



# **UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO**

---

FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

**“ANÁLISIS DE LA ACTIVIDAD ELÉCTRICA DE LOS CIRCUITOS  
INTRAHIPOCAMPALES DURANTE EL PROCESO DE CONSOLIDACIÓN DE  
UNA TAREA DE MEMORIA ESPACIAL EN LA RATA”**

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE QUÍMICA FARMACOBIOLOGA

PRESENTADO POR:

**p. Q.F.B. ZAIRA LIZETH ALVAREZ BRAVO**

ASESOR DE TESIS:

**M.C J. JESÚS HERNÁNDEZ PÉREZ**

CO-ASESORA:

**D. C MARIA ESTHER OLVERA CÓRTES**

MORELIA, MICHOACAN

NOVIEMBRE 2016



## INDICE GENERAL

<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	4
<b>AGRADECIMIENTOS ESPECIALES</b> .....	5
<b>DEDICATORIA</b> .....	6
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	7
<b>LISTA DE ABREVIACIONES</b> .....	8
<b>GLOSARIO DE TERMINOS</b> .....	9
<b>RESUMEN</b> .....	10
<b>ABSTRACT</b> .....	12
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	13
<b>Tipos de memoria</b> .....	15
<b>Hipocampo</b> .....	16
<b>Anatomía y citoarquitectura del hipocampo</b> .....	16
<b>Composición celular del Hipocampo</b> .....	19
<b>Giro dentado</b> .....	21
<b>Conexiones del hipocampo</b> .....	22
<b>Organización del sistema inhibitorio del hipocampo (interneuronas)</b> .....	25
<b>Función del hipocampo en la memoria</b> .....	27
<b>SUEÑO</b> .....	29
<b>Sueño no-MOR</b> .....	32
<b>El sueño y la consolidación de la memoria</b> .....	34
<b>Sueño MOR y la consolidación de la memoria</b> .....	36
<b>Actividad eléctrica durante el sueño</b> .....	38
<b>Actividad theta</b> .....	38
<b>ANTECEDENTES</b> .....	40
<b>Evidencia del aumento de sueño MOR después del aprendizaje</b> .....	41
<b>Procesamientos de la memoria durante el sueño MOR</b> .....	42
<b>Formación de la memoria en ausencia de sueño MOR</b> .....	43
<b>HIPÓTESIS</b> .....	49
<b>OBJETIVOS</b> .....	50
<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	51

<b>Animales experimentales</b> .....	51
<b>Construcción de electrodos</b> .....	52
<b>Procedimientos quirúrgicos para el implante de electrodos</b> .....	52
<b>Registros polisomnográficos</b> .....	53
<b>Procedimientos de registro</b> .....	55
<b>Análisis de los datos</b> .....	58
<b>RESULTADOS</b> .....	59
<b>Análisis de la arquitectura del sueño MOR posterior a la ejecución de la tarea de memoria espacial</b> .....	61
<b>Potencia relativa de la actividad theta en sueño MOR de cinco horas de registro en la condición basal</b> .....	64
<b>Potencia relativa de la actividad theta de sueño MOR en la condición de aprendizaje espacial</b> .....	66
<b>Potencia relativa de la actividad theta de sueño MOR en la condición de aprendizaje espacial correspondiente a la primera ventana temporal de sueño</b> ...	69
<b>Coherencia de la banda theta registrada durante el sueño MOR en la condición de aprendizaje espacial</b> .....	72
<b>DISCUSION</b> .....	74
<b>Arquitectura global de sueño MOR</b> .....	74
<b>Actividad theta de sueño MOR en la condición de aprendizaje espacial</b> .....	76
<b>Actividad theta de sueño MOR en la condición de aprendizaje espacial correspondiente a la primera ventana temporal de sueño</b> .....	77
<b>Coherencia de la banda theta registrada durante el sueño MOR en la condición de aprendizaje espacial</b> .....	78
<b>CONCLUSIÓN</b> .....	81
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	82

## AGRADECIMIENTOS

Primeramente a Dios, por permitirme llegar a la culminación de este trabajo.

A mis padres, **ANA BERTHA BRAVO y LUIS ALVAREZ**, a ellos les debo todo lo que soy, gracias por enseñarme a luchar por mis ideales y a jamás darme por vencida, los amo con todo mi corazón y mamá eres mi más grande ejemplo a seguir, me siento muy orgullosa de ser tu hija.

A mis hermanos, **MARIO y CRISTIAN**, por estar siempre al pendiente de mi, los quiero mucho y a donde quiera que vaya van a estar en mis pensamientos, también muchas gracias por esas dos hermosas sobrinas que han llegado a la familia para llenarla de alegría, Polethe y Sofi.

A mi amiga **DIANA**, gracias por todo tu apoyo, por tus palabras de aliento, por estar conmigo en las buenas y también en las peores, tú más que nadie sabe todo lo que pasamos para terminar este trabajo, te quiero mucho amiga.

A las cinco mosqueteras, que ahora ya somos seis, **YAKI, GABY, LUZ, CHUY y DANNA**. Gracias chicas por estar al pendiente de mi, las quiero mucho.

A mis suegros; **MARGARITA y SALVADOR** por todo el apoyo que nos han dado, especialmente a mí, les doy las gracias por todos sus consejos.

Y por último, pero no menos importante, a mi esposo **IVIS JESUS**, te doy las gracias amor por dejarme abrir las alas y permitirme crecer profesionalmente, por tu apoyo incondicional. Te amo mi vida.

## **AGRADECIMIENTOS ESPECIALES**

En primer lugar a **JESUS HERNANDEZ PEREZ**, el mejor asesor que pude tener. No me alcanzan las palabras para expresarte mi agradecimiento, gracias por todas tus enseñanzas, por la paciencia y las horas dedicadas a la elaboración de este proyecto, supiste ser no solo un asesor sino también un amigo y eso es muy valioso para mí.

A **BLANCA ESTHELA GUTIERREZ** por compartir conmigo sus conocimientos, por ser una amiga dentro y fuera del laboratorio, tu amistad para mí es algo invaluable.

A la **DC. ESTHER OLVERA CORTES**, por permitirme formar parte de su equipo de trabajo y brindarme un espacio en su laboratorio.

A mis compañeros de laboratorio, **ALDO, ELOY, YOANA, MARIANA, CARLA y ARTURO**, por hacer cada día el trabajo de laboratorio más llevadero.

## DEDICATORIA

A mi Ángel hermoso:

**MATHIAS HAZI**, a ti te quiero dedicar este logro y todos los que me faltan por cumplir, quiero que allá desde el cielo te sientas muy orgulloso de mi, comenzaste conmigo este camino y aunque no estás físicamente yo sé y estoy segura que desde arriba cuidas mis pasos y me bendices siempre, eres el amor más grande y puro que la vida me dio. Nada ha sido fácil desde aquel día, pero aquí estoy de pie y tú me enseñaste a luchar hasta el final, fuiste mi motivación para seguir adelante y hoy por hoy me has hecho una mujer más fuerte. Te amo hijo y siempre así será.

## LISTA DE FIGURAS

Áreas encefálicas asociadas con funciones del aprendizaje y la memoria declarativa.

Esquema de los circuitos en el hipocampo adulto.

Representación tridimensional del hipocampo de ratón.

Anatomía del hipocampo.

Diagrama de los circuitos del hipocampo.

Interneuronas del hipocampo propio y el giro dentado.

Rata Spague-Dawley macho.

Esquema del arreglo de electrodos.

Posición anatómica de Bregma.

Rata experimental en la caja de sueño.

Protocolo experimental.

Laberinto acuático de Morris.

Rata experimental en caja de mantenimiento.

Microfotografía del hipocampo.

Traza de la actividad theta.

Grafica de distribución del tiempo total de sueño MOR.

Grafica de distribución del número de eventos de sueño MOR.

Grafica de distribución de la duración de los eventos de sueño MOR.

Grafica de distribución de potencia relativa de la banda theta en la condición basal.

Grafica de distribución de potencia relativa de la banda theta durante la 5 h de registro.

Grafica de distribución de potencia relativa de la banda theta de la primera ventana de sueño MOR.

Coherencia de la banda theta durante el sueño MOR.

## LISTA DE ABREVIACIONES

EEG	Electroencefalograma
EOG	Electroocularograma
EMG	Electromiograma
Hz	Hertzio
Khz	Kilohertz
NSQ	Núcleo supraquiasmático
MOR	Movimientos Oculares Rápidos
No MOR	No Movimientos Oculares Rápidos
PGO	Ondas Ponto-Geniculo-Occipitales
CA1	Cuerno de Amón 1
CA3	Cuerno de Amón 3
Ca <sup>2+</sup>	Calcio
PR	Potencia Relativa
LIA	Actividad Irregular de gran amplitud
St. PirCA1	Estrato piramidal CA1
St. Rad	Estrato radiado
St. Lac-Mol	Estrato lacunoso-molecular
St. PirCA3	Estrato piramidal CA3
Vs	Versus
Min	Minutos
D1	Día 1
D2	Día 2
D3	Día 3
D4	Día 4
gr	gramos
hrs	horas
mg	miligramos
Kg	Kilogramos

## GLOSARIO DE TERMINOS

**Aprendizaje.** Proceso por el que los organismos modifican su conducta para adaptarse a las condiciones cambiantes e impredecibles del medio que los rodea.

**Memoria.** Proceso por el cual la información adquirida se convierte en conocimiento que guardamos para utilizarlo posteriormente cuando sea necesario.

**Sueño.** Estado natural y reversible en la reducción de la capacidad de respuesta a los estímulos externos e inactividad relativa, acompañada por una pérdida de la conciencia.

**Actividad theta.** Oscilaciones sincronizadas de potenciales de campo locales de poblaciones neuronales en el intervalo de 4 a 12 Hz.

**Consolidación.** Proceso de fortalecimiento dependiente del tiempo de las nuevas memorias que son inicialmente lábiles, mediante la reactivación de los circuitos neuronales que participaron en la formación de la memoria dentro de un periodo de horas o días posterior al episodio de la codificación de la memoria.

**Plasticidad sináptica.** Se refiere a los cambios dependientes de la actividad neuronal que se producen en la transmisión sináptica como resultado de la experiencia.

**Coherencia.** Es la correlación lineal normalizada que existe entre dos pares de canales EEG e informa sobre los componentes frecuenciales comunes a ellos, junto con la magnitud de su asociación.

**Potencia.** Cantidad de energía eléctrica o de trabajo que se transporta o se consume en una determinada unidad de tiempo. En un número al cuadrado, multiplicado por la raíz y dividido con el producto.

**Potencia absoluta.** Es en número de veces que aparece un determinado valor en un estudio estadístico.

**Potencia relativa.** Es el resultado de dividir la frecuencia absoluta de un determinado valor entre el número total de datos.

