} - 2h$	TRL1	$R_c^{2h} - R_{ctx}$	TSL1

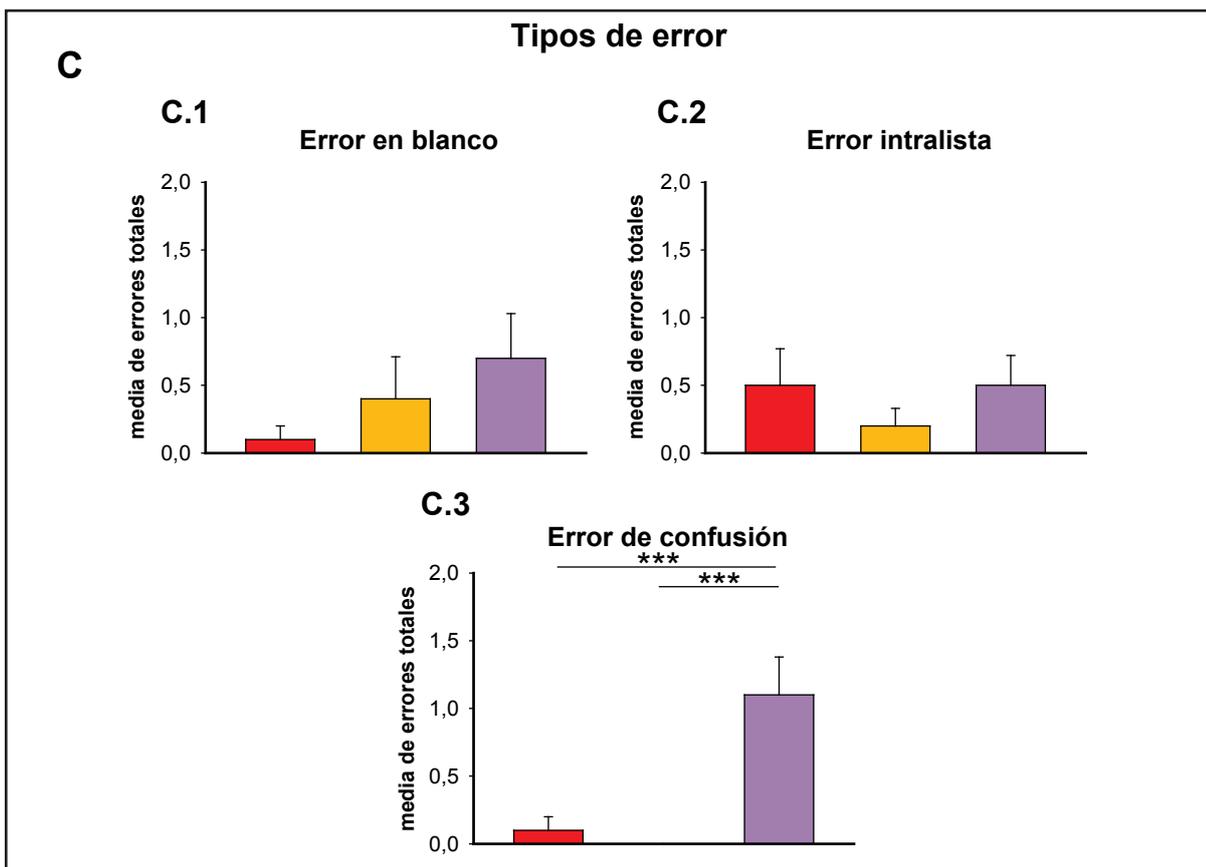
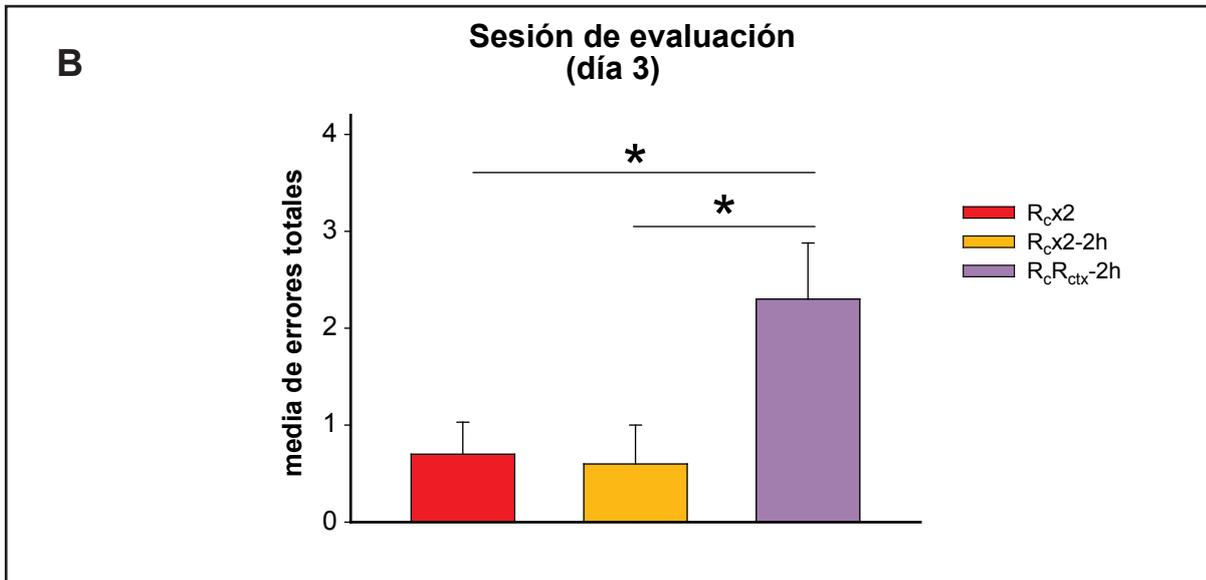


FIGURA 27. Experimento 5 (n=10). Ventana temporal (2hs). A) Protocolo experimental correspondiente a los grupos recordatorio clave x2, recordatorio clave x2-2horas y recordatorio clave-recordatorio contexto-2horas. TRL1, R_c y TSL1 como en la Figura 23. R_{ctx} , representa al recordatorio contexto. **B)** Sesión de evaluación. Media de errores totales +/- SEM en el día 3. Las barras rojas corresponden al grupo $R_c \times 2$, las amarillas al grupo $R_c \times 2-2h$ y las púrpuras al grupo $R_c R_{ctx}$. *, $p < 0,05$. **C)** Tipos de error. Media de errores totales para cada tipo de error +/- SEM en el día 3. **C.1)** error en blanco. **C.2)** Error intralista. **C.3)** Error de confusión. Patrón de barras igual que en el punto B. ***, $p < 0,001$.

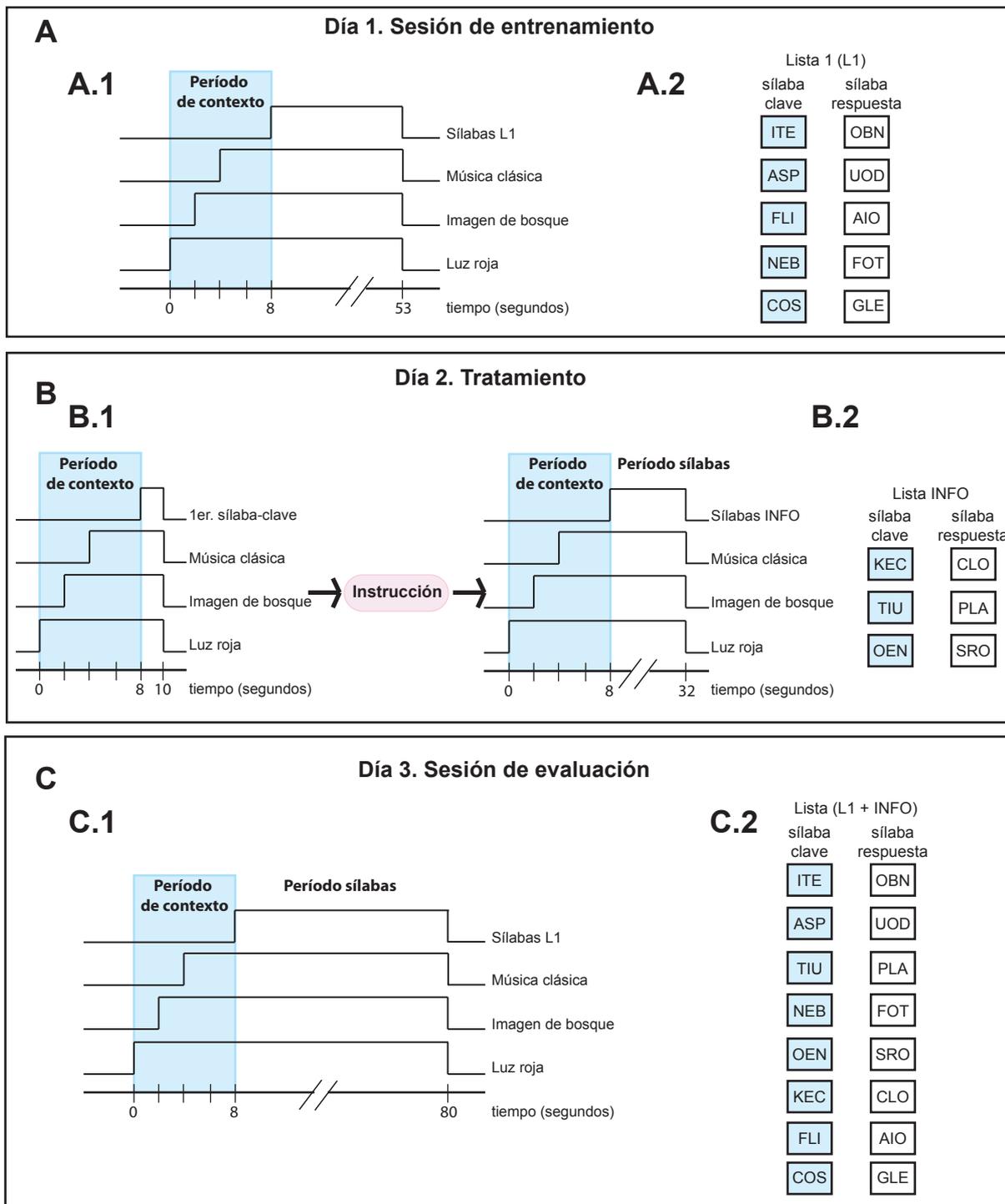


FIGURA 28: Protocolo experimental. A) Día 1. Sesión de entrenamiento. A.1) Ensayo. El mismo comenzaba con la presentación de la luz, imagen y música, a los 8 segundos comenzaba la presentación de los pares de sílabas. **A.2) Lista de sílabas L1.** **B) Día 2. Sesión de tratamiento.** Se ejemplifican los pasos seguidos para el grupo recordatorio clave. **B.1) Recordatorio clave.** El mismo estuvo formado por la presentación del contexto seguido por una sílaba clave. A los 2 segundos el ensayo era interrumpido sin permitirles a los sujetos completar con la correspondiente sílaba respuesta. A continuación se les daba a los sujetos la instrucción de incorporar los nuevos pares y se presentaba el ensayo con la información a incorporar. El mismo estuvo formado por el mismo contexto seguido por la presentación de los 3 nuevos pares de sílabas. **B.2) Lista-INFO** **C) Día 3. Sesión de evaluación. C.1)** Cada ensayo tuvo una duración de 80 segundos y estuvo formado por la presentación del contexto seguido por la presentación de los 8 pares de sílabas (los 5 originales, más los 3 nuevos).