## RESUMEN

El proceso de consolidación permite el fortalecimiento dependiente del tiempo de las memorias nuevas, memorias que son inicialmente lábiles para ser transformadas en memorias de largo plazo. Se ha sugerido que la consolidación se lleva a cabo mediante la reactivación de los circuitos neuronales que participaron en la formación de la memoria dentro de un periodo de horas o días posterior al episodio de la codificación de la memoria. Adicionalmente, es conocido que el hipocampo es una estructura clave para la formación, consolidación y recuperación de las memorias. Con el objetivo de entender el mecanismo de consolidación de la memoria, en este trabajo se analizó la señal eléctrica de los circuitos intra-hipocampales durante el periodo de consolidación de una tarea de memoria. Se implanto un arreglo de 8 microelectrodos para censar la actividad de los circuitos intra-hipocampales de 6 ratas macho. Los roedores fueron evaluados en la tarea de memoria espacial de laberinto acuático de Morris durante 4 días. Inmediatamente después de la tarea, los animales fueron conectados a un polígrafo durante 5 horas (correspondientes al periodo de consolidación) y se registró la señal electrofisiológica. Se analizó el patrón de las señales eléctricas de los circuitos intra-hipocampales, así como el acoplamiento entre estos mediante los análisis espectrales de potencia y de coherencia durante la fase de sueño movimientos oculares rápidos (MOR). Los resultados mostraron que la actividad oscilatoria en la condición basal (dos días antes del inicio de la tarea de memoria), la fase de sueño MOR fue caracterizada por prominentes oscilaciones theta (4-12 Hz) con una frecuencia pico de 7.5 Hz, mientras que la fase de adquisición de la tarea correspondiente al día uno de entrenamiento fue caracterizada por una reducción en la frecuencia oscilatoria, con una frecuencia pico de 7.0 Hz. Interesantemente, durante la fase de recuperación de la tarea (día 4 de entrenamiento) la actividad theta de los circuitos hipocampales mostró una recuperación en la frecuencia oscilatoria y un incremento en la potencia pico comparado con la condición basal. Adicionalmente, el acoplamiento de los circuitos internos del hipocampo medido a través del análisis de coherencia mostró un incremento a través de los días de entrenamiento. En conclusión, los cambios

en la actividad eléctrica (frecuencia y coherencia) durante el sueño MOR pueden estar asociados a las dinámicas de los circuitos hipocampales que favorecen el proceso de consolidación de las nuevas memorias

**Palabras clave:** Sueño, sueño MOR, actividad theta, plasticidad sináptica, potencia relativa, coherencia.

## ABSTRACT

The time-dependent consolidation process allows strengthening the new memories that are initially labile to be transformed into long-term memories. It has been suggested that the consolidation is carried out by reactivating the neural circuits involved in memory formation within a period of hours or days after of event of memory encoding. Additionally, it is known that the hippocampus is a key structure for the formation, consolidation and retrieval of memories. In order to understand the mechanism of memory consolidation, in this work, the electrical signal of the the intra-hippocampal circuits was evaluated during the period of consolidation of a memory task. An array of 8 microelectrodes was implanted in the right hippocampus of six male rats in order to record the intra-hippocampal electrical activity. Rodents were evaluated in the spatial memory task of Morris maze for 4 days. Immediately after the task, animals were connected to a polygraph for 5 hours (for the period of consolidation) and electrophysiological signal was recorded. The pattern of electrical signals and the coupling between intra-hippocampal circuits was assessed by the spectral analyses of power and coherence during the rapid eye movement sleep (REM). The results showed that oscillatory activity at baseline (two days before to start the memory task), the REM sleep state was characterized by prominent oscillations theta (4-12 Hz) with a peak frequency of 7.5 Hz, while that the acquisition phase of the memory task (training day one) was characterized by a reduction in oscillatory frequency with a peak frequency of 7.0 Hz. Interestingly, during the retrieval phase of the task (training day four) the hippocampal theta activity showed recovery in frequency and an increase in peak power compared to baseline. Additionally, the coupling of the internal circuitry of the hippocampus measured by the coherence analysis showed an increase through of the training days. In conclusion, changes in the electrical activity (frequency and coherence) during the REM sleep may be associated to dynamics of hippocampal circuits that favor the consolidation of new memories.

## INTRODUCCIÓN

En los seres humanos como en el resto de los mamíferos, el aprendizaje y la memoria son mecanismos biológicos importantes a través de los cuales la conducta puede ser modificada (Kandel ER, 1982). Ambos fenómenos resultan de la actividad fisiológica repetitiva de millones de neuronas que forman ensambles o circuitos neuronales específicos que refuerzan sus conexiones activas por medio de la plasticidad sináptica (Bear MF 1998, Leff P, Romo-Parra H 2001, Pujol GX 2006, Vázquez GH 2005). Tal vez la propiedad más fascinante del cerebro es su capacidad para almacenar y recuperar información de forma deliberada, igualmente interesante es la capacidad innata para olvidar la información almacenada (Vázquez GH 2005 y Purves D 2001).

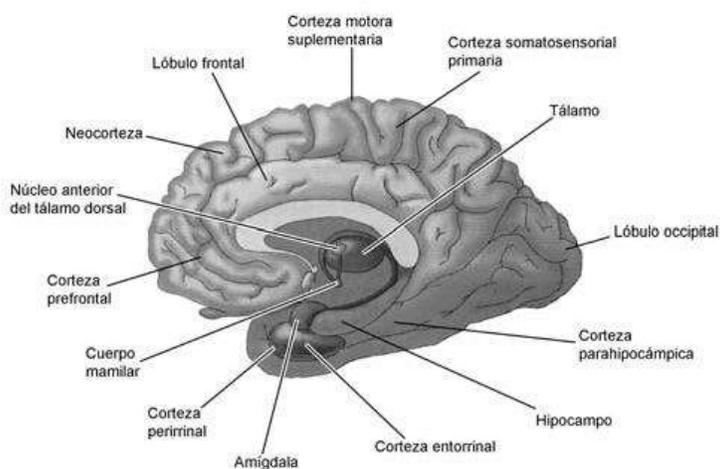
El aprendizaje es un proceso a través del cual los organismos modifican su conducta para adaptarse a las condiciones cambiantes e impredecibles del medio. Junto a las fuerzas selectivas de la evolución, el aprendizaje constituye el modo principal de adaptación de los seres vivos. Cuanto más cambiante es el entorno, más plástica debe ser la conducta. El aprendizaje puede considerarse como cambios duraderos en la conducta de los organismos producidos por modificaciones en la actividad del sistema nervioso como resultado de la experiencia.

La información que se adquiere o se aprende es retenida o almacenada en el cerebro en forma de memoria. Por definición, no hay aprendizaje sin memoria, ni memoria sin aprendizaje. Entonces podemos definir a la memoria como el proceso por el cual la información adquirida se convierte en conocimiento que puede ser almacenado para utilizarlo posteriormente cuando sea necesario. Asimismo, la memoria es considerada una función intelectual que se sustenta en las características estructurales y funcionales del sistema nervioso central (SNC) y que se caracteriza por la adquisición, el almacenamiento y la recuperación de la información. Estudios clínicos desarrollados en humanos, y en animales

experimentales, han identificado diferentes estructuras cerebrales relacionadas con la memoria, como el hipocampo, el tálamo, la amígdala, los cuerpos mamilares y el cerebelo, entre otras.

Aprendizaje y memoria son dos procesos que están presentes como parte de muchas otras funciones cerebrales, como la percepción sensorial, las emociones o el lenguaje, por lo que los especialistas tienen dificultades para referirse a alguno de ellos con independencia del otro o para discernir su presencia y participación específica en una función cerebral o conductual. En general, la memoria acerca de lugares, eventos y personas define lo que cada uno de nosotros somos y da un sentido de continuidad a nuestra vida.

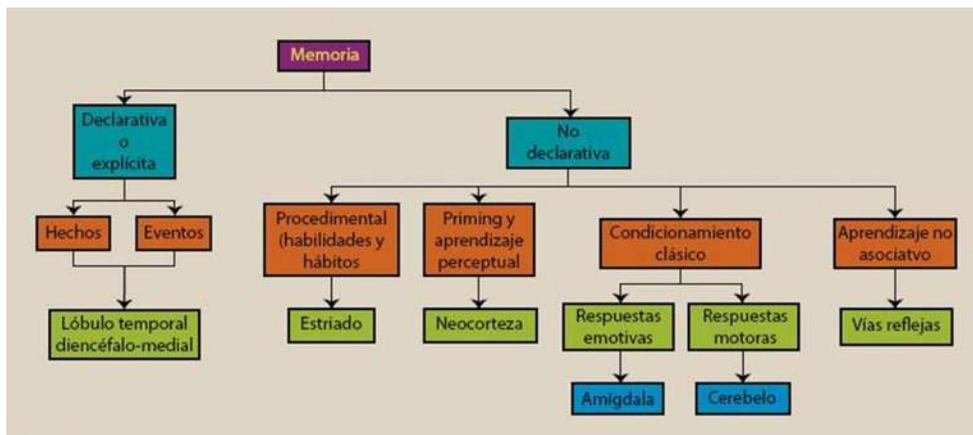
Diversos estudios electrofisiológicos y conductuales realizados en las últimas décadas han demostrado que tanto el aprendizaje como la memoria se codifican mediante cambios en las conexiones nerviosas en una forma dependiente de la actividad neuronal. El fortalecimiento de las conexiones sinápticas reflejado como un aumento en la eficiencia sináptica fue demostrado experimentalmente mediante el fenómeno de la potenciación a largo plazo (LTP, por sus siglas en inglés). (Milner B, Squire LR, and Kandel ER 1998; Carpenter MB 1994).



**Figura 1.** Regiones encefálicas asociadas con funciones del aprendizaje y la memoria declarativa.

## Tipos de memoria

Existen distintas formas de clasificar a la memoria, por su duración puede clasificarse en: memoria de corto plazo y memoria de largo plazo. Por el tipo de información que es procesada, la memoria se categoriza en: memoria declarativa y memoria no declarativa o de procedimiento (Thompson RF 2005; Eichenbaum H 1997).



**Figura 2.** Clasificación de los sistemas de memoria de largo plazo (tomado de Carrillo-Mora 2010).

La memoria implícita, procedimental o no declarativa es la memoria que se expresa en las cosas que hacemos rutinariamente, como el aprender a tocar un instrumento o a manejar un automóvil. Se le considera automática, inconsciente y difícil de verbalizar. Su adquisición es gradual y se perfecciona con la práctica. Dentro de este tipo de memoria se incluyen a diferentes tipos básicos de aprendizaje como; la habituación y la sensibilización, el aprendizaje perceptivo y motor o el condicionamiento clásico e instrumental (Squire LR, Dede AJ 2005).

Anatómicamente, la memoria implícita requiere de la integridad morfológica y funcional de diferentes estructuras cerebrales, por ejemplo los ganglios basales están involucrados en el aprendizaje procedimental de hábitos y habilidades (Ashby FG1, Turner BO, Horvitz JC 2010), los condicionamientos de respuestas motoras son dependientes de la integridad del cerebelo, mientras que los condicionamientos emocionales involucran a la amígdala (Duvarci S. Pare D

2014). La memoria de estos tipos de aprendizaje se almacena en estructuras subcorticales y en algunos casos depende directamente de la neocorteza (Sharon T, Moscovitch M, Gilboa A 2011).

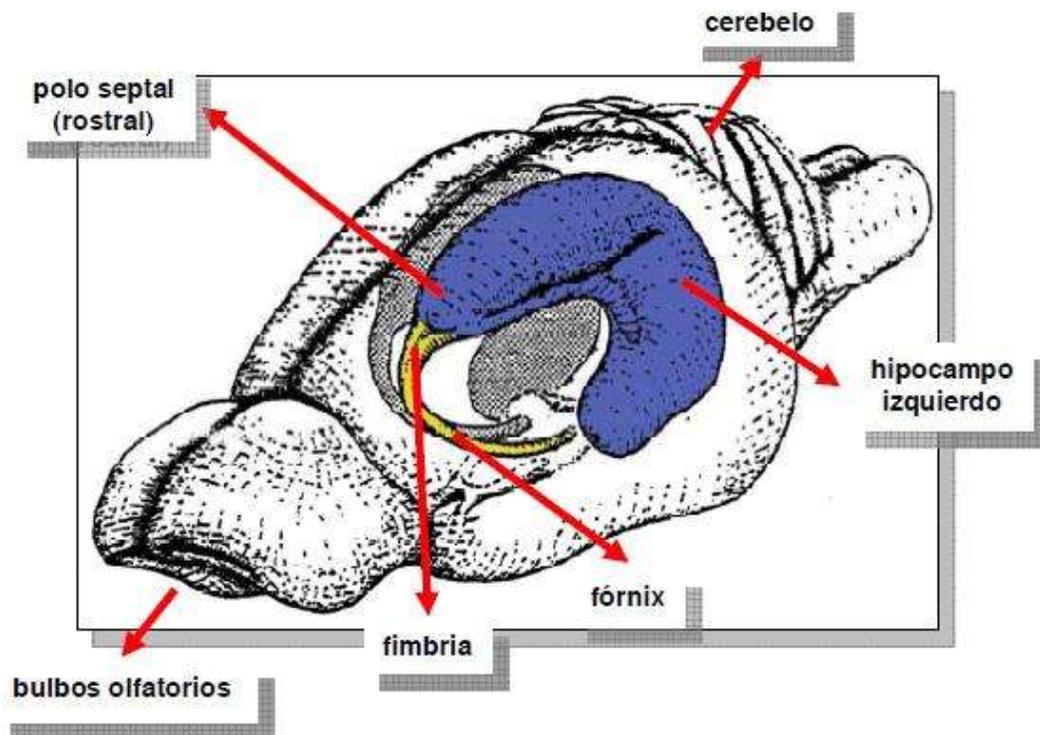
El sistema de memoria explícita, también conocida como memoria declarativa, se clasifica en dos categorías principales, la memoria semántica que se refiere a la información de los hechos o conocimiento general acerca del mundo, por ejemplo el saber que París es la capital de Francia y la memoria episódica que codifica información acerca de nuestros eventos autobiográficos, que incluye el recordar deliberadamente información específica de nuestras experiencias pasadas como, el lugar, el tiempo y el evento de una experiencia particular (Squire LR, Wixted JT. 2011, Eichenbaum H. 2011; Ullman MT 2004). A diferencia de la memoria implícita, este tipo de memoria se adquiere en pocos ensayos y se distingue por que se expresa en situaciones y modos diferentes a los del aprendizaje original, por lo que es considerada como una memoria de expresión flexible. Un tipo de memoria que codifica el aspecto espacial de la memoria episódica es la memoria espacial de lugar. Esta consiste en múltiples mecanismos especializados en codificar, almacenar y recuperar información acerca de rutas, configuraciones y localizaciones espaciales creando una representación interna del ambiente conocido (O Keefe JO, Nadel L. 1978. Burgess N, Maguire EA, O'Keefe J. 2002 Buzsáki G, Moser EI, 2013).El hipocampo es una de las estructuras fundamentales para el aprendizaje y la memoria espacial (Morris RGM, y col. 2006; Quiroga RQ. 2012).

## **Hipocampo**

### **Anatomía y citoarquitectura del hipocampo**

El hipocampo es un componente principal del sistema límbico, que además comprende la corteza olfativa, la amígdala, el área septal, los cuerpos mamilares y los núcleos talámicos anteriores. El hipocampo es una estructura alo cortical compleja con forma cilíndrica y organizada en capas. Su extremo anterior, también

llamado polo septal, se localiza dorsalmente en el cerebro y es contiguo a su homologo contralateral. Situándose justo detrás de la región septal, encima del tálamo dorsal y por debajo del cuerpo caloso, el extremo anterior del hipocampo esta bordeado dorsal y lateralmente por la corteza parietal. Desde ahí, el hipocampo se curva tanto ventralmente como lateralmente hacia el extremo posterior, también llamado polo temporal. Este extremo está separado anatómicamente de su homologo contralateral, se extiende hasta la región amigdalina localizada ventrolateralmente (Fig 3) (Cassel y col, 1997).



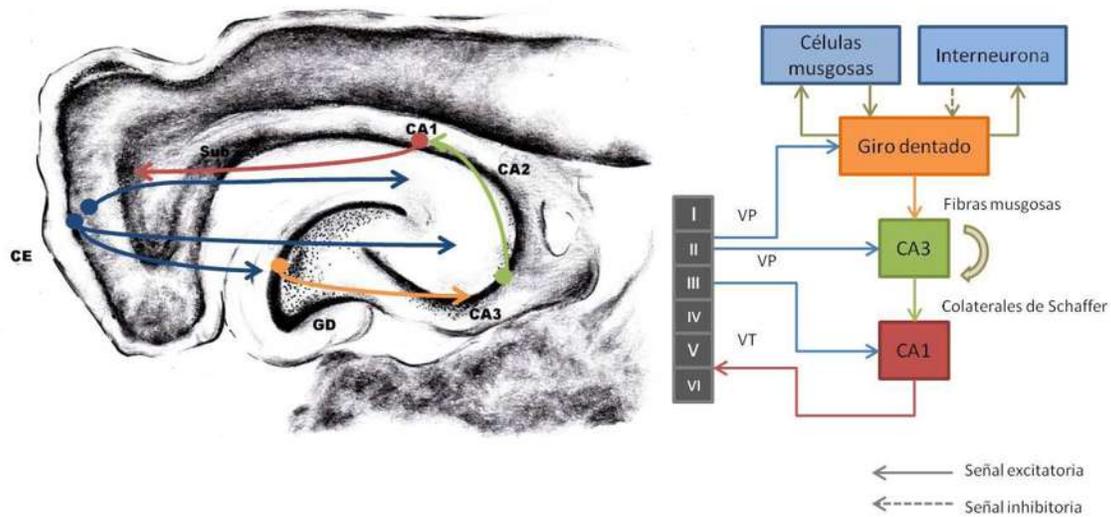
**Figura 3.** Representación tridimensional del hipocampo de roedor. En esta ilustración se muestra la posición del hipocampo (color azul) en el cerebro de roedor. Forma una estructura alargada y arqueada en forma de C, con su eje mayor septotemporal extendiéndose desde los núcleos septales, rostralmente, hasta la corteza temporal, ventrocaudalmente. En amarillo aparece el principal sistema de fibras aferentes y eferentes de la formación hipocampal, la fimbria y el fórnix (Adaptado de O'Mara y col., 2001).

La formación hipocampal está constituida por un grupo de regiones que incluyen: las cortezas perirrinal, postrrinal y entorrinal, el complejo subicular formado por el *presubiculum*, el *subiculum* y el *parasubiculum*, el cuerno de Amón (hipocampo propio) que está dividido en tres áreas: CA1, CA2 y CA3 y el Giro dentado (Amaral

DG, Witter MP. 1989, Lavenex P, y col. 2007, Kivisaari SL, y col 2013). En el presente trabajo, denominaremos hipocampo al conjunto de estructuras conformadas por del giro dentado y el propio hipocampo.

El hipocampo se origina de la región medial del telencéfalo, forma parte del sistema límbico y tiene un papel importante en la adquisición del aprendizaje espacial y en la consolidación y recuperación de la memoria declarativa de largo plazo. Anatómicamente, está organizado en el cuerno de Amón (hipocampo propiamente dicho) y el giro dentado.

La mayor entrada de fibras sinápticas que llegan al hipocampo proviene de la corteza entorrinal, la cual a su vez es la principal vía de entrada de información neocortical que proviene de regiones como; la corteza parietal posterior, la corteza retrosplenial, la corteza prefrontal dorsolateral y la parte dorsal del surco temporal superior, estructuras estrechamente asociadas en la codificación de la localización espacial de los estímulos (Witter MP, y col, 2000; Lavenex P, Suzuki WA, Amaral DG, 2004). Las neuronas de la capa II de la corteza entorrinal envían sus proyecciones hacia las células granulares del giro dentado, las cuales proyectan sus axones hacia las neuronas piramidales de la región CA3, finalmente estas células envían sus axones hasta las neuronas piramidales de la región CA1 mediante los colaterales de Schaffer (Fig. 4). La información procesada en el circuito trisináptico permite relacionar diferentes aferencias sensoriales pertenecientes a diversos estímulos gracias a que las células piramidales del hipocampo tienen un alto grado de interconexión, facilitando la relación entre las diferentes entradas de información (Zhang SJ, y col, 2013).

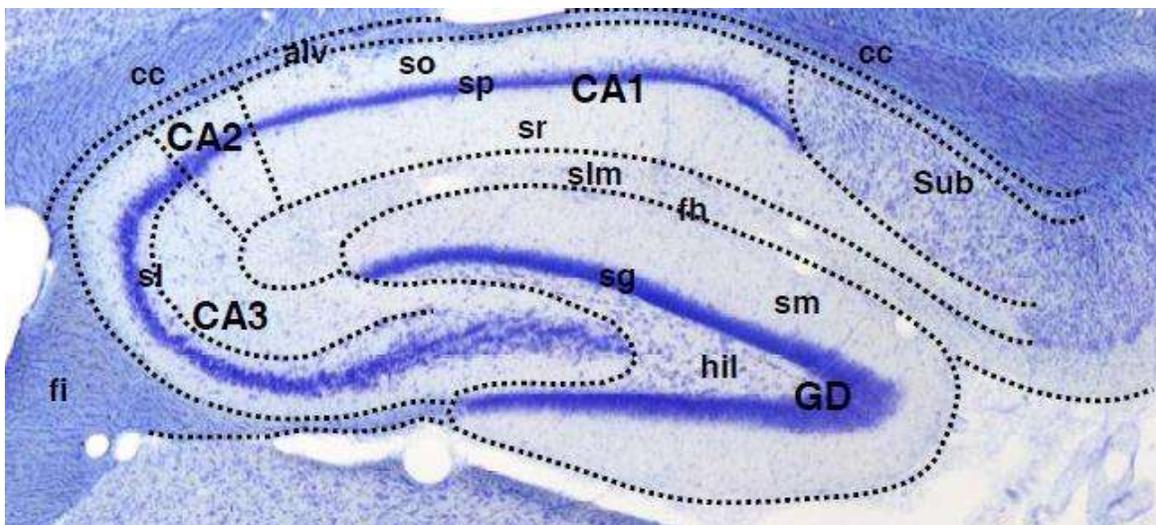


**Figura 4.** Esquema de los circuitos en el hipocampo adulto. La tradicional vía excitatoria trisináptica (Corteza entorrinal (CE)-giro dentado (GD)-CA3-CA1-CE) es descrita por las flechas de colores (flecha azul: vía perforante; flecha naranja: vía de fibras musgosas; flecha verde: colaterales de Schaffer; flecha roja; proyecciones de CA1 a la CE). Los axones de las neuronas de la capa II de la corteza entorrinal (CE) proyectan hacia el giro dentado a través de la vía perforante (VP), incluyendo la vía perforante lateral (VPL). El giro dentado envía proyecciones a las células piramidales de CA3 a través de las fibras musgosas. Las neuronas piramidales de CA3 descargan la información a las neuronas piramidales de CA1 a través de los colaterales de Schaffer. A su vez, las neuronas piramidales de CA1 envían las proyecciones dentro de la capa de neuronas de la corteza entorrinal. CA3 también recibe proyecciones directas de la capa II de la corteza entorrinal a través de la vía perforante, mientras que CA1 recibe entradas directas de la capa III de la corteza entorrinal a través de la vía temporoammonica (VP). Las células del giro dentado también proyectan a las células musgosas del hilus e interneuronas hilares que envían proyecciones excitatorias e inhibitorias respectivamente, hacia las neuronas granulares. Abreviaturas: CE: corteza entorrinal; GD: giro dentado; Sub: subículo.

## Composición celular del Hipocampo

Las neuronas principales de las regiones CA1, CA2 y CA3 son las neuronas piramidales (glutamatérgicas), así llamadas por su morfología, constituyendo aproximadamente el 90% de todas las neuronas de las regiones CA de la formación hipocámpal (Sweatt, 2004). Los cuerpos celulares de las células principales se disponen en una capa simple de somas densamente agrupados formando el estrato piramidal (sp). La disposición de los somas y las proyecciones dendríticas y axonales en el hipocampo se observa claramente en secciones transversales del órgano, formando capas que se curvan y pliegan unas sobre otras (Cooper y Lowenstein, 2002). La morfología de las neuronas piramidales varía gradualmente a lo largo del hipocampo. Las células de mayor tamaño son

las que se encuentran en la región de CA3, mientras que las de CA1 son más pequeñas y están más densamente empaquetadas en el estrato piramidal que en la región CA2 y CA3. Las células piramidales situadas en CA1 y CA2 carecen de grandes espinas y entradas desde las fibras musgosas de las células granulares del giro dentado, a diferencia de las células principales de CA3. De las células piramidales parten los axones que constituyen las aferencias y eferencias dentro y fuera del hipocampo, permitiendo la interconexión de todas las células del hipocampo con este mismo y con las demás regiones del sistema límbico.



**Figura 5.** Anatomía del hipocampo, mostrando la organización en capas de las regiones del cuerno de Amón (CA1-CA3) y el giro dentado. La figura muestra el hipocampo y regiones adyacentes teñidos con violeta de cresilo, observándose principalmente los somas de células principales la capa piramidal (sp) del cuerno de Amón (CA1, CA2 y CA3) y la capa granular (GD) del giro dentado. alv, alveus; CA1, CA2, CA3, regiones del hipocampo (cuerno de Amón); cc, cuerpo calloso; fh, fisura hipocampal; fi, fimbria; so, sp, sr, sl, slm, estratos oriens, piramidal, radiado, lucidum (solo en CA3) y lacunosum-molecular del hipocampo; m, capa molecular; sg, hil, estratos granular, e hilo del giro dentado (GD); sub, subiculum.