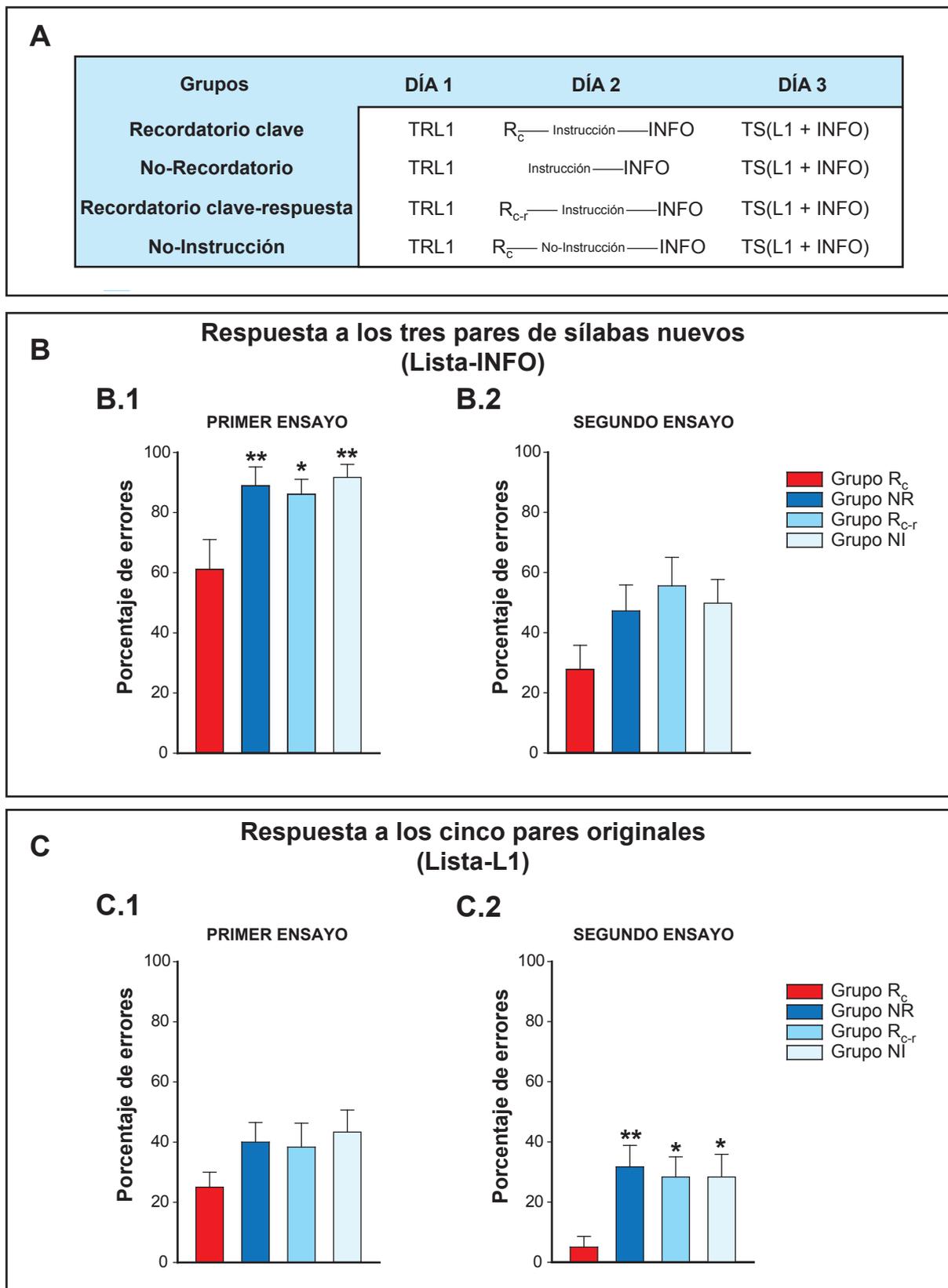


FIGURA 29. Performance de los grupos principales en el día 3 (n=12). **A)** Protocolo experimental correspondiente a los grupos recordatorio clave, no-recordatorio, recordatorio clave-respuesta y no-instrucción. TRL1 representa al entrenamiento-L1; R_c al recordatorio clave; R_{c-r} al recordatorio clave-respuesta; Instrucción, a la instrucción verbal de incorporar los nuevos pares; no-instrucción, a la instrucción verbal de leer los nuevos pares; INFO, al ensayo en el que se presenta la información a incorporar y TS(L1+INFO), a la sesión del día 3 en donde se evalúan los 8 pares de sílabas (los 5 originales y los 3 nuevos). **B)** Porcentaje de errores en los nuevos pares de sílabas +/- SEM en el día 3. Barras rojas **B.1)** Ensayo 1. **, p<0,01; *, p<0,05. **B.2)** Ensayo 2. **C)** Porcentaje de errores en los pares de sílabas originales +/- SEM en el día 3. **C.1)** Ensayo 1. **B.2)** Ensayo 2. Símbolos como en el punto B.1.

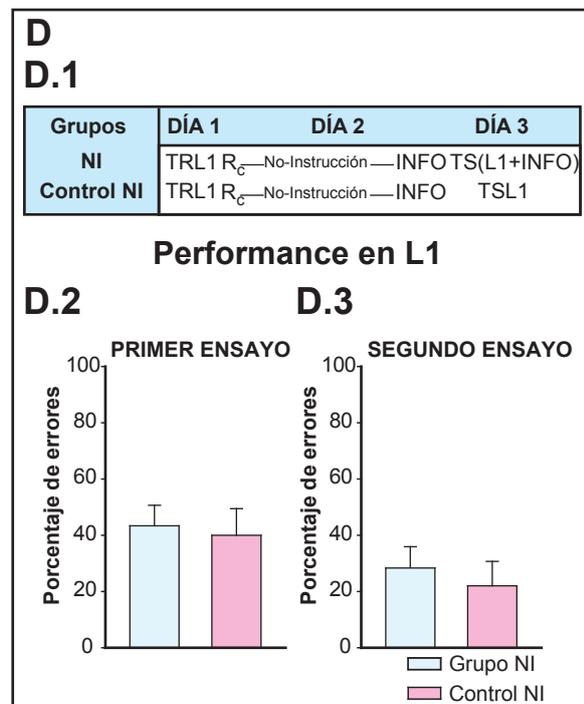
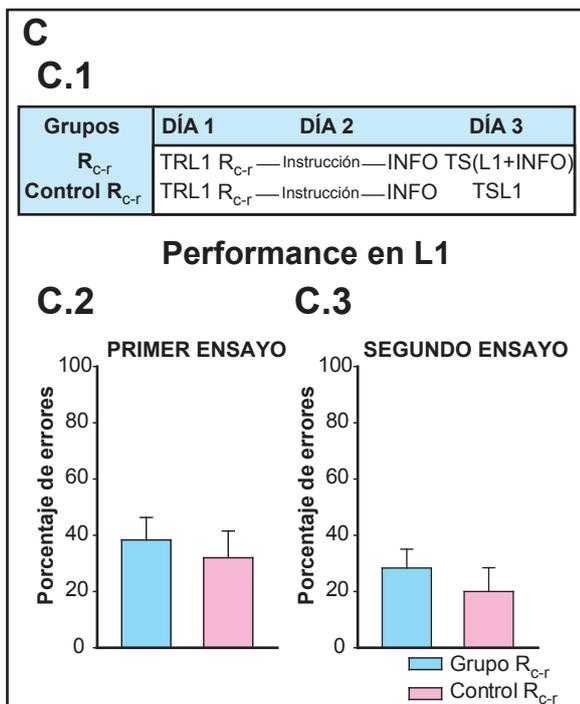
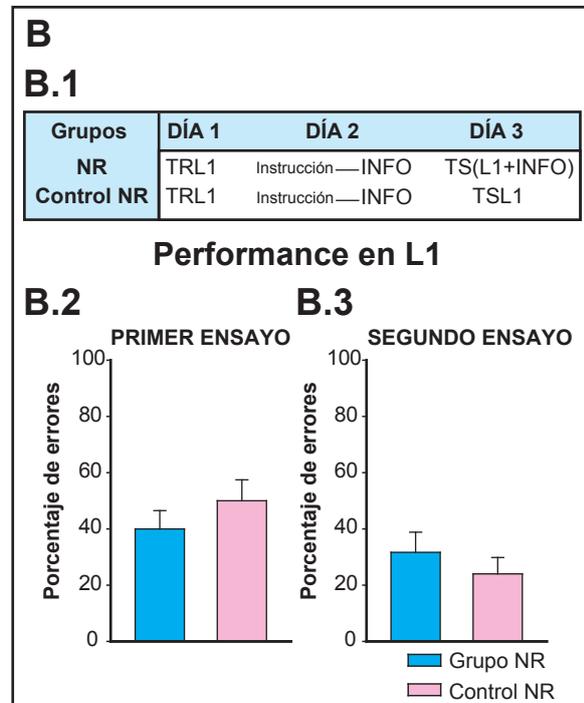
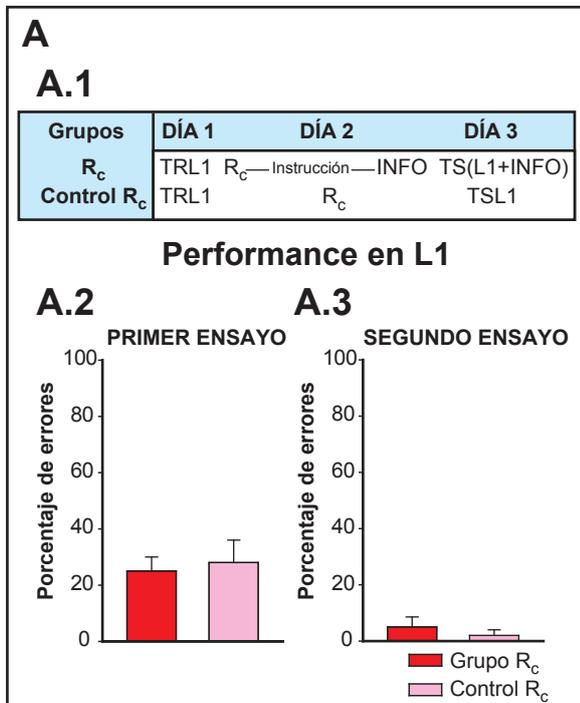


FIGURA 30. Performance en L1 para grupos principales vs. sus respectivos controles (n=10). A) Grupo recordatorio clave vs. control recordatorio clave. A.1) Protocolo experimental. Símbolos igual que en Figura 29. A.2) Porcentaje de errores para L1 en el segundo ensayo +/- SEM en el día 3. A.3) Porcentaje de errores para L1 en el primer ensayo +/- SEM en el día 3. B) Grupo no-recordatorio vs. control no-recordatorio. B.1) Protocolo experimental. Símbolos igual que en Figura 29. B.2) Porcentaje de errores para L1 en el segundo ensayo +/- SEM en el día 3. B.3) Porcentaje de errores para L1 en el primer ensayo +/- SEM en el día 3. C) Grupo recordatorio clave-respuesta vs. control recordatorio clave-respuesta. C.1) Protocolo experimental. Símbolos igual que en Figura 29. C.2) Porcentaje de errores para L1 en el segundo ensayo +/- SEM en el día 3. C.3) Porcentaje de errores para L1 en el primer ensayo +/- SEM en el día 3. D) Grupo no-instrucción vs. control no-instrucción. D.1) Protocolo experimental. Símbolos igual que en Figura 29. D.2) Porcentaje de errores para L1 en el segundo ensayo +/- SEM en el día 3. D.3) Porcentaje de errores para L1 en el primer ensayo +/- SEM en el día 3.