Sobre el estrato piramidal se dispone el estrato oriens (so) (capa plexiforme) y sobre este el alveus, que corresponde a la sustancia blanca del resto de la corteza. La porción inferior de la capa piramidal se encuentra constituida por las dendritas apicales que conforman el estrato radiado (capa plexiforme) y el estrato lacunosum-molecular, el más profundo. Solo en el área de CA3 se encuentra el estrato lucidum (sitio donde llegan los axones procedentes del giro dentado) entre el estrato piramidal y el radiado. Las dendritas basales de las células piramidales

se ramifican dentro del estrato oriens, mientras que las fibras axónicas de estas neuronas recorren el alveus. La fimbria está formada por axones del alveus y forma el inicio del fornix, el principal sistema de fibras eferentes de la formación hipocampal. Los componentes de fibras del núcleo septal medial y lateral entran en el hipocampo a través de esta ruta (Stanfield y Cowan, 1988; Cooper y Lowenstein, 2002). Las neuronas de la región CA3 presentan axones que se ramifican extensamente y proyectan dentro del hipocampo, hacia CA3 y CA2 formando la vía asociativa, como hacia CA1 formando la vía colateral de Schaffer.

Las neuronas piramidales de CA1 poseen axones que se ramifican densamente y proyectan tanto dentro de la formación hipocampal como hacia el subiculum, la corteza entorrinal, y hacia regiones más distantes que incluyen a la corteza perirrinal, frontal y el septum entre otras (Cooper y Lowenstein, 2002). La organización trilaminar del hipocampo está constituida por una capa de células principales (estrato piramidal) situada entre otros dos estratos (oriens y radiado-lacunoso molecular) que contienen prolongaciones axónicas y dendríticas junto con otros tipos neuronales (interneuronas GABAérgicas), se ha llegado a denominar a esta estructura como una arquicorteza, frente a la neocorteza que está organizada en seis capas, la cual comprende la porción más reciente del encéfalo en los mamíferos (Stanfield y Cowan, 1988; Cooper y Lowenstein, 2002).

### **Giro dentado**

El giro dentado (o fascia dentata) se extiende a lo largo del borde medio de la corteza cerebral. Está formado principalmente por un tipo celular, las células granulares del giro dentado, que forman una sola capa compacta que recubre el extremo libre de la región CA3, y están dispuestas en forma de una V o una U. De esta forma, a diferencia de otras áreas del hipocampo, la capa de células granulares del giro dentado no es continua con la capa de células principales de la región adyacente. La porción del giro dentado contigua a la fisura hipocampal se denomina borde suprapiramidal, mientras que la opuesta a esta se denomina borde infrapiramidal. La porción que conecta ambos bordes se denomina cresta.

La fisura hipocampal es el límite entre la capa molecular del giro dentado y el estrato lacunosum-molecular del área de CA1 del hipocampo, siendo un espacio que queda cerrado durante la maduración de la región hipocampal (Amaral y Witter, 1989).

Las células granulares generalmente carecen de dendritas basales y, por lo tanto, reciben la mayoría de sus entradas en las dendritas ascendentes que se ramifican superficialmente en la capa plexiforme que la recubre, denominada capa molecular. Las dendritas se bifurcan profusamente tras entrar en la capa molecular y la mayoría de sus ramas terminales alcanzan su superficie exterior. A lo largo de la capa granular y en toda su extensión, se pueden encontrar interneuronas de gran tamaño que utilizan GABA como neurotransmisor (Stanfield y Cowan, 1988).

Por debajo de la capa granular se encuentra una zona denominada capa polimórfica que incluye una gran variedad de tipos celulares, y que en los roedores constituye la región hilar o *hilus*, comprendida entre los dos bordes de la capa de células granulares del giro dentado y el área CA3 del cuerno de Amón. Aunque algunas de estas células pudieran considerarse como células piramidales modificadas de CA3, normalmente se incluye a la región hilar junto con la capa de células granulares dentro de la región denominada área dentada (Stanfield y Cowan, 1988). La célula principal del *hilus* es la célula musgosa, de naturaleza desconocida, ya que no se sabe exactamente si se trata de células piramidales modificadas o de un tipo celular único del giro dentado (Harry y d'Hellencourt, 2003). La zona subgranular está localizada en el hilus, justo por debajo de la capa granular del giro dentado. Es en esta región se mantiene la actividad de las células progenitoras neuronales del animal maduro.

### **Conexiones del hipocampo**

La organización funcional básica en el hipocampo es el denominado circuito trisináptico, llamado así porque el hipocampo es considerado como una estructura que contiene tres relevos sinápticos excitadores en serie. En el primer relevo, las

fibras perforantes derivadas de la corteza entorrinal (que atraviesan el subiculum y la fisura hipocampal en su camino hacia el giro dentado) contactan sobre las dendritas (estrato molecular) de las células granulares del giro dentado. Esta vía constituye la principal entrada extrínseca e inerva exclusivamente los dos tercios exteriores de la capa molecular, definiendo así la capa molecular externa (Amaral y Witter, 1989; Deller 1998). En esta zona, las fibras entorrinales forman el 80-90 % de todas las sinapsis y terminan sobre las dendritas de las células granulares en sus porciones distales, y en las de interneuronas de los circuitos locales (Deller 1998).

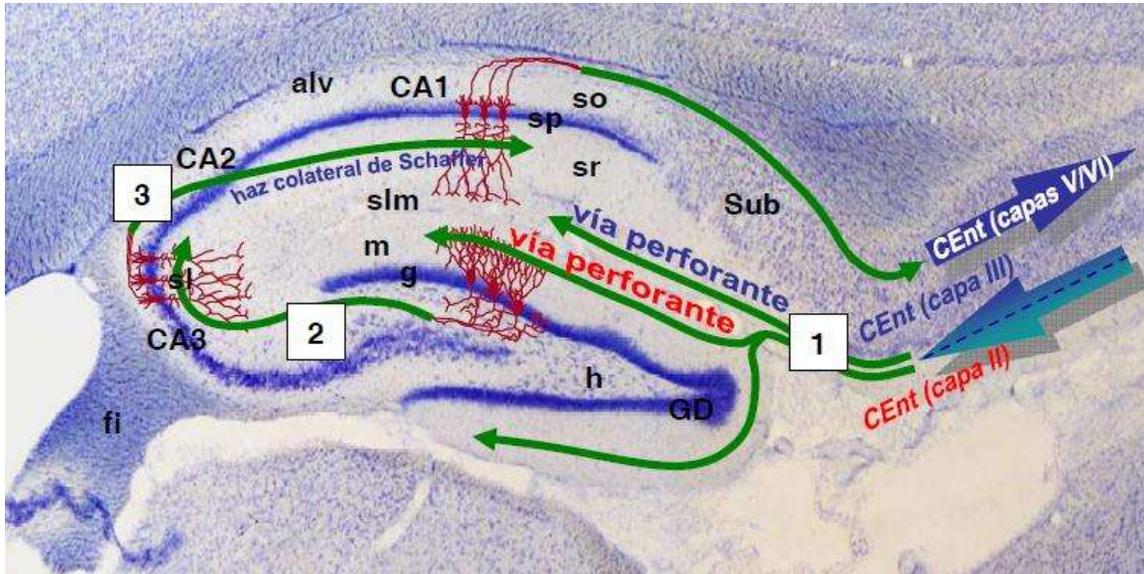
La mayor parte de las fibras que parten de la corteza entorrinal se originan en las neuronas de la capa II, son de carácter glutamatérgico, y constituyen la principal vía excitadora del giro dentado. Asimismo, existe una importante proyección GABAérgica desde las capas I-III de la corteza entorrinal hacia el giro dentado, por parte de células multipolares y de células horizontales bipolares (Deller 1998).

En el borde interno de la capa de células granulares se localizan las “células de canasto”, una población de interneuronas inhibitoras con arborizaciones axonales extensas restringidas a la capa granular. Varios subtipos de neuronas GABAérgicas, morfológicamente distintas, se encuentran en la capa molecular y polimórfica del giro dentado. Estas células tienen a menudo arborizaciones axonales muy extensas y forman sinapsis axo-sómicas y axo-dendriticas sobre las células granulares y otras (Amaral y Witter, 1989; Cooper y Lowenstein, 2002). La mayoría de las aferencias que llegan al giro dentado terminan dentro de la capa molecular. Las fibras entorrinales ipsilaterales constituyen la vía perforante, llamada así porque las proyecciones atraviesan el subiculum y la fisura hipocampal en su camino hacia el giro dentado.

En el segundo, los axones de las células granulares del giro dentado (las fibras musgosas), forman sinapsis sobre la región hilar y las células piramidales de CA3. Cada célula granular posee una sola ramificación axonal ubicada en el giro dentado que se extiende a lo largo de CA3, dentro del estrato *lucidum*. Los axones

de las células granulares forman varias ramas dentro del *hilus*, donde establecen sinapsis sobre las neuronas del *hilus*. Estas neuronas incluyen a las células musgosas, de naturaleza glutamatérgica, llamadas de esta forma porque sus dendritas proximales están densamente cubiertas con grandes espinas de morfología irregular. Las células musgosas contactan sinápticamente otras neuronas del *hilus* y poseen ramificaciones axonales que contribuyen en la entrada ipsilateral (asociativa) y contralateral (comisural) de las células granulares. Las expansiones de las fibras musgosas forman sinapsis muy complejas sobre las espinas grandes y multi-ramificadas de las células piramidales de CA3.

Finalmente, en el tercer relevo los axones del área de CA3 (las vías colaterales de Schaffer) conectan sinápticamente la porción proximal de las dendritas distales (estrato radiado) de las células de CA1, las cuales proyectan, a su vez, sobre la capa II de la corteza entorrinal directamente como indirectamente a través del *subiculum*, cerrando de esta forma el circuito (Amaral y Witter, 1989; Cooper y Lowenstein, 2002). Las neuronas de CA1 también proyectan eferencias secundarias a través de las neuronas subiculares, hacia regiones subcorticales incluyendo el estriado ventral (nucleo *accumbens*) y los cuerpos mamilares (Sweatt 2004). De esta forma, la información sale del hipocampo y finalmente recae en la corteza en su vía principal, siendo devuelta posteriormente al hipocampo a través de las cortezas entorrinal y perirrinal. Estas regiones corticales inmediatamente adyacentes a la formación hipocampal son una extensión funcional del hipocampo. De esta forma, la formación hipocampal y sus regiones corticales adyacentes funcionan conjuntamente tanto en la formación de la memoria como en el procesamiento cognitivo de esta (Lavenex y Amaral, 2000).



**Figura 6.** Diagrama del circuito trisináptico del hipocampo (circuito intrínseco). 1) Las fibras procedentes de la capa II de la corteza entorrinal (CEnt) contactan sobre las células granulares del giro dentado (y CA3), mientras que las originadas en la capa III proyectan hacia CA1 (y el *subiculum*); 2) los axones de las células granulares, las fibras musgosas, forman sinapsis con las células piramidales de CA3 (formando el estrato *lucidum*); 3) los axones de CA3, formando el haz colateral de Schaffer contactan con las células de CA1, las cuales proyectan, a su vez, sobre la corteza entorrinal tanto directa como indirectamente a través del *subiculum*, cerrando el circuito. *alv*, *alveus*; CA1, CA2, CA3, regiones del hipocampo (cuerno de Amón); *fi*, fimbria; *so*, *sp*, *sr*, *sl*, *slm*, estratos *oriens*, piramidal, radiado, *lucidum* (solo en CA3) y *lacunosum*-molecular del propio hipocampo; *m*, *g*, *h*, estratos molecular, granular, e hilo del giro dentado (GD); *Sub*, *subiculum*.

Esto sugiere que el hipocampo forma parte de un sistema que integra la información sensorial multimodal que en diferentes pasos o relevos (Giro dentado, CA1, CA2 y CA3) (Sweatt, 2004) participa en diferentes aspectos que constituyen a la memoria y el aprendizaje (Cooper y Lowenstein, 2002). La memoria de largo plazo permite fijar, guardar y recuperar diferentes tipos de información, esto propicia el reconocimiento de información familiar, así como la cualidad de evocar acontecimientos pasados y de mantener la información activa para poder utilizarla de manera inmediata.

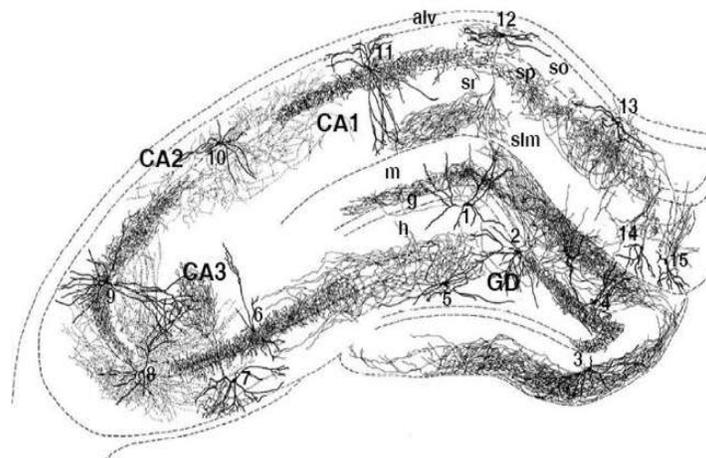
### Organización del sistema inhibitorio del hipocampo (interneuronas)

Las interneuronas, que se encuentran en todas las regiones del hipocampo a menudo tienen axones que se arborizan ampliamente, lo que da capacidad a estas interneuronas de inhibir simultáneamente un gran número de células granulares y piramidales, jugando por tanto, un papel importante en la sincronización neuronal y en la generación de actividad rítmica que permite la

generación de oscilaciones del potencial de campo como el ritmo theta el cual puede observarse durante conductas exploratorias en el electroencefalograma (EEG). En el giro dentado y el hipocampo, las interneuronas constituyen aproximadamente el 10% del total de células de estas regiones, siendo mucho menos abundantes que las neuronas principales, sin embargo, a pesar de su menor número, existe una gran variedad de clases de interneuronas (Freund y Buzsaki, 1996).

Además de destacar la gran diversidad de interneuronas del hipocampo (Fig. 7), también llama la atención la gran complejidad de la organización interneuronal. Asimismo, la existencia de ciertos tipos de interneuronas, como las células somatostatina-positivas del giro dentado, y las neuronas hipocampo-septales de CA1, que establecen conexiones colaterales comisurales o incluso proyectan hacia regiones extrahipocampales, hace que no se pueda definir de forma exacta a las interneuronas como “neuronas de circuito local” (Turner y col., 1998).

Mientras que en el hipocampo adulto las interneuronas tienen un papel fundamentalmente inhibitorio, la liberación de GABA durante las fases tempranas del desarrollo produce una acción excitadora sobre las células principales del hipocampo (Cherubini y col., 1991), lo que lleva a que los criterios funcionales no sean completamente excluyentes a la hora de definir a las interneuronas.



**Figura 7.** Interneuronas del hipocampo propio y el giro dentado. Distribución de algunos tipos principales de interneuronas hipocampales, mostrando la posición laminar específica de los axones y dendritas. 1: célula HICAP; 2: célula HIPP; 3: célula MOPP; 4: célula en cesto VIP-positiva; 5: célula trilaminar de CA3; 6: célula axo-axónica o en candelabro; 7: célula O-LM; 8: célula biestratificada de CA3; 9: célula en cesto con axon en CA3 y CA1; 10: célula biestratificada de CA1; 11: célula en cesto de CA1; 12: célula O-LM de CA1; 13: célula trilaminar horizontal de CA1; 14,15: células IS-2, VIP positivas. a, alveus; CA1, CA3, regiones del hipocampo (cuerno de Amón); so, sp, sr, slm, estratos oriens, piramidal, radiado, y *lacunosum*-molecular del hipocampo propio; m, g, h, estratos molecular, granular, e hilo del giro dentado. HICAP: interneuronas del hilo asociadas a las fibras comisurales de asociación; HIPP: interneuronas del hilo asociadas a la vía perforante; IS-2: interneuronas que inhiben (selectivas de) a otras interneuronas, tipo 2; MOPP: interneuronas de la capa molecular asociadas a la vía perforante; O-LM: interneuronas con el soma en el estrato oriens y con el axón hacia el *lacunosum*-molecular; VIP: péptido intestinal vasoactivo. (Adaptado de Freund y Buzsaki, 1996).

Se ha demostrado la participación del hipocampo en procesos de aprendizaje que incluyen la detección de estímulos novedosos, la conducta exploratoria y la respuesta al estrés (las neuronas hipocampales poseen un abundante número de receptores a esteroides adrenales que participan en la respuesta al estrés). Existe evidencia que muestra que, durante el estrés, la hiperactividad hipocampo retrocontralimenta negativamente la secreción de hormonas adrenales (Fernández-Espejo 1996).

Los componentes del sistema límbico son precisamente las áreas cerebrales más susceptibles a los cambios patológicos iniciales de la enfermedad de Alzheimer. Así, la transferencia de información desde las áreas sensoriales de asociación hacia la corteza prefrontal a través del sistema límbico (hipocampo) se ve afectada de forma temprana en el curso de la enfermedad (Braak y col., 1999).

### **Función del hipocampo en la memoria**

La participación del hipocampo en la memoria explícita ha sido estudiada a través de tareas de memorias que requieren del procesamiento de información espacial. Esta memoria puede ser evaluada en humanos y en modelos animales, en los cuales la solución de la tarea depende de la creación de mapas del ambiente (que requiere de la configuración de las señales espaciales). Experimentos en roedores han demostrado que las lesiones hipocampales afectan negativamente la adquisición y retención del aprendizaje espacial en ratas evaluadas en el laberinto acuático de Morris, donde la tarea consiste en la

búsqueda de una plataforma oculta pocos centímetros por debajo del agua basándose en señales espaciales extralaberinto (Morris RG, 1984; Moser E, y col 1993; Laursen B, y col. 2014). Esto demuestra el papel crítico del hipocampo para codificar y recordar la información espacial.

Por otro lado, registros de actividad unitaria (registro de potenciales de acción) han reportado la presencia de neuronas denominadas de “lugar” en el hipocampo de la rata, estas células se denominan así porque disparan sus potenciales de acción cuando la rata reconoce un lugar en el que previamente se le había colocado, estas células de lugar fueron descubiertas por O Keefe y Dostrovsky en 1971.

Otros estudios experimentales han indicado que las lesiones de las estructuras asociadas, provocan deficiencias graves y permanentes en las habilidades espaciales y de memoria. La mayoría de datos acerca de alteraciones de memoria tras lesiones temporales mediales derivan del estudio de pacientes sometidos a cirugía cerebral para el alivio de una epilepsia que no respondía al tratamiento farmacológico. El caso más famoso es el del paciente HM (Scoville y Milner, 1957; Milner, 1959), a quien se le extirparon bilateralmente estructuras temporales mediales (hipocampo, corteza entorrinal, circunvolución parahipocámpica y partes de la corteza temporal). HM siguió manteniendo la inteligencia y la memoria inmediata normales, aunque era prácticamente incapaz de aprender algo nuevo. Su rendimiento permanecía relativamente intacto en pruebas de memoria implícita. Podía adquirir nuevas destrezas y respondía al condicionamiento clásico. Recordaba su infancia y el pasado remoto, aunque se veía muy limitado en el recuerdo de los 10 años previos a la operación. HM ha sido objeto de múltiples investigaciones y estudios sobre las estructuras temporales mediales en el funcionamiento de la memoria (para una revisión: Corkin, 2002).

En conjunto estas evidencias sugieren que el hipocampo es una estructura cerebral implicada en aspectos cognitivos que involucran el reconocimiento de la ubicación espacial, para lo cual los sujetos se ayudan de la estimación de la distancia entre un objeto y los estímulos relacionados que lo llevaron a encontrarlo

(Moser MB, Rowland DC, Moser EI, 2015). Aunque, es claro que el hipocampo juega un papel crítico en el aprendizaje espacial, el mecanismo es complejo y requiere de la acción coordinada del hipocampo con otras estructuras cerebrales.

## **SUEÑO**

El sueño se define como un estado natural y reversible en la reducción de la capacidad de respuesta a los estímulos externos e inactividad relativa, acompañada por una pérdida de la conciencia. Se ha demostrado que la privación del sueño causa graves problemas cognitivos y emocionales (Brown LK, 2012; Killgore WDS, 2010; Vandekerckhove M, 2010). Adicionalmente, animales privados de sueño durante varias semanas muestran desregulación en su peso y temperatura corporal que finalmente los conduce a la muerte ocasionada por infecciones y lesión de tejidos (Rechtschaffen A, 1995). El sueño probablemente se produce en todos los vertebrados, incluyendo aves, peces y reptiles (Cirelli C Y Tononi G, 2008).

El sueño es un estado biológico presente en animales y en seres humanos que se define funcionalmente por características conductuales y fisiológicas.

Las características conductuales incluyen, la ausencia o disminución de movimientos corporales voluntarios y la adopción de una postura estereotipada de descanso (distinta en cada especie animal). Específicamente, antes de dormir, los humanos buscamos un lugar seguro y tranquilo, adoptando una postura cómoda que nos ayude a conciliar el sueño. Además existe una escasa respuesta a estímulos externos de baja intensidad que es reversible (a diferencia del estado del coma). (J. L. Velayos, F. J. Molerés, A. M. Irujo, D. Yllanes, B. Paternain, 2007).

Algunas de las características fisiológicas pudieron ser observadas a partir del desarrollo del electroencefalograma (EEG). En 1929 el psiquiatra Hans Berger obtuvo el primer registro de la actividad eléctrica cerebral sobre el cuero cabelludo

y sus diversas variaciones (Gais S Et al, 2006). Con base en las características del EEG se han identificado cuatro tipos de ritmos biológicos de actividad eléctrica cerebral, los cuales pueden ser diferenciados por su frecuencia, topografía y reactividad. El ritmo alfa (8-13 Hz) se localiza en las regiones posteriores, apareciendo durante la condición de vigilia tranquila y con los ojos cerrados, ritmo beta (más de 13 Hz) aparece en las áreas frontales durante la vigilia activa, las ondas theta (4-7,5 Hz) se presentan predominantemente durante la conducta exploratoria activa y el sueño MOR y las ondas delta ( $\leq 3,5$  Hz), normalmente están asociadas con etapas de sueño profundo (Winson, 1974; Kemp y Kaada, 1975; Buzsaki, 2002).

En 1937, Loomis y cols. Observaron cambios típicos en la actividad eléctrica cerebral durante el sueño que se caracterizaron por el incremento de la proporción de ondas lentas a medida que el sueño se volvía más profundo, este fenómeno permitió establecer la primera clasificación de las fases del sueño (Bergmann TO, 2009). En 1968, Rechtschaffen y Kales establecieron los criterios que facilitaron el estudio de los cambios de actividad eléctrica cerebral durante el sueño, los cuales han sido empleados hasta la actualidad en todos los laboratorios del mundo que estudian el sueño.

Mediante el registro de las señales bioeléctricas fundamentales EEG (Electroencefalograma), EMG (Electromiograma) y EOG (Electrooculograma) se han podido identificar las fases de sueño y los episodios de vigilia.

La mayoría de las funciones en casi cualquier sistema u organismo vivo presenta un ritmo aproximadamente de 24 horas que se le conoce como ritmo circadiano (del latín circa que significa «casi», y diez, que significa «día»). (Moore RY, 1996; Teclemariam-Mesbah, 1999; Kalsbeek A, 1993). Algunos estímulos ambientales tienen capacidad para activar los ritmos biológicos. La luz, por ejemplo, es el principal agente externo que puede sincronizar los ritmos, aunque los estímulos sociales también actúan en este nivel. En 1972, Stephan y Zucker, y Moore y Eichler demostraron que una pequeña región del hipotálamo, el núcleo supraquiasmático (NSQ), es donde se localiza el reloj circadiano (reloj biológico).