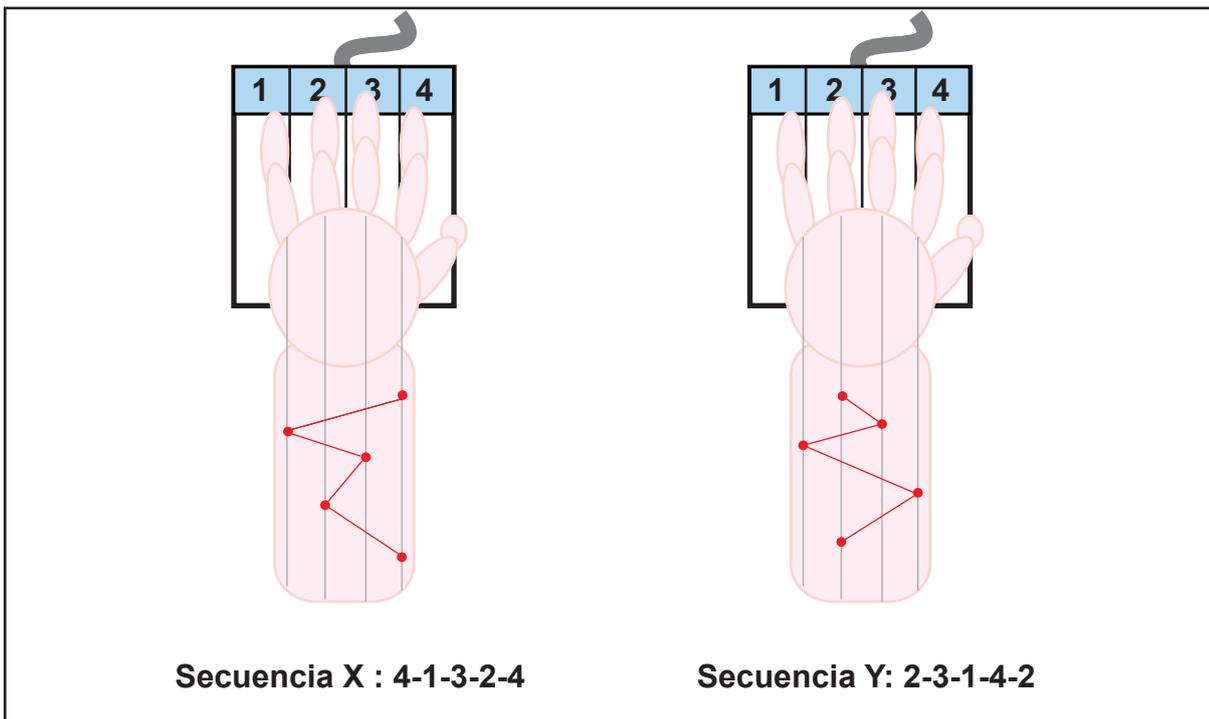


FIGURA 1, Apéndice 1. Tarea motora. La tarea involucra presionar 4 claves numéricas usando los dedos de la mano izquierda. La secuencia X y la secuencia Y se utilizaron en forma contrabalanceada como primer y segundo aprendizaje motor (modificado de Walker et al., 2003).

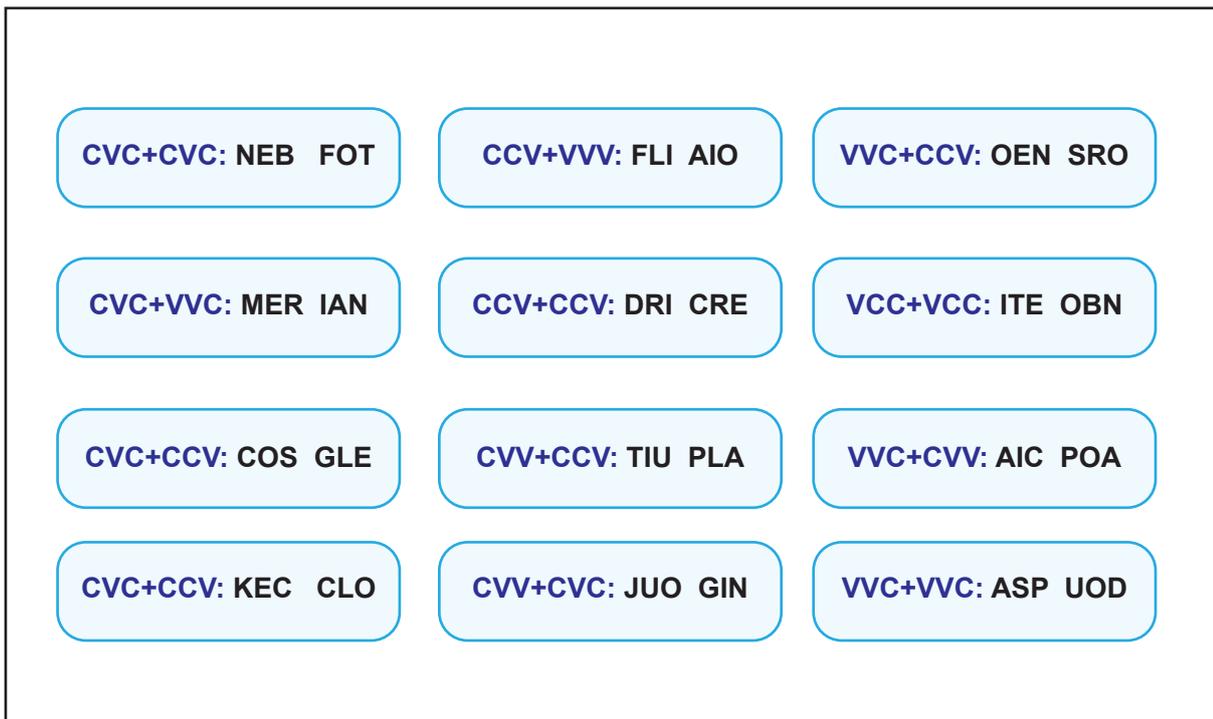


FIGURA 2, Apéndice 1. Sílabas sin sentido. Tripletes de letras que forman los distintos pares de sílabas de los experimentos. En azul las posibles combinaciones de vocales (V) y consonantes (C) para la formación de sílabas, en negro los pares seleccionados para utilizar en los distintos experimentos.

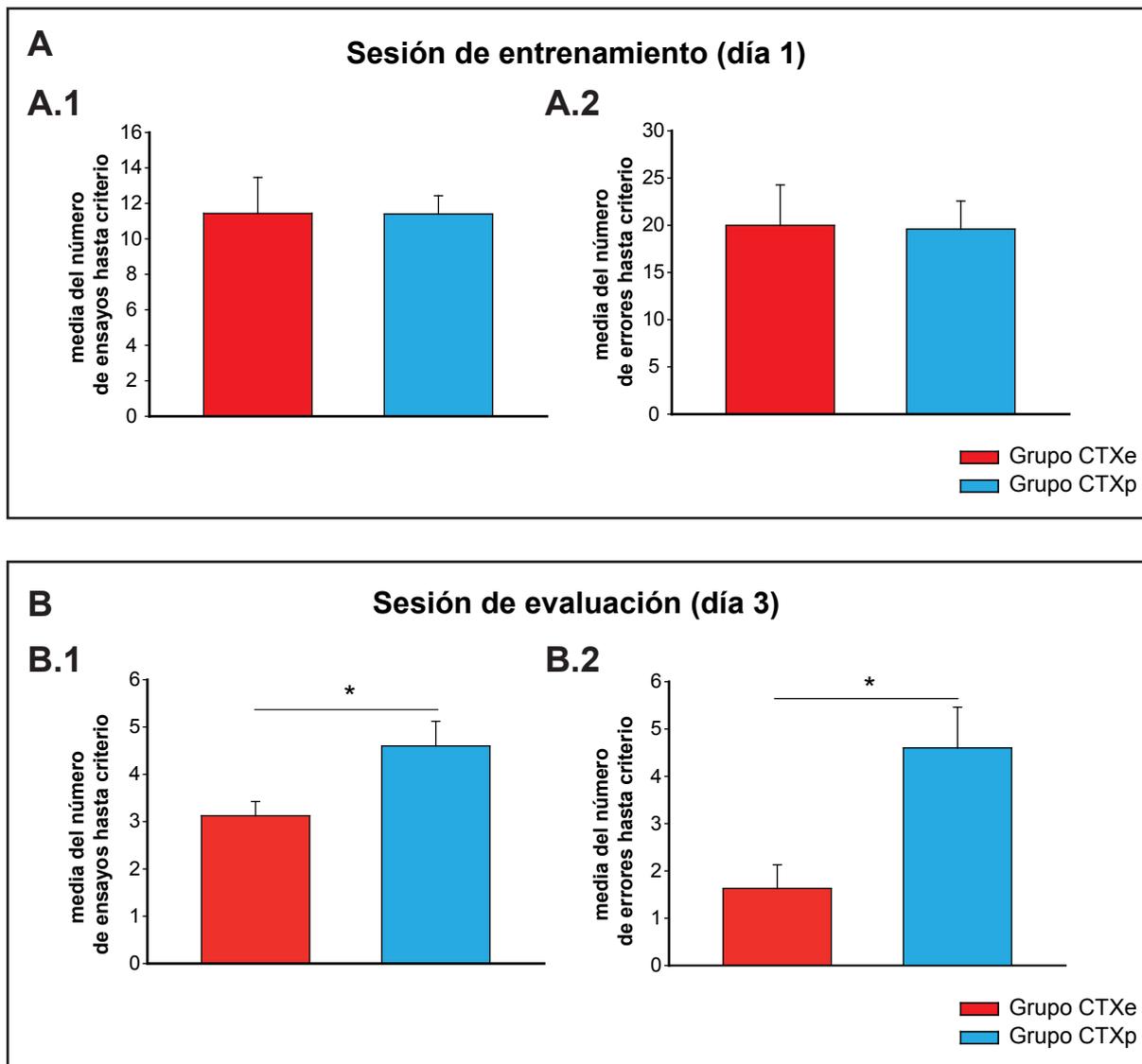


FIGURA 3, Apéndice 1. Importancia del contexto en la retención de la memoria (n=10). **A)** Día de entrenamiento. El grupo contexto enriquecido (grupo CTXe) aprendió la lista de sílabas asociada a un contexto formado por una luz roja, la imagen de Nueva York y música de jazz. El grupo contexto pobre (CTXp) aprendió la lista sin luz de fondo, imagen ni música. **A.1)** Media del número de ensayos hasta llegar a criterio +/- SEM en el día 1. **A.2)** Media del número de errores hasta llegar a criterio +/- SEM en el día 1. **B)** Sesión de evaluación. **B.1)** Media del número de ensayos hasta llegar a criterio +/- SEM en el día 3. **B.2)** Media del número de errores hasta llegar a criterio +/- SEM en el día 3. *, $p < 0,05$.