Estos relojes internos también están influenciados por sincronizadores o “zeitgebers” externos (por ejemplo, luz, temperatura, etc.). La luz es el principal agente modulador del NSQ a través de la melatonina que se sintetiza en la glándula pineal.

El sueño en los mamíferos consta de dos fases principales: sueño de ondas lentas (SOL) o sueño no-MOR y sueño de movimientos oculares rápidos (MOR), los cuales se alternan de una manera cíclica. Durante el sueño nocturno, el SOL predomina durante la primera parte de la noche y disminuye en intensidad y duración a través del periodo de sueño, mientras que el sueño MOR se hace más intenso y extenso hacia el final del período de sueño (BjorhRasch y JanBorn, 2013).

El SOL se caracteriza por oscilaciones EEG de gran amplitud y actividad lenta (actividad de ondas lentas, AOL), mientras que el sueño MOR (también denominado sueño paradójico) es caracterizado por actividad oscilatoria rápida de baja amplitud similar a la observada durante la vigilia (predominantemente actividad theta en la región del hipocampo, y actividad gamma en la neocorteza), además de que el sueño MOR se caracteriza por atonía muscular (McCarley RW. 1995; Steriade M, McCormick,1993;Purves D, 2001).

A continuación, se describen brevemente las etapas del sueño en seres humanos:

### **Sueño no-MOR.**

**La etapa I**, corresponde al periodo de somnolencia o adormecimiento, en el cual tiene lugar la desaparición del ritmo alfa del EEG (típico del estado de vigilia), además de la presencia de tono muscular pero sin movimientos oculares o, si los hay, son muy lentos.

**La etapa II - III** de sueño ligero, se caracteriza por una disminución aún mayor del ritmo electroencefalográfico, con la aparición de los típicos husos de sueño y los complejos K, fenómenos de los que es responsable el núcleo reticular del tálamo; sigue existiendo tono muscular, y no se presentan movimientos oculares.

**La etapa IV** de sueño profundo, se caracteriza por la presencia de un ritmo electroencefalográfico menor, además de que no se producen movimientos oculares, pero el tono muscular se mantiene o puede estar muy disminuido. En la instauración de esta fase del sueño intervienen, entre otras estructuras, la corteza prefrontal y el núcleo dorsomedial del tálamo. Ésta, es la fase del sueño más reparadora, hay movimientos organizados del dorso; el individuo da vueltas en la cama y cambia de postura. Esta fase dura aproximadamente un 25% del total del tiempo del sueño (Lugaresi E, Medori R, Montagna P, Baruzzi A, Cortelli P, Lugaresi A, et al, 1986).

### **Sueño MOR o sueño paradójico**

Se caracteriza por una actividad EEG que asemeja al estado de vigilia (por eso se habla de sueño paradójico). Se observan movimientos oculares rápidos (por lo cual se le ha denominado como sueño de movimientos oculares rápidos (MOR) o sueño REM por sus siglas en inglés (*Rapid Eye Movements*) que son dependientes de la actividad de estructuras profundas tales como la formación reticular pontina. En esta etapa se produce una atonía (desaparición del tono muscular), para lo cual participan estructuras como la formación reticular bulbar, y

el locus coeruleus. El músculo diafragma sigue manteniendo el tono, para seguir contrayéndose, permitiendo la respiración. La fase de sueño MOR constituye un 25 % del sueño total (Aserinsky E, Kleitman N, 1953).

En el recién nacido, el sueño MOR constituye el 50% del tiempo total de sueño. El tiempo de vigilia va aumentando con la edad, cada vez se duerme menos, y cada vez hay menos sueño MOR. Para el establecimiento del sueño MOR se requiere de la actividad de estructuras del tronco encefálico (el centro nodal es el núcleo reticular pontino oral, cuyas porciones ventral y paramediana reciben conexiones de múltiples estructuras relacionadas con el control del ciclo vigilia-sueño), produciendo una activación de los sistemas colinérgicos. (Velayos J. L, Molerés F. J, Irujo A. M, D. Yllanes, B. Paternain, 2007).

Las fases de sueño No-MOR y sueño MOR se alternan sucesivamente entre cuatro a cinco veces por la noche. En total, en promedio, la fase de sueño No MOR dura unas 6 horas; y la fase de sueño MOR, dos horas. Es más fácil despertar al sujeto en la fase de sueño MOR que en la fase No-MOR. El metabolismo cerebral y en consecuencia la temperatura cerebral disminuye con la profundidad del sueño No-MOR. Sin embargo, en el sueño MOR estas cifras pueden incrementarse, con respecto al estado de vigilia, ya que hay una activación de la corteza cerebral (Velayos J. L, Molerés F. J, Irujo A. M, D. Yllanes, B. Paternain, 2007).

Se ha propuesto que el sueño cumple diversas funciones tales como el ahorro de energía (Berger RJ, 1995 y Webb WB, 1988), la restauración y reparación del tejido celular (Oswald I, 1980), la termorregulación (Rechtschaffen A, 1995), la regulación metabólica (Knutson KL, 2007 y van Cauter E, 2008), y la adaptación de las funciones inmunes (Lange T y col, 2010). Aunque también se ha propuesto que cumple otras funciones, que van desde desintoxicación del cerebro de los radicales libres (Inoue S y col, 1995 y Reimund E, 1994), el reemplazo de glucógeno (Scharf MT, 2008) y una participación de sueño en la consolidación de

la memoria y la plasticidad sináptica (Diekelmann S y col, 2010 y Tononi G y col, 2006).

## **El sueño y la consolidación de la memoria**

La participación del sueño en la formación de la memoria es una idea que se remonta a los inicios de la investigación experimental de la memoria (Ebbinghaus 1885). A medida que la memoria ha sido vista por muchos filósofos y psicólogos como un requisito importante para la conciencia, es por supuesto interesante saber si esta memoria es formada y construida en gran parte durante el sueño, es decir, un estado del cerebro caracterizado por una profunda pérdida de conciencia.

Una cuestión básica en la investigación de la memoria es el dilema de la estabilidad de la plasticidad, referente a la cuestión de cómo el cerebro puede mantener los recuerdos previamente aprendidos mientras continúa aprendiendo cosas nuevas que tienden a anular los viejos recuerdos. ¿Cómo previene el cerebro que las experiencias recién aprendidas sustituyan a los viejos recuerdos? ¿Cómo estas nuevas memorias se incorporan en las redes de recuerdos de largo plazo?, y ¿cómo los viejos recuerdos permanecen accesibles en un entorno en constante cambio? (Carpenter y Grossberg 1988). Por otro lado, muchos aspectos de los episodios experimentados en el estado de vigilia representan información irrelevante que no necesita ser almacenada a largo plazo.

El modelo estándar de dos etapas de la memoria ofrece una solución ampliamente aceptada a estas cuestiones (Marr, 1971; McClelland, McNaughton, y O'Reilly 1995). Asume dos almacenes de memoria separados, uno que aprende a un ritmo rápido y retiene exclusivamente la información temporalmente, y el otro que aprende a una velocidad lenta pero también muestra una baja tasa de olvido y sirve como un almacén a largo plazo. La nueva información se codifica inicialmente en paralelo, tanto en el almacén temporal como en el de largo plazo. En los períodos posteriores de consolidación, las huellas de memoria recién codificadas se reactivan en repetidas ocasiones y por lo tanto se reorganizan

gradualmente de tal manera que las representaciones del aprendizaje lento de largo plazo se fortalecen. Por lo tanto, para evitar que se produzca interferencia en la reactivación y la redistribución de los recuerdos, la consolidación tiene lugar durante los períodos fuera de línea, es decir, durante el sueño cuando no hay demanda de codificación.

Como previamente fue mencionado, la memoria declarativa se divide en la memoria semántica que se refiere al conocimiento general y en la memoria episódica que se refiere a los eventos individuales conscientemente experimentados durante la vigilia. Las memorias semánticas, pueden ser enteramente independientes del hipocampo, en contraste, las memorias o recuerdos episódicos requieren continuamente de la función del hipocampo, incluso después de años de consolidación (Nadel, Samsonovich, Ryan, y Moscovitch 2000).

La consolidación de la memoria a largo plazo puede ser analizada en dos niveles de organización, consolidación sináptica y consolidación de sistemas; la consolidación de sistemas es el proceso mediante el cual las representaciones inicialmente codificadas en el hipocampo se redistribuyen de forma gradual entre los diferentes sistemas corticales para la consolidación de largo plazo. Mientras que la "Consolidación sináptica", que implica el fortalecimiento de las representaciones de memoria mediante modificaciones a nivel sináptico, se refiere a los cambios en las conexiones sinápticas localizados en los circuitos neuronales que codificaron la memoria (Dudai, 2004). Se ha propuesto que la consolidación de sistemas se lleva a cabo preferentemente fuera de línea durante el sueño, porque este tipo de consolidación implica la reactivación de representaciones recientes de la memoria para promover su redistribución y almacén en el largo plazo (Diekelmann y Born 2007). Por el contrario, la consolidación sináptica se puede producir igualmente durante la vigilia.

## **Sueño MOR y la consolidación de la memoria**

La idea de que el sueño es importante para la consolidación y el procesamiento de memorias recientes y remotas está bien establecida. Basado en el trabajo sobre roedores, la fase de sueño MOR es importante en el proceso de consolidación de la memoria.

Existe evidencia muy consistente sobre el papel del sueño MOR en la memoria, esta evidencia fue proporcionada por estudios en animales (Pearlman C, 1987; Poe GR, 2010; Portell Cortes, 1988 Smith C; 1985; Smith C, 1996; Smith C, 2011; Vogel GW, 1975), mediante el uso de una gran variedad de tareas, incluyendo el condicionamiento clásico (estímulos aversivos) y tareas reforzada con recompensa. Un gran número de estudios han revelado consistentemente aumentos en el sueño MOR después de una sesión de aprendizaje en ratas, ratones y gatos (Bloch V, 1977; Destrade C, 1978; Fogel S, 2002; Hennevin E, 1974; Lecas JC, 1976; Leconte P, 1973; Lucero MA, 1970; Portell-Cortés, 1989; Smith C, 1974; Smith C, 1977; Smith C, 1991; Smith C, 1980).

La privación de sueño parece afectar principalmente la formación de la memoria en tareas complejas, como por ejemplo en tareas de evitación y laberintos complejos, ya que estas tareas abarcan un cambio abrupto en el ambiente habitual en que los animales se desenvuelven (Beaulieu I, 2000, Bloch V, 1977, Dodge AM, 1980, Hars B, 1983, Hawkins J, 1980, Hennevin, 1977)

También se ha observado un aumento de sueño MOR especialmente en las primeras horas después del aprendizaje, el aumento del sueño MOR se observó sobre todo en las primeras horas después del aprendizaje, por el hecho de que el registro era limitado a unas cuantas horas. Con sesiones de registro más prolongadas, se pudieron observar periodos de sueño MOR de mayor duración que se produjeron hasta 4-6 días después aprendizaje, muchas veces siguiendo un patrón cíclico (Ruch S, 2012). Este estudio se realizó en el laberinto acuático de Morris, el registro de sueño comenzó 2 h después de aprender y se registró durante 22 horas continuas (Smith C, 1996). En otras tareas de evitación, los

aumentos de sueño MOR eran menos persistentes, en tareas de aprendizaje con recompensas, los aumentos de sueño MOR comenzaron después de 4 horas y persistieron durante 12 horas después (Smith C, 1977).

Un amplio número de estudios en este contexto han sido criticados ya que emplean el método de "maceta"(flower-pot) para privar al animal del sueño MOR. En este procedimiento, la rata descansa en una pequeña plataforma, rodeada de agua y, debido a la atonía muscular característica del sueño MOR, el animal cae en el agua siempre que se inicia esta fase de sueño (Born J, 2000, Fishbein W, 2000, Horne JA, 1984). Estos despertares inducidos son altamente estresantes y perjudican el rendimiento de la memoria después (Quervain DJ, 2006). Sin embargo, los efectos de la privación del sueño MOR en la retención de memoria han sido también demostrados con procedimientos menos estresantes tales como levantar suavemente la cabeza del animal (Datta S, 2004), tocarlo suavemente (Ishikawa A, 2006), o después de la supresión farmacológica de sueño MOR (Legault G. Y cols, 2004).

Aunque es menos clara que en ratas, algunas pruebas en humanos también han observado un periodo de tiempo de sueño MOR crítico en el procesamiento de la memoria. En comparación con los paradigmas de aprendizaje declarativos, tareas con un fuerte componente de memoria procedimental parecen ser más sensibles a los efectos perjudiciales de la privación de sueño MOR.

La comparación de los efectos de la privación del sueño MOR y la privación del sueño no-MOR en tareas con fuertes componentes de memoria de procedimiento (fragmentación verbal, Torre de Hanoi, bloque Corsitapping) y tareas de memoria declarativa (reconocimiento verbal de palabras), Smith y Cols, 1993, encontraron que la privación total de sueño MOR o privación de los últimos dos episodios de sueño MOR después del aprendizaje producen un deterioro selectivo en el rendimiento en las tareas de memoria de procedimiento cuando son evaluadas una semana después.

Basándose en estos hallazgos, (Smith C. y cols, 1995) sugiere que en los seres humanos, el sueño MOR está implicado en el procesamiento de la memoria de procedimiento, mientras que el sueño MOR no juega ningún papel en la formación de recuerdos declarativos. Sin embargo, la privación del sueño MOR tanto en seres humanos, como en animales, han sido fuertemente criticada debido a los posibles efectos causados por el estrés de la falta de sueño, en la formación de la memoria (Born J, Gais S, 2000).

### **Actividad eléctrica durante el sueño**

Las etapas del sueño se caracterizan por ritmos específicos en los potenciales de campo de la actividad cerebral. Las oscilaciones lentas neocorticales, los husos tálamo-corticales y SW-R (ondas rápidas asociadas con ondas afiladas) del hipocampo se han asociado con los procesos de consolidación de la memoria durante la etapa de sueño de onda lenta. Adicionalmente existe evidencia de que estos patrones de actividad podrían apoyar la reactivación neuronal, así como promover la redistribución de las representaciones de la memoria en sitios neocorticales durante esta etapa del sueño.

Mientras que el ritmo theta y las ondas PGO han sido propuestos como patrones de actividad implicados en los procesos de consolidación dependientes del sueño MOR que podrían participar en los cambios duraderos de la plasticidad sináptica durante esta etapa del sueño

### **Actividad theta**

La actividad theta se describe como oscilaciones del potencial de campo local en un intervalo de 4 a 12 Hz inicialmente observado en roedores, las cuales son producidas por la actividad sincronizada de poblaciones neuronales (Siapas et al., 2005). El patrón de actividad theta hipocampal se presenta predominantemente durante la conducta exploratoria activa y el sueño MOR (Winson, 1974; Kemp y

Kaada, 1975; Buzsaki, 2002). La actividad theta del hipocampo expresada durante fase de vigilia se le ha asociado con la formación de la memoria. (Dragoi y Buzsaki, 2006; Montgomery et al, 2008; Mizuseki et al., 2009).

Estudios en humanos, se ha asumido que el ritmo theta es generado por el hipocampo (Klimesch W, y cols, 2001; L. Fuentemilla, 2010). Las corrientes extracelulares que subyacen a las ondas theta son generadas principalmente por la entrada entorrinal, la actividad propia del área de CA3 y las corrientes de Ca<sup>2+</sup> en las dendritas de las células piramidales. Se ha sugerido que este ritmo es crítico para la codificación / decodificación temporal de información llevada a cabo por grupos de neuronas activas, además de participar en la modificación de los pesos sinápticos. Diversas observaciones sugieren la participación de las oscilaciones theta en los procesos de plasticidad sináptica (Buzsáki, 2002).

Por otra parte, en la fase de vigilia y en el sueño MOR, se ha observado que la actividad theta puede sincronizar a la actividad eléctrica de diversas regiones cerebrales (O'Neill et al., 2013; Popa et al., 2010). Aunque los seres humanos también muestran clara actividad theta hipocampal durante estados activos de vigilia (Burgess y Gruzelier, 1997; Ekstrom et al, 2005; Lega et al, 2012) (Cantero et al, 2003) y durante el sueño MOR (también observable en la neocórtex) (Cabo et al, 2000; Nishida et al, 2009), no aparece existir una sincronización entre la actividad theta del hipocampo y de la neocórtex (Cantero et al., 2003; Axmacher et al, 2008).

En cambio, una banda más lenta ~ 3 Hz en humanos, referida como actividad rítmica lenta (RSA) o theta lento se ha propuesto ser más fisiológicamente análoga a la actividad theta de roedores (Moroni et al, 2007; Lega et al, 2012). De manera similar a la actividad theta observada en roedores, el theta lento en humanos se produce en el hipocampo durante la vigilia y el sueño MOR (Moroni et al, 2007; Lega et al, 2012). Una posible explicación para la versión de actividad theta más lenta en los seres humanos es el mayor tamaño del cerebro, ya que este puede requerir oscilaciones más lentas para desplazarse a distancias relativamente grandes entre las distintas regiones del cerebro (Moroni et al., 2007).

## ANTECEDENTES

Se ha planteado la hipótesis de que el sueño MOR (movimientos oculares rápidos) juega un papel importante en la consolidación de la memoria.

Aunque el sueño es importante para la adquisición y el rendimiento óptimo de tareas aprendidas, su papel en la consolidación de la memoria no está claramente comprobado. La función y el significado de los sueños siempre ha tenido una fuente de misterio y fascinación. Algunas civilizaciones antiguas vieron a los sueños como una manera de adivinar el futuro. Al principio del siglo pasado fueron vistos como mecanismos para el cumplimiento de deseos. Los primeros trabajos llevaron a la sugerencia de que el sueño MOR era necesario para evitar alucinaciones y enfermedades mentales, una idea inicialmente popular que fue refutada por trabajos posteriores (Rechtschaffen, J. M, 2000). En la actualidad, han surgido nuevas teorías y trabajos experimentales que examinan los vínculos entre el sueño MOR y el aprendizaje.

Una mezcla de resultados positivos y negativos de estudios en seres humanos ha llevado a muchos investigadores a sugerir que el sueño MOR puede no ser importante para ciertos tipos de memoria, como la que se ha denominado "explícita" o memoria "declarativa". El sueño MOR sería por lo tanto excluido de tener un papel importante en la consolidación de la memoria declarativa, por el contrario, en lo que respecta a la memoria "de procedimiento", definida como el rendimiento de habilidades percepto-motoras, se ha sugerido que es alterada por la interrupción del sueño MOR (Stickgold R y cols, 2000; Karni A. y cols, 1994; G. M. y col, 2000).

Sin embargo, otros investigadores sugieren que el sueño MOR tiene un papel clave en el aprendizaje de idiomas y en el aprendizaje emocional (De Koninck J. y cols, 1996; Wagner U, 2001; Smith C. y col, 1991). La evidencia relevante para la hipótesis del sueño- MOR en la consolidación de la memoria abarca tres aspectos generales. El primero es la evidencia de que el aprendizaje provoca un aumento

en la duración del sueño MOR. El segundo consiste en la evidencia que el procesamiento de la memoria se produce durante el sueño MOR y el tercero proviene de estudios que sugieren que, si el sueño MOR es evitado, los recuerdos no se pueden consolidar. Cada tipo de evidencia es considerado a continuación.

### **Evidencia del aumento de sueño MOR después del aprendizaje**

La idea de que el aumento en la duración del sueño MOR es generado por el aprendizaje, se basa en la hipótesis que el aprendizaje requiere del aumento en la cantidad de sueño MOR para la consolidación de las nuevas memorias codificadas, aunque no hay garantía de que la novedad de una nueva situación experimental produzca un aumento global sustancial en el aprendizaje (J. M. Siegel, 2001).

El supuesto de que los niveles de estrés no están correlacionados (positiva o negativamente) con la naturaleza de la tarea de aprendizaje y con el éxito de los animales en la tarea no está comprobado en la mayoría de los estudios, ya que se ha observado que el estrés provocado por las tareas de aprendizaje y la fatiga debido a la privación del sueño pueden afectar directamente a las funciones cognitivas. Esta cuestión es especialmente preocupante, ya que se ha demostrado que el estrés moderado, en ausencia de cualquier tarea de aprendizaje impuesto, puede producir un marcado incremento en el sueño MOR (González C, 1995. Rampin C y cols, 1991), mientras que los niveles más altos de estrés modifican el sueño. La incapacidad de medir por separado el estrés y otras variables emocionales hace que sea difícil determinar cuál de estas, si las hay, están afectando el sueño MOR después del aprendizaje.

Algunos estudios en seres humanos han utilizado las gafas de prisma que distorsionan el mundo visual. Tales dispositivos realizan una rotación o inversión de 90° en el ángulo de visión del sujeto. Durante un período de días, los sujetos aprenden a adaptarse a estas gafas. El ajuste a estos cambios afecta a la mayoría

de los aspectos de comportamiento en la vigilia, así como también los movimientos oculares rápidos, en una aproximación inicial se llegó a la conclusión de que tal experiencia producía un incremento en el sueño MOR (Zimmerman J, Stoyva J, D. 1970), pero un estudio más profundo usando un paradigma similar no encontró dicho incremento (Allen S. R, Oswald I, Lewis S., 1972). En otro estudio usando un diferente reordenamiento espacial se encontró un pequeño efecto en el sueño, observando un aumento del 19-22% del tiempo total de sueño. A partir de esta evidencia contradictoria es complicado llegar a una conclusión acerca de cambios en la cantidad del sueño MOR después de una experiencia de aprendizaje en los seres humanos.

### **Procesamientos de la memoria durante el sueño MOR**

Varios investigadores han buscado evidencia que apoye la hipótesis de la consolidación de la memoria durante el sueño. La reactivación de la actividad neuronal observada durante episodios posteriores del aprendizaje podría ser evidencia de procesos mnemónicos. Sin embargo, una reactivación de eventos neuronales en periodos de sueño MOR posteriores podría no ser parte de la consolidación. Ciertamente, tal repetición podría estar involucrada genéticamente en el desarrollo neuronal y pueden tener un papel en la extinción de trazos de memoria (Crick F, 1983; Newman E. A, 1965; Gaarder K., 1966.), o puede no tener ningún papel en la plasticidad neuronal en lo absoluto.

Trabajos recientes han estudiado la actividad neuronal en el hipocampo de ratas durante el sueño MOR en una búsqueda de evidencia de su participación en los procesos mnemónicos. Uno de ellos (G. R. Poe y cols, 2000) analizó el disparo de grupos de neuronas en el hipocampo. Las células fueron registradas selectivamente durante la exploración de un ambiente (el periodo de vigilia), ya que se conoce que estas células responden a la ubicación específica del animal dentro de su ambiente (células de lugar) disparando en sitios específicos del ambiente conocido y durante el periodo de sueño MOR posterior a la experiencia

de exploración, en este estudio encontraron una reactivación durante el sueño MOR de las neuronas que se habían activado durante la vigilia previa.

### **Formación de la memoria en ausencia de sueño MOR**

Un gran número de los estudios han privado a los animales y los seres humanos de sueño MOR después del entrenamiento. Jouvét descubrió que el sueño MOR se caracterizaba por una pérdida completa de tono muscular (M. Jouvét, 1962), mientras que el sueño no-MOR podía ocurrir sin una completa relajación. Esta característica puede ser explotada para privar a los animales de sueño MOR (Vimont-Vicary P. y cols, 1966), aumentando el estado de vigilia y perturbando el sueño MOR y permitiéndoles dormir durante el sueño no-MOR. Si los animales experimentales, por lo general ratas, se limitan a una pequeña plataforma rodeada de agua, estas empezaron a caer en el agua cuando adquirieran una postura relajada, lo cual obviamente las despierta.