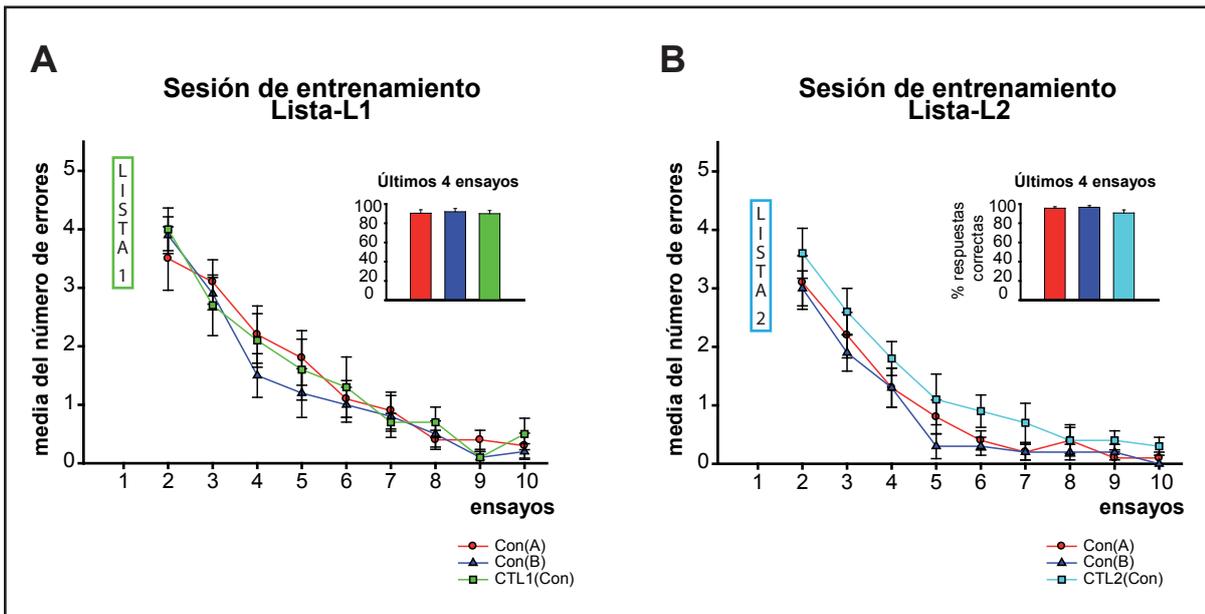


FIGURA 1, Apéndice 2. Experimento 2. Entrenamiento de los grupos consolidación A, B y sus respectivos controles. A) Curva de aprendizaje de la Lista 1, media del número de errores \pm SEM en el día 1, por ensayo. *Inset:* porcentaje de respuestas correctas en los últimos 4 ensayos. **B)** Curva de aprendizaje de la Lista 2. *Inset:* porcentaje de respuestas correctas en los últimos 4 ensayos.

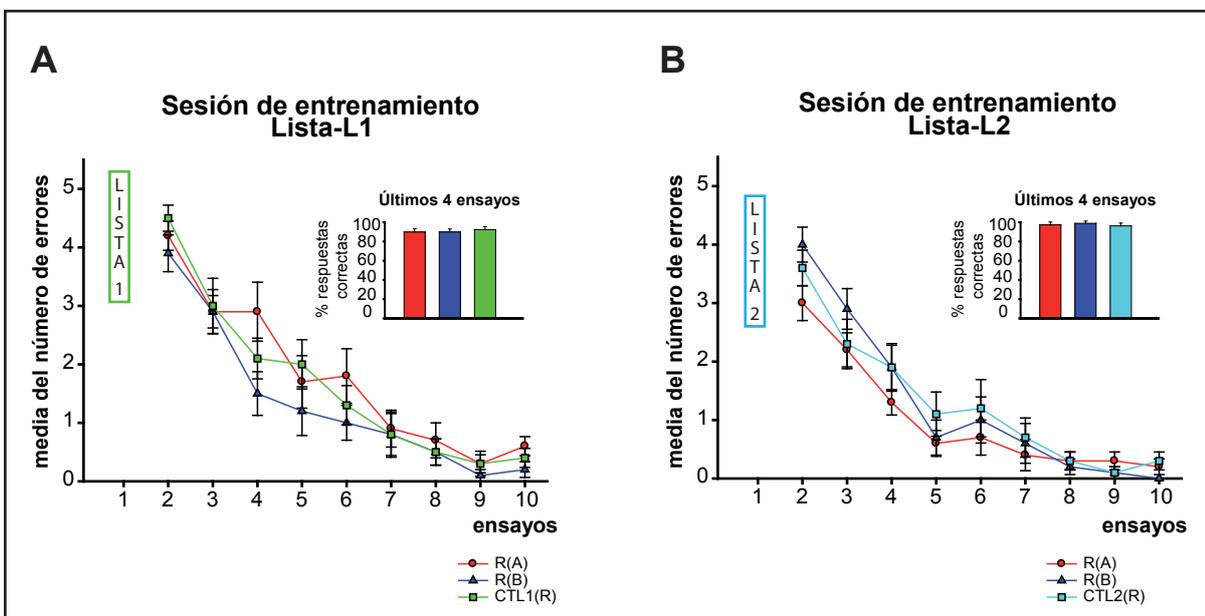


FIGURA 2, Apéndice 2. Experimento 3. Entrenamiento de los grupos recordatorio A, B y sus respectivos controles. A) Curva de aprendizaje de la Lista 1, media del número de errores \pm SEM en el día 1, por ensayo. *Inset:* porcentaje de respuestas correctas en los últimos 4 ensayos. **B)** Curva de aprendizaje de la Lista 2. *Inset:* porcentaje de respuestas correctas en los últimos 4 ensayos.

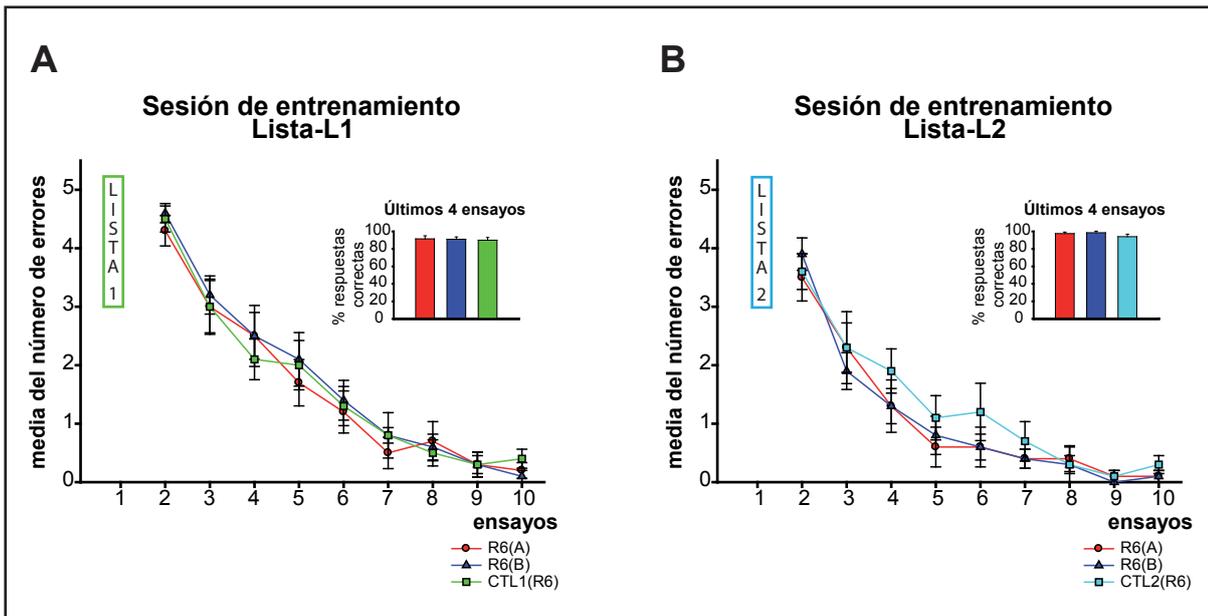


FIGURA 3, Apéndice 2. Experimento 4. Entrenamiento de los grupos recordatorio 6 horas A, B y sus respectivos controles. A) Curva de aprendizaje de la Lista 1, media del número de errores \pm SEM en el día 1, por ensayo. *Inset*: porcentaje de respuestas correctas en los últimos 4 ensayos. B) Curva de aprendizaje de la Lista 2. *Inset*: porcentaje de respuestas correctas en los últimos 4 ensayos.

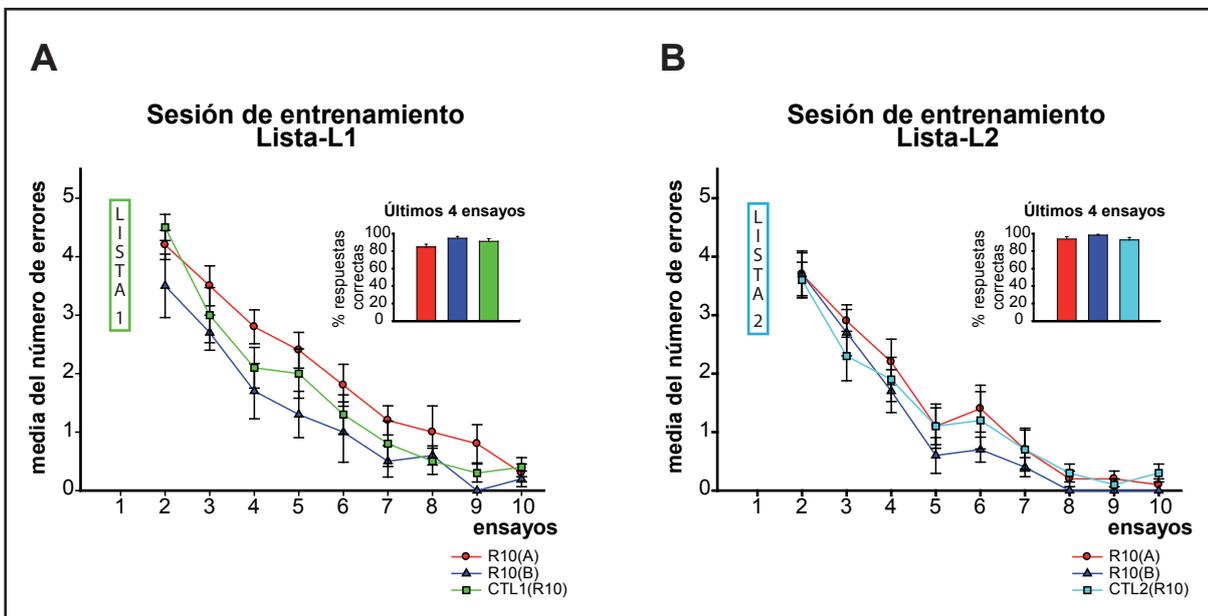


FIGURA 4, Apéndice 2. Experimento 5. Entrenamiento de los grupos recordatorio 10 horas A, B y sus respectivos controles. A) Curva de aprendizaje de la Lista 1, media del número de errores \pm SEM en el día 1, por ensayo. *Inset*: porcentaje de respuestas correctas en los últimos 4 ensayos. B) Curva de aprendizaje de la Lista 2. *Inset*: porcentaje de respuestas correctas en los últimos 4 ensayos.

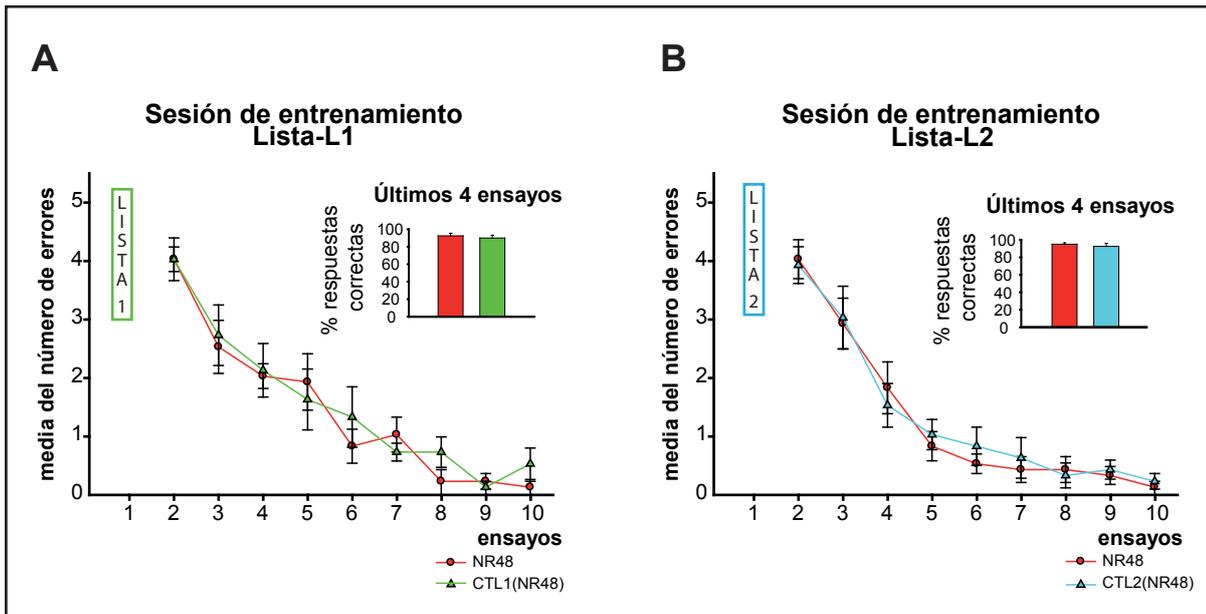


FIGURA 5, Apéndice 2. Experimento 6. Entrenamiento de los grupos no-recordatorio evaluación a las 48 horas y sus respectivos controles. A) Curva de aprendizaje de la Lista 1, media del número de errores +/- SEM en el día 1, por ensayo. *Inset:* porcentaje de respuestas correctas en los últimos 4 ensayos. **B)** Curva de aprendizaje de la Lista 2. *Inset:* porcentaje de respuestas correctas en los últimos 4 ensayos.

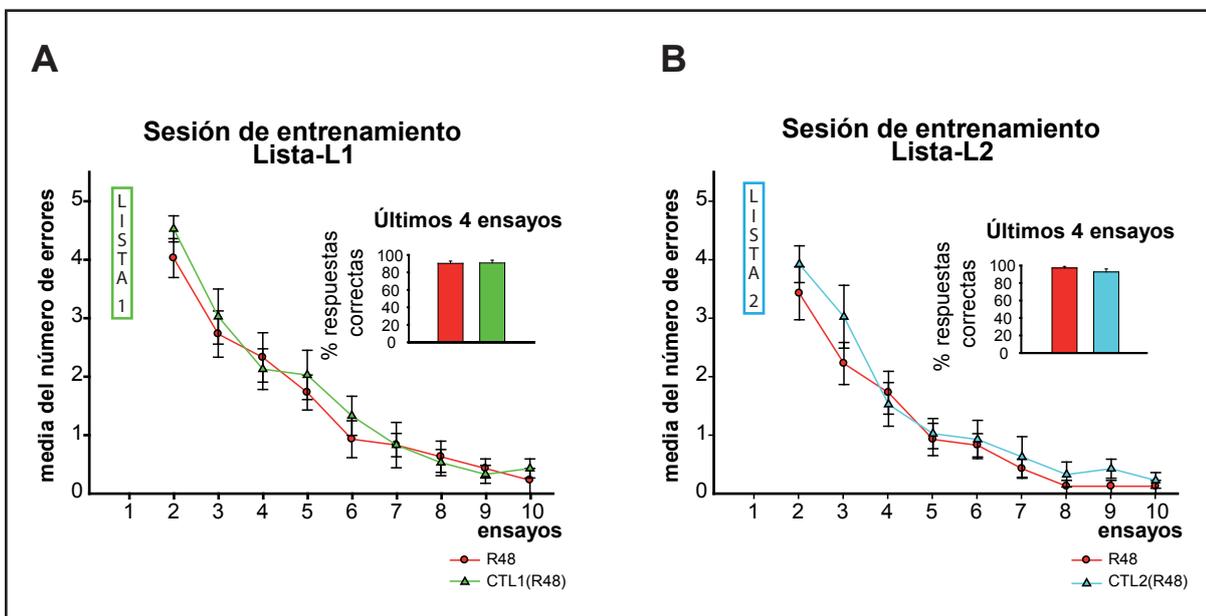


FIGURA 6, Apéndice 2. Experimento 7. Entrenamiento de los grupos recordatorio evaluación a las 48 horas y sus respectivos controles. A) Curva de aprendizaje de la Lista 1, media del número de errores +/- SEM en el día 1, por ensayo. *Inset:* porcentaje de respuestas correctas en los últimos 4 ensayos. **B)** Curva de aprendizaje de la Lista 2. *Inset:* porcentaje de respuestas correctas en los últimos 4 ensayos.

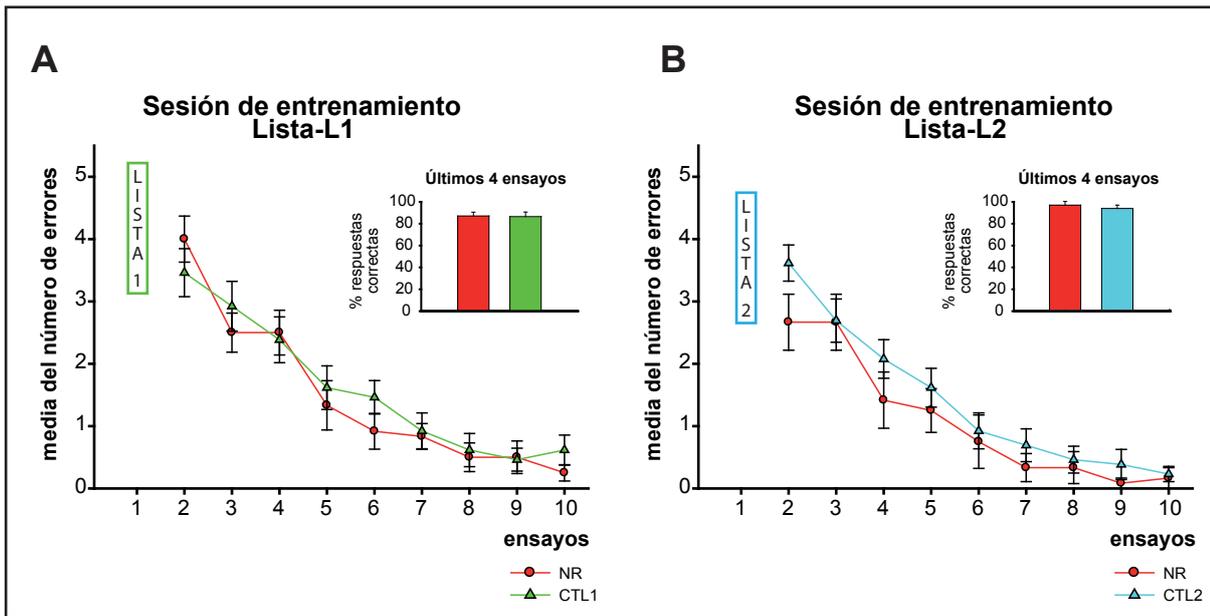


FIGURA 1, Apéndice 3. Experimento 1. Entrenamiento de los grupos no-recordatorio y sus respectivos controles. A) Curva de aprendizaje de la Lista 1, media del número de errores \pm SEM en el día 1, por ensayo. *Inset:* porcentaje de respuestas correctas en los últimos 4 ensayos. **B)** Curva de aprendizaje de la Lista 2. *Inset:* porcentaje de respuestas correctas en los últimos 4 ensayos.

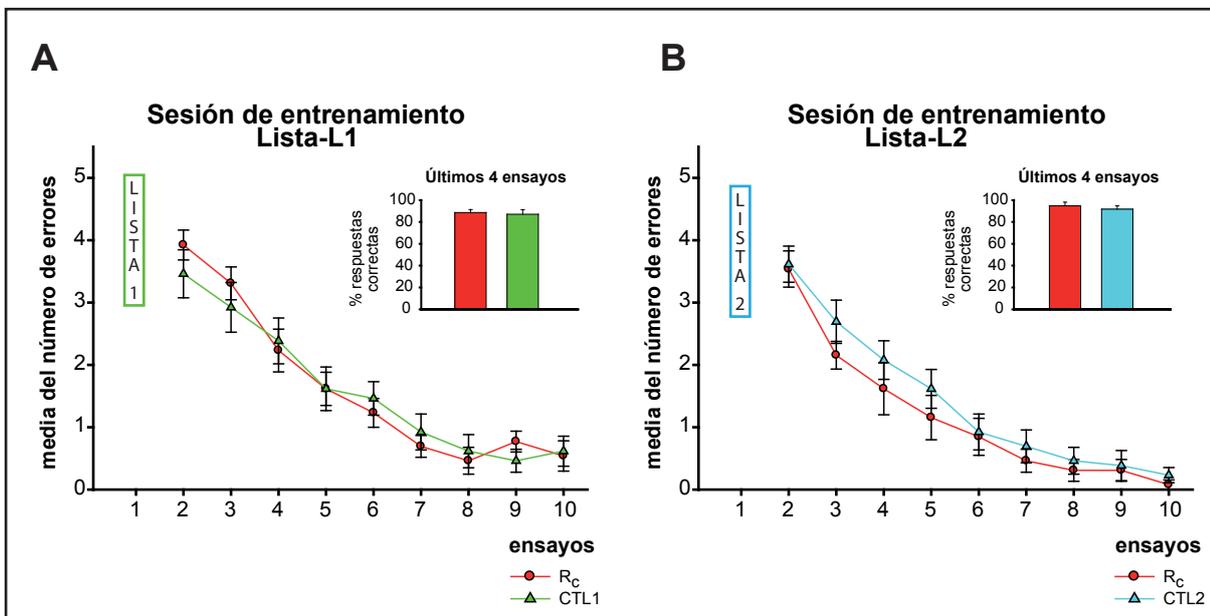


FIGURA 2, Apéndice 3. Experimento 2, Entrenamiento de los grupos recordatorio clave y sus respectivos controles. A) Curva de aprendizaje de la Lista 1, media del número de errores \pm SEM en el día 1, por ensayo. *Inset:* porcentaje de respuestas correctas en los últimos 4 ensayos. **B)** Curva de aprendizaje de la Lista 2. *Inset:* porcentaje de respuestas correctas en los últimos 4 ensayos.

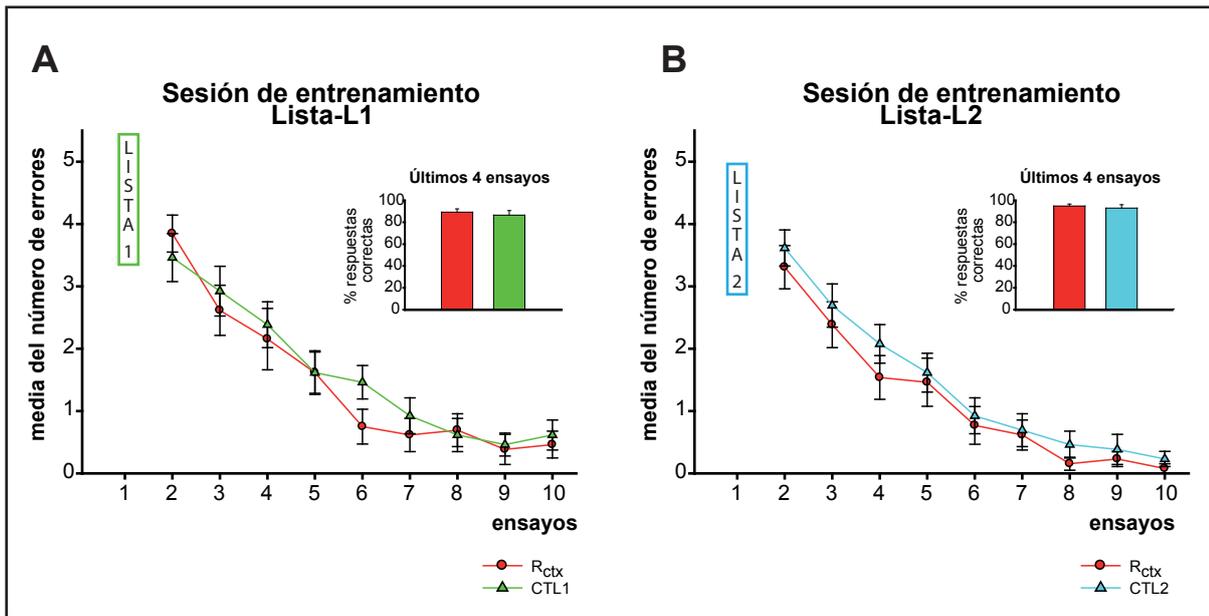


FIGURA 3, Apéndice 3. Experimento 3. Entrenamiento de los grupos recordatorio contexto y sus respectivos controles. A) Curva de aprendizaje de la Lista 1, media del número de errores +/- SEM en el día 1, por ensayo. *Inset*: porcentaje de respuestas correctas en los últimos 4 ensayos. B) Curva de aprendizaje de la Lista 2. *Inset*: porcentaje de respuestas correctas en los últimos 4 ensayos.

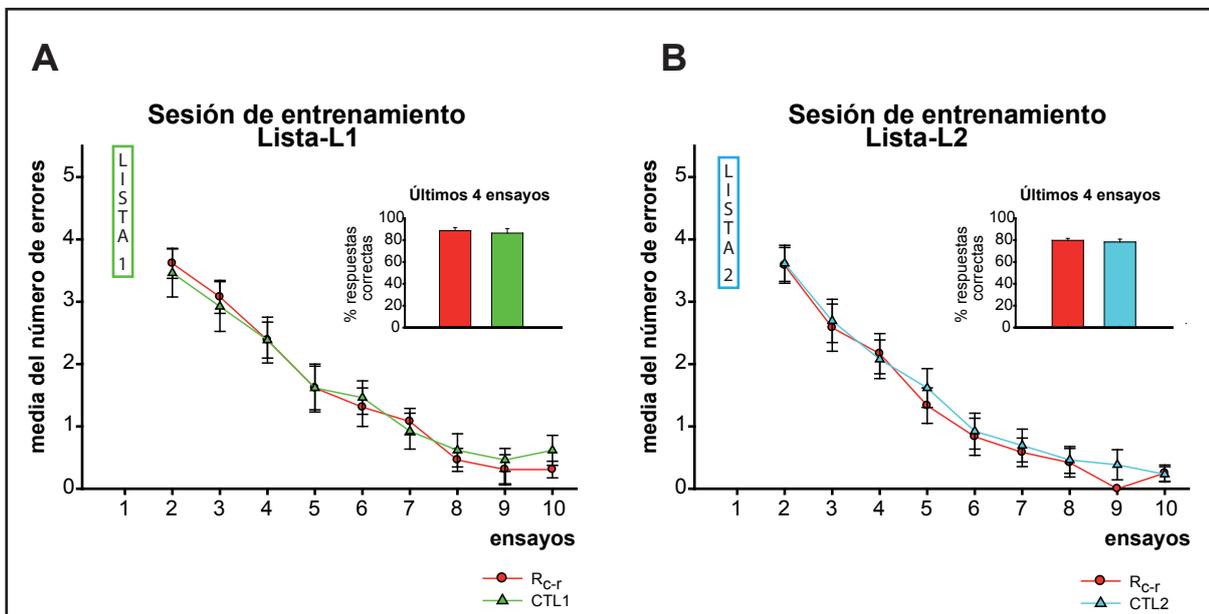


FIGURA 4, Apéndice 3. Experimento 4. Entrenamiento de los grupos recordatorio clave-respuesta y sus respectivos controles. A) Curva de aprendizaje de la Lista 1, media del número de errores +/- SEM en el día 1, por ensayo. *Inset*: porcentaje de respuestas correctas en los últimos 4 ensayos. B) Curva de aprendizaje de la Lista 2. *Inset*: porcentaje de respuestas correctas en los últimos 4 ensayos.

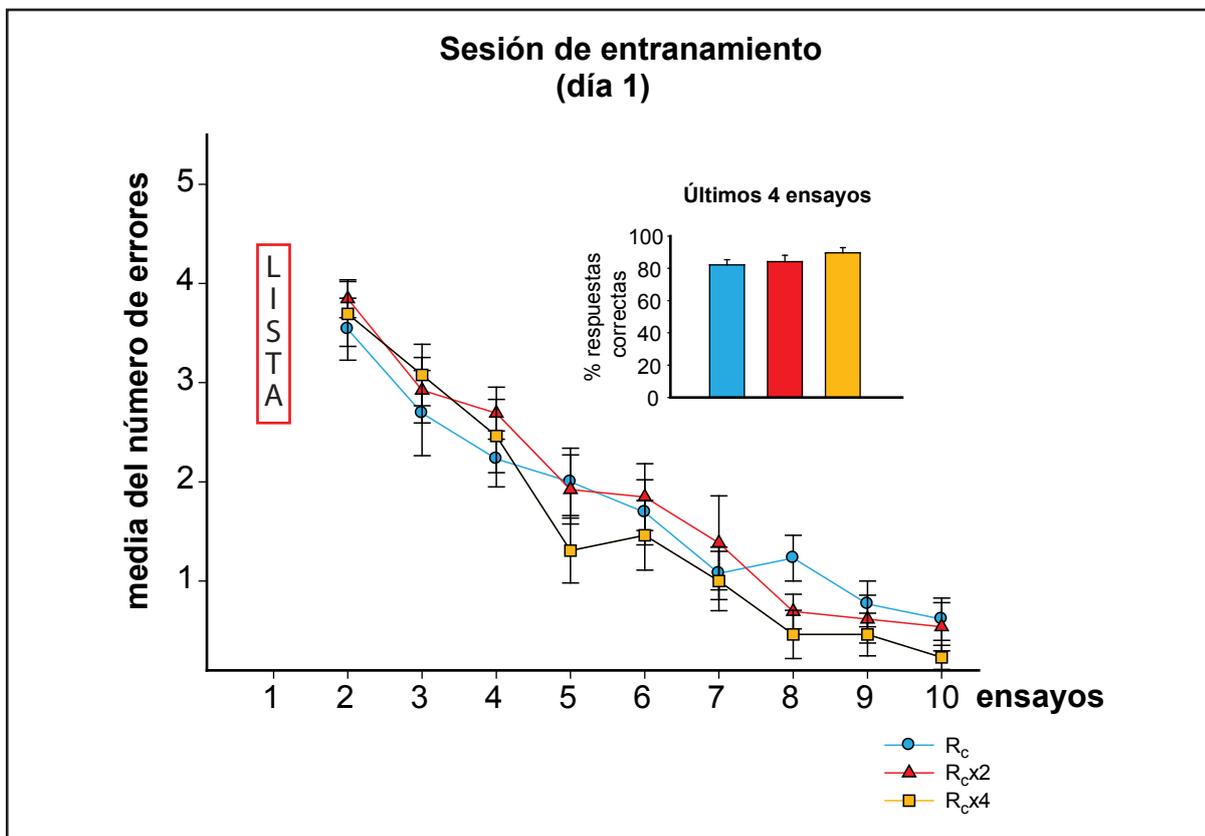


FIGURA 1, Apéndice 4. Experimento 1. Entrenamiento de los grupos recordatorio clave, recordatorio clave x2 y recordatorio clave x4. Curva de aprendizaje de la Lista 1, media del número de errores +/- SEM en el día 1, por ensayo. Inset: porcentaje de respuestas correctas en los últimos 4 ensayos.

A

EXPERIMENTO-1 Adicional	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3
Grupo NR	TRL1	---	TSL1
Grupo R_c	TRL1	R_c	TSL1

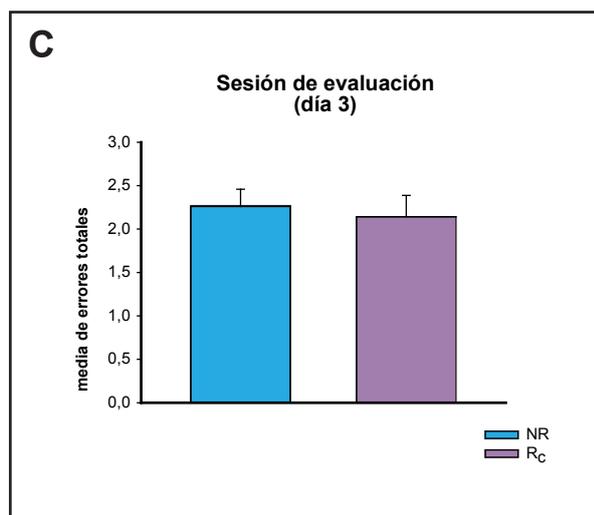
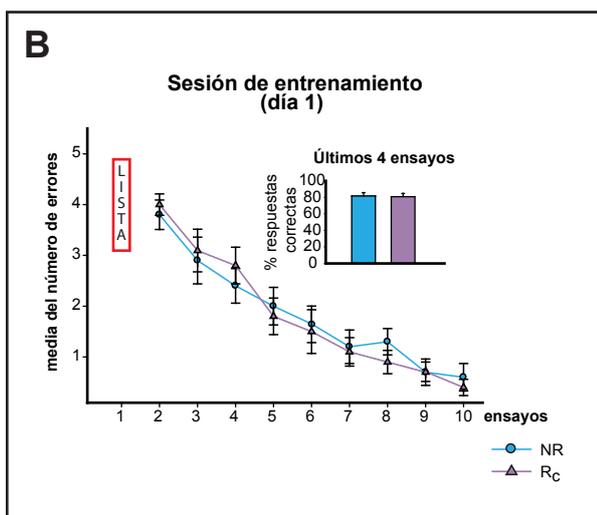


FIGURA 2, Apéndice 4. Experimento 1 Adicional (n=10). A) Protocolo experimental correspondiente a los grupos no-recordatorio y recordatorio clave. TRL1, representa el entrenamiento-L1; R_c , al recordatorio clave; TSL1, a la sesión de evaluación. B) Sesión de entrenamiento. Curva de aprendizaje de la Lista 1, media del número de errores +/- SEM en el día 1, por ensayo. Inset: porcentaje de respuestas correctas en los últimos 4 ensayos. C) Sesión de evaluación. Media de errores totales +/- SEM en el día 3. Las barras celestes corresponden al grupo NR y las púrpuras al grupo R_c .

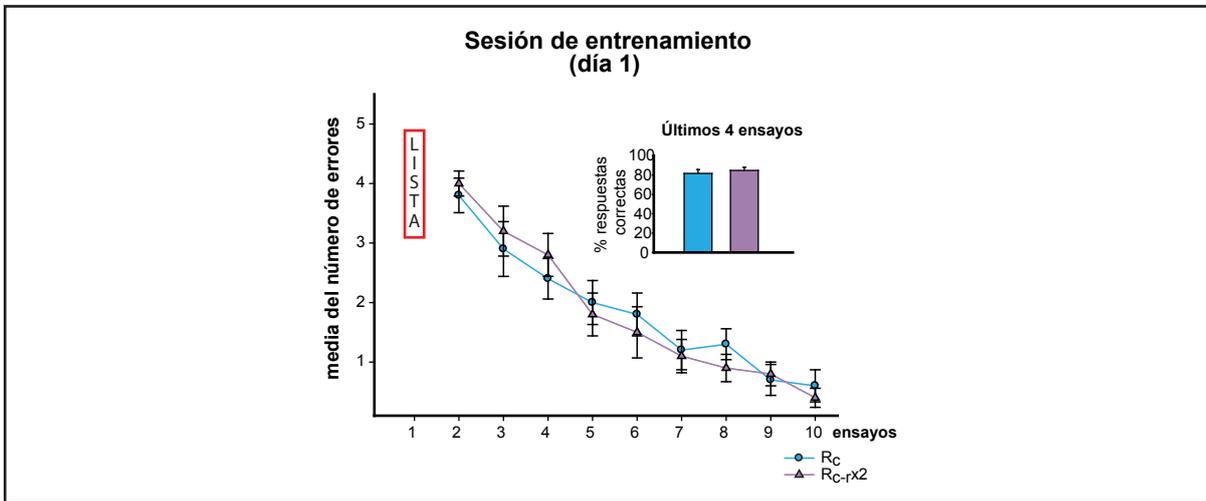


FIGURA 3, Apéndice 4. Experimento 2. Entrenamiento de los grupos recordatorio clave, recordatorio clave-respuesta x2. Curva de aprendizaje de la Lista 1, media del número de errores +/- SEM en el día 1, por ensayo. *Inset*: porcentaje de respuestas correctas en los últimos 4 ensayos.

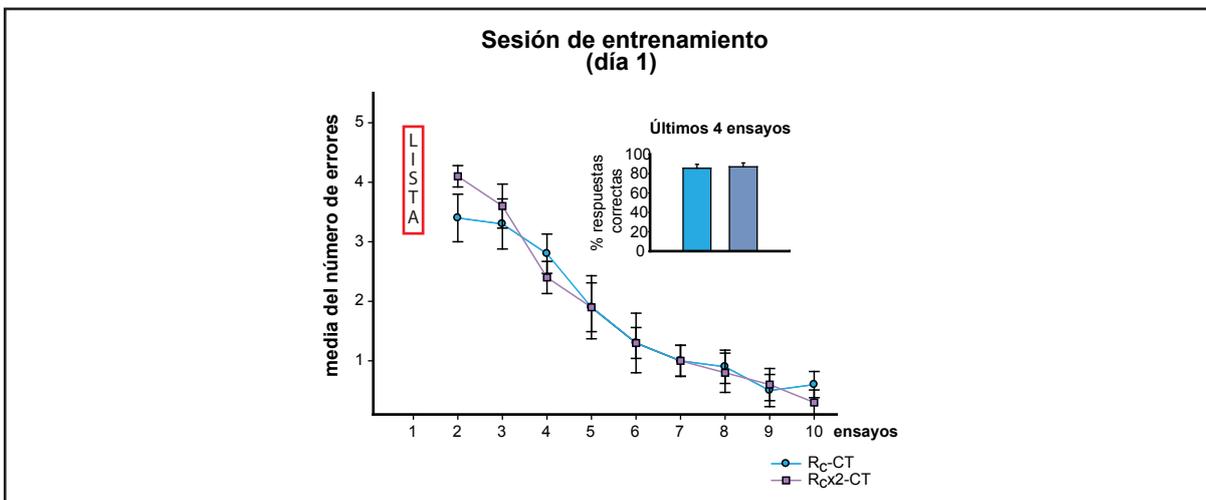


FIGURA 4, Apéndice 4. Experimento 3. Entrenamiento de los grupos recordatorio clave-corto término y recordatorio clave x2-corto término. Curva de aprendizaje de la Lista 1, media del número de errores +/- SEM en el día 1, por ensayo. *Inset*: porcentaje de respuestas correctas en los últimos 4 ensayos.

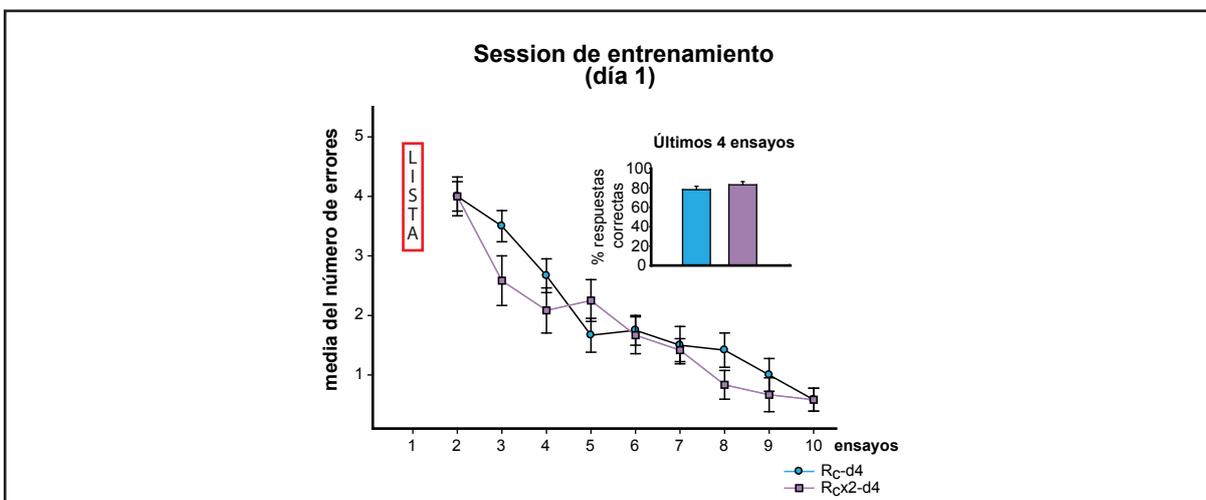


FIGURA 5, Apéndice 4. Experimento 4. Entrenamiento de los grupos recordatorio clave-evaluación a 4 días, recordatorio clave x2-evaluación a 4 días. Curva de aprendizaje de la Lista 1, media del número de errores +/- SEM en el día 1, por ensayo. *Inset*: porcentaje de respuestas correctas en los últimos 4 ensayos.

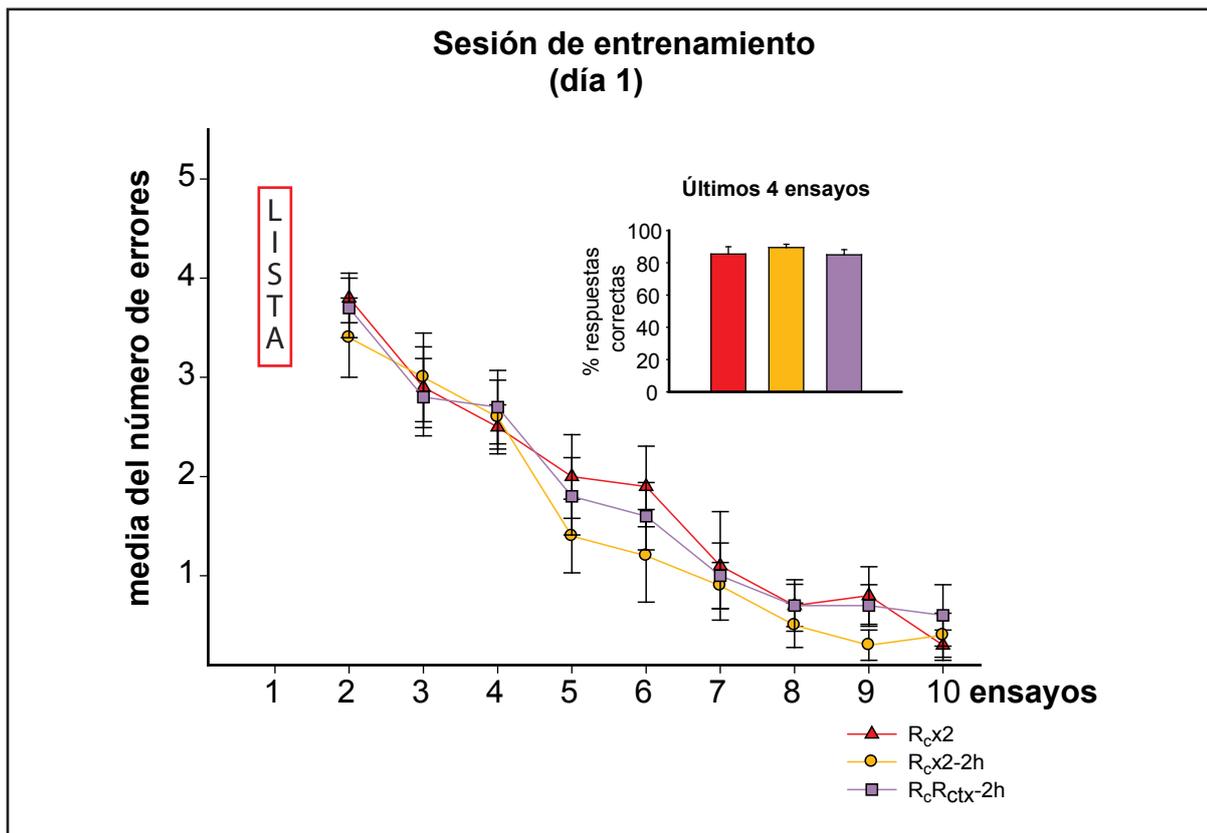


FIGURA 6, Apéndice 4. Experimento 5. Entrenamiento de los grupos recordatorio clave X2, recordatorio clave x2-2h y recordatorio mixto-2h. Curva de aprendizaje de la Lista 1, media del número de errores +/- SEM en el día 1, por ensayo. Inset: porcentaje de respuestas correctas en los últimos 4 ensayos.

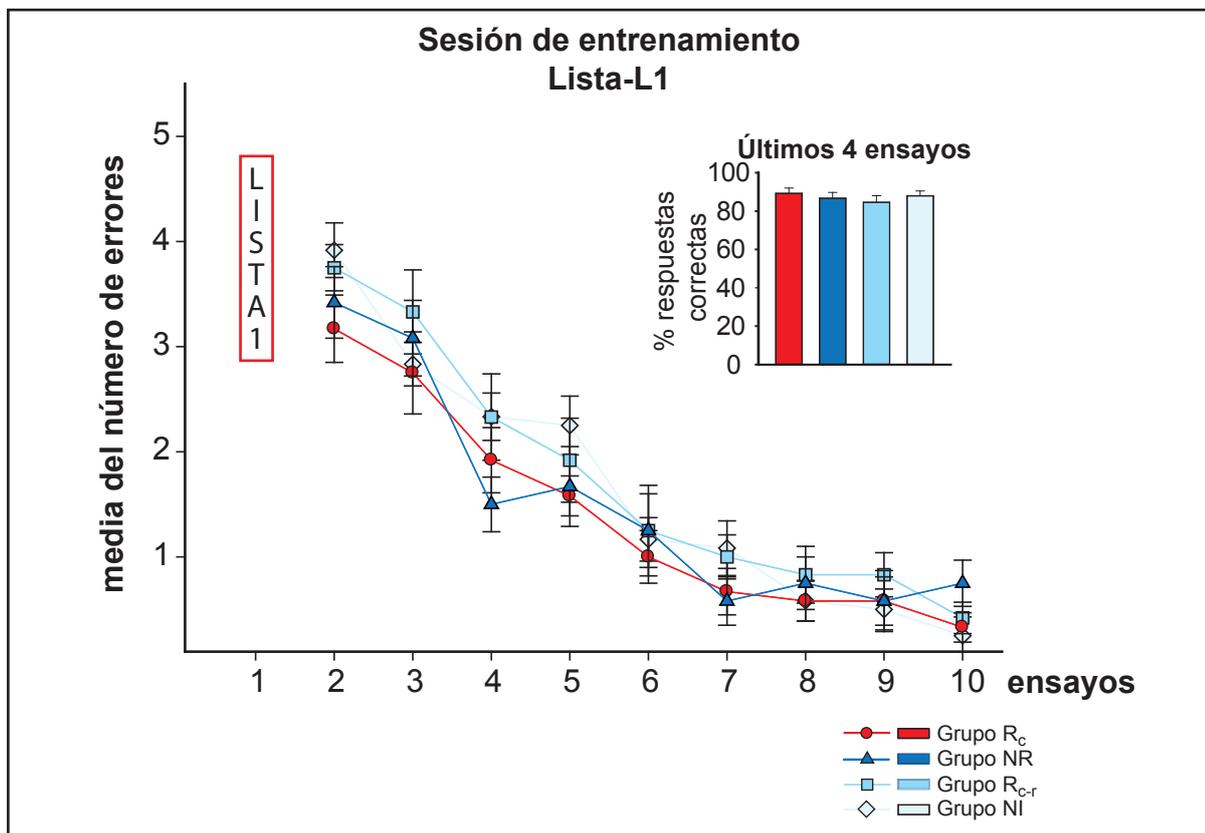


FIGURA 1, Apéndice 5. Entrenamiento grupos principales. Curva de aprendizaje de la Lista 1, media del número de errores +/- SEM en el día 1, por ensayo. *Inset:* porcentaje de respuestas correctas en los últimos 4 ensayos.

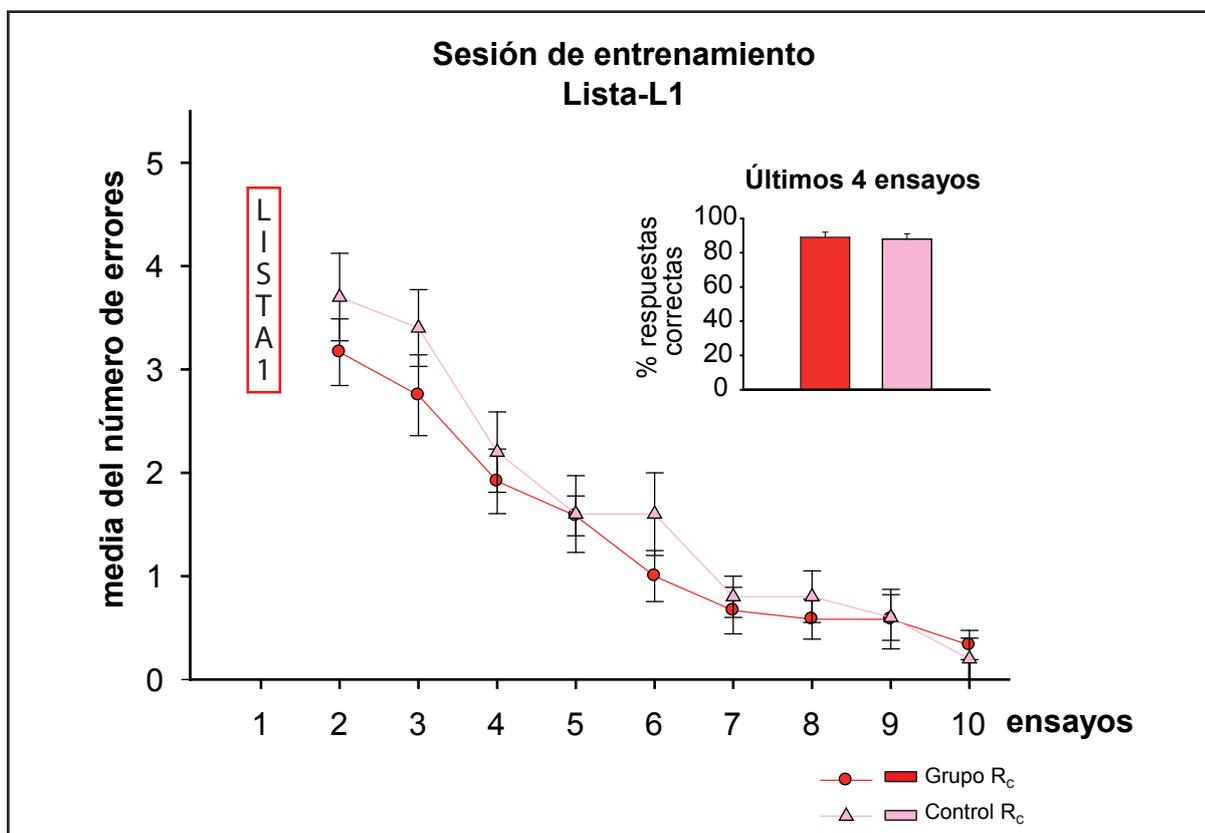


FIGURA 2, Apéndice 5. Entrenamiento grupo recordatorio clave y su respectivo control. Curva de aprendizaje de la Lista 1, media del número de errores +/- SEM en el día 1, por ensayo. *Inset:* porcentaje de respuestas correctas en los últimos 4 ensayos.

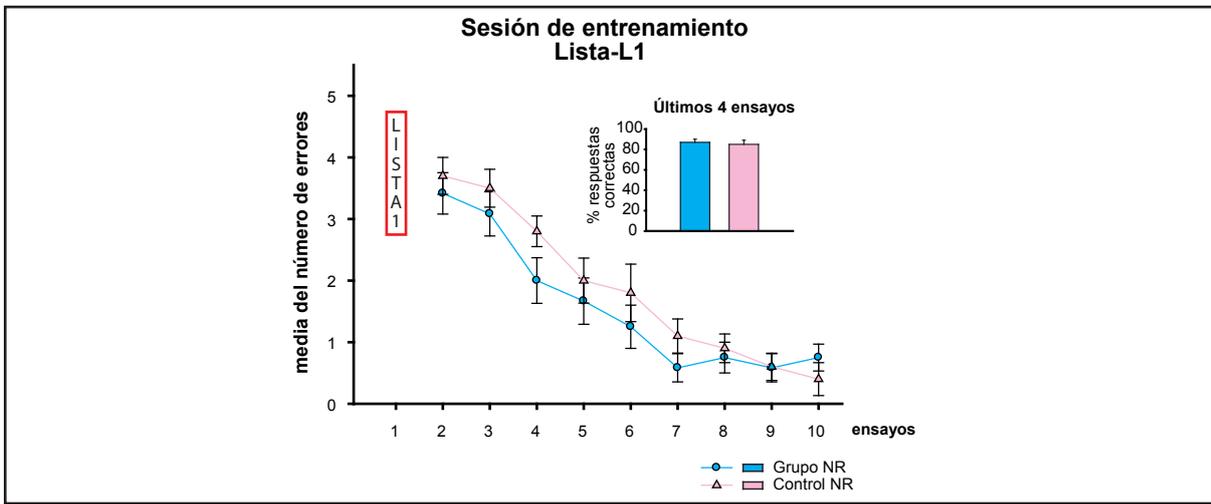


FIGURA 3, Apéndice 5. Entrenamiento grupos no-recordatorio y su respectivo control. Curva de aprendizaje de la Lista 1, media del número de errores +/- SEM en el día 1, por ensayo. *Inset:* porcentaje de respuestas correctas en los últimos 4 ensayos.

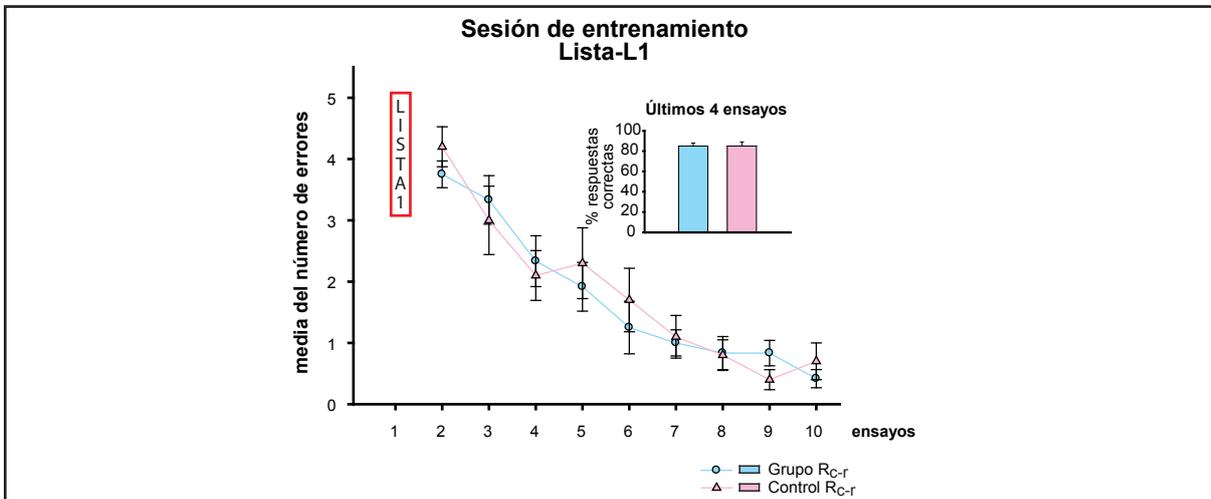


FIGURA 4, Apéndice 5. Entrenamiento grupos recordatorio clave-respuesta y su respectivo control. Curva de aprendizaje de la Lista 1, media del número de errores +/- SEM en el Día 1, por ensayo. *Inset:* porcentaje de respuestas correctas en los últimos 4 ensayos.

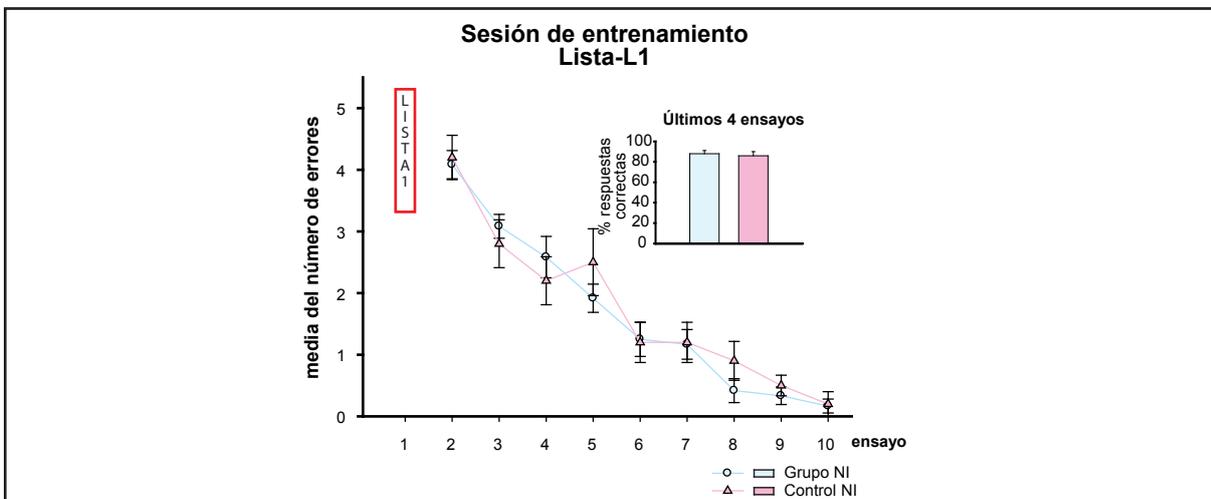


FIGURA 5, Apéndice 5. Entrenamiento grupos no-instrucción y su respectivo control. Curva de aprendizaje de la Lista 1, media del número de errores +/- SEM en el día 1, por ensayo. *Inset:* porcentaje de respuestas correctas en los últimos 4 ensayos.