Los animales con privación de sueño MOR tienen una mayor restricción en su actividad motora, que puede ser muy estresante para el roedor (Horne J. A, 1984), y el estrés por sí mismo impide la recuperación de la memoria (H. B. Cohen y col, 1965). En la mayoría de los estudios, el seguimiento polisomnográfico, el cual es necesario para confirmar el éxito y la selectividad de la técnica de privación, no se ha hecho, aunque estudios previos pueden ser una referencia adecuada. La privación del sueño MOR tiene muchos efectos motivacionales y conductuales: hiperfagia, hiperactividad, hipersexualidad, ansiedad, irritabilidad. (H. B. Cohen y col, 1965), y se han reportado otros cambios (Vimont-Vicary P., 1966, Wyatt R. J y cols, 1971. Dement W. C., 1960. Morden B., y cols, 1968).

Muchos estudios en animales han hecho uso de la técnica de privación de sueño en la plataforma. Algunos de los estudios reportan que la privación del sueño MOR bloquea la consolidación de la memoria, mientras que otros no reportan ningún efecto (Smith C, 1985, Horne J. A, 2000, Mc Grath M. J., 1978). El fracaso de la

privación de sueño y por consecuencia la consolidación de la memoria se ha atribuido a la naturaleza de la tarea, algunos autores concluyen que sólo las tareas más complejas requieren del sueño MOR para la consolidación de la memoria. La mayoría de los estudios han utilizado la privación del sueño MOR inmediatamente después de aprender una tarea, incluidos los estudios que tienen tanto un reforzador positivo, como negativo. Otros estudios han descrito mejores resultados si la privación de sueño MOR ocurre en una ventana de tiempo específica (J. M. Siegel, 2001), aunque incluso en esta situación, se han producido tanto resultados positivos como negativos. Una técnica de privación menos estresante de sueño MOR fue desarrollada en la que un suave movimiento de balanceo se utiliza para interrumpir el sueño MOR en ratas (van Hulzen Z. J. M., 1982). Con este procedimiento, se utilizó la misma tarea conductual ejecutada con la técnica de privación en la plataforma, los resultados obtenidos no mostraron deficiencias en el aprendizaje, por lo cual se sugirió que el estrés provocado por la pérdida del sueño MOR, fue la variable crítica.

Los primeros estudios de la privación del sueño MOR y la privación total de sueño en los seres humanos se centraron sobre las consecuencias fisiológicas y emocionales del procedimiento de privación de sueño, con pocos informes de alteraciones en el funcionamiento intelectual (Kleitman N, 1963). El primer estudio (Karni A., y cols, 1994) mostró que la privación del sueño MOR impedida el aprendizaje de la tarea, y que la privación del sueño no-MOR interfería con el rendimiento de una tarea previamente bien aprendida. Estos resultados fueron interpretados como indicativo de que el sueño MOR y no-MOR diferían en su capacidad para mantener la tasa de mejora que se produce en vigilia y que el sueño es "absolutamente necesario" para la mejora en el rendimiento.

Durante mucho tiempo la privación del sueño de movimientos oculares rápidos (MOR), ha sido utilizada para estudiar el papel del sueño MOR en el aprendizaje y los procesos de memoria. Puesto que se ha planteado la hipótesis de que el sueño MOR promueve el aprendizaje y la memoria facilitando la consolidación de la información recién adquirida en el almacenamiento a largo plazo (Maquet 2001;

Siegel 2001; Hobson y Pace-Schott 2002). En roedores, la evidencia de esta hipótesis se basa en observaciones fisiológicas y los hallazgos más recientes sugieren que la modulación del sueño MOR en los procesos de memoria dependen de los mecanismos celulares y moleculares que subyacen a formas de la plasticidad sináptica, tales como potenciación de largo plazo (Benington y Frank 2003).

En un estudio reciente, Pascal Ravassard y col (2015) evaluaron el papel del sueño MOR en el aprendizaje mediante la tarea de condicionamiento contextual al miedo (CFC), así como en los procesos de plasticidad sináptica como la PLP (potenciación de largo plazo) y en la expresión de genes asociados a la plasticidad como *Egr1/Zif268* después de 4h de privación del sueño MOR (PSM).

En el CFC las ratas se colocaron en una cámara de condicionamiento (40 x 40 x 60 cm) y se les permitió explorar libremente durante 4 minutos antes de la aparición del estímulo no condicionado (descarga eléctrica en las patas). El CFC se evaluó 24 h después del entrenamiento para evaluar la adquisición o consolidación. Durante la evaluación del aprendizaje, se re-expuso al animal a la cámara de condicionamiento (contexto), durante 6 minutos consecutivos sin entrega de descarga. El comportamiento de congelación, que se define como una ausencia total de movimiento, se evaluó antes y después del entrenamiento, así como durante la fase de prueba. Se encontró que los animales con privación de sueño MOR (PSM), mostraron una reducción significativa en el rendimiento de la memoria (expresada como el porcentaje de tiempo pasado en congelación) cuando se re-expusieron en la cámara de condicionamiento 24 h después de la formación de la memoria al miedo en comparación con los animales sin privación del sueño.

También se trató de determinar cómo el sueño MOR podría regular la plasticidad a nivel celular. Esto se evaluó mediante técnicas de inmunofluorescencia que determinaron la expresión del gen temprano *Egr1* (también conocido como *Zif268*, *Krox-24*, *NGF1-A*, *Zenk*). El gen *Egr1/Zif268* se le ha atribuido un papel en la plasticidad y en la memoria de largo plazo (Bozon *et al.* 2002), este gen

incrementa su expresión en el hipocampo y neuronas neocorticales en episodios posteriores al sueño MOR después de la exploración de un medio ambiente novedoso o de la inducción de la PLP hipocampal (Ribeiro et al. 1999, 2002).

Está bien demostrado que la adquisición y la consolidación de CFC requiere del hipocampo dorsal (Phillips y LeDoux 1992, 1994; Sanders et al. 2003) e implica mecanismos de la plasticidad sináptica a largo plazo que requieren la activación de las cinasas PKA y ERK-MAPK (efector de la vía ERK-MAPK) (Abel *et al.* 1997; Sindreu *et al.* 2007). Por lo cual, Ravassard y col, 2015 examinaron el efecto de PSM en la inducción de LTP en CA1 y expresión del gen *Egr1/Zif268*. Ellos encontraron que la inducción de LTP en CA1 se vio muy disminuida después de la PSM, así como también la expresión del gen *Egr1/Zif268*. Este resultado está de acuerdo con estudios anteriores que muestran que la prolongación de PSM perjudica PLP en CA1 en el hipocampo dorsal (Mc Dermott et al. 2003; Ravassard *et al.* 2009).

Estos estudios señalan una función específica del sueño MOR en la memoria y la plasticidad sináptica del hipocampo, adicionalmente, encontraron que un aumento en la cantidad de sueño MOR facilita el rendimiento de la memoria y restaura la plasticidad sináptica provocada por la PSM, mientras que una disminución del sueño MOR reduce el rendimiento de la memoria y la plasticidad sináptica.

En general, estos datos sugieren que el deterioro en la consolidación de CFC visto después de la PSM es causado por una alteración de la plasticidad sináptica del hipocampo y sus resultados sugieren que el sueño MOR podría ser un regulador clave de la plasticidad dependiente del hipocampo y la memoria emocional.

En otro estudio aparte, Boyce. (Boyce R. et al, 2016) demostró que las oscilaciones theta del hipocampo son críticas para la formación de la memoria durante la fase de sueño MOR. El patrón de actividad theta del sueño MOR, en comparación con el ritmo theta presente en la exploración durante la vigilia, favorece el procesamiento fuera de línea en el giro dentado y las regiones CA3 del hipocampo, y promueve la sincronización de ráfagas cortas entre la región CA1 y

las regiones neocorticales (Montgomery S.M, Sirota A, Buzsaki G, 2008). Estos pequeños momentos de actividad súper-sincronizado concurren durante la aparición de las ondas pontinas, implicadas previamente en la consolidación de la memoria (Datta S, Mavanji V, Ulloor J, Patterson E. H, 2004).

Boyce y cols, (2016) utilizaron dos paradigmas de aprendizaje dependientes del hipocampo para probar el papel de la actividad theta de sueño MOR en la consolidación de la memoria. Uno fue el reconocimiento de objetos novedosos, (prueba que se utiliza ampliamente para estudiar modelos de memoria en el roedor), la tarea se basa en el impulso natural para explorar la novedad; cuando un ratón regresa a un ambiente familiar, éste presta más atención a objetos nuevos en comparación a los objetos familiares que estuvieron presentes en las visitas anteriores.

Boyce y sus colaboradores usaron técnicas optogenéticas, para silenciar selectivamente a las neuronas liberadoras de ácido  $\gamma$ -aminobutírico del septo medial (MS-GABA) para reducir la potencia theta en el hipocampo. Ellos encontraron que la supresión de la actividad de las neuronas MS-GABA en todos los episodios el sueño MOR durante la ventana crítica de consolidación, es decir 4 horas después del entrenamiento afecta la tarea de memoria de reconocimiento de objetos. Los autores observaron que los animales que recibieron el silenciamiento de las neuronas MS-GABA en periodos fuera del sueño MOR mostraron un rendimiento normal, al igual que los ratones en los grupos control, los cuales no recibieron el tratamiento, en comparación el grupo tratado con el silenciamiento selectivo de MS-GABA durante el sueño MOR mostró una deficiencia en la capacidad para reconocer los objetos novedosos.

El otro paradigma utilizado el trabajo de Boyce, se basó en el miedo condicionado para evaluar el papel de la actividad theta durante el sueño MOR en el procesamiento de las memorias dependientes de la función hipocampal que incluyen carga emocional (Pace-Schott E. F, Germain A, Milad M. R, 2015). Los ratones recibieron choques eléctricos de baja intensidad emparejados con estímulos auditivos de referencia en cámaras de pruebas distintas, y su tarea

consistía en recordar las circunstancias de la experiencia negativa un día después del entrenamiento. Al regresar a la misma cámara o al escuchar la señal auditiva en un nuevo entorno al día siguiente, los ratones normales y los ratones de los grupos de control mostraron mayor congelación. Sin embargo, si las neuronas MS-GABA fueron silenciadas durante el sueño MOR después del aprendizaje, los ratones reaccionaron solamente a la señal auditiva, pero mostraron menos congelación en la cámara del contexto, lo que indica un deterioro en la consolidación de la memoria del hipocampo.

En resumen, estos datos proporcionan evidencia concluyente del papel de la actividad theta presente durante el sueño MOR en el proceso de consolidación de la memoria espacial y contextual.

Como se ha mencionado anteriormente, existe evidencia donde se ha demostrado que la consolidación de la memoria es afectada si se interrumpe el sueño MOR o con los patrones de actividad oscilatoria del hipocampo que ocurren durante el sueño o estados de vigilia que preceden la experiencia de aprendizaje de tareas de memoria. En el presente trabajo nosotros nos preguntamos cómo el patrón de actividad theta generado durante la fase de sueño MOR puede estar contribuyendo al proceso de consolidación de las nuevas memorias. Para este objetivo, se registró la actividad oscilatoria durante sueño MOR a través de los días de aprendizaje de una tarea de memoria espacial.

Con base en la evidencia acerca del papel de la actividad theta del sueño MOR en el proceso de consolidación, en este trabajo se sugiere que pueden existir cambios en frecuencia y/o acoplamiento de los generadores theta hipocámpales que pueden sustentar el proceso de consolidación de las memorias recientemente adquiridas. Adicionalmente, de acuerdo a trabajos previos, se espera que el aprendizaje genere cambios en la arquitectura del sueño MOR.

## **HIPÓTESIS**

La consolidación de una memoria espacial involucrará cambios en el perfil de la actividad eléctrica oscilatoria hipocampal. Específicamente, los circuitos intra-hipocampales expresarán cambios en potencia relativa y acoplamiento en frecuencia theta (4-12 Hz) durante episodios de sueño MOR presentes en la ventana temporal crítica para la consolidación de la memoria, además los episodios de sueño MOR sufrirán cambios en duración y/o número de eventos durante el periodo de consolidación de la memoria espacial.

## OBJETIVOS

### OBJETIVO GENERAL

- Evaluar el perfil de la actividad eléctrica de los circuitos intrahipocampales durante el periodo de consolidación de la memoria espacial.

### OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar la duración del estado de sueño MOR durante el periodo de consolidación de la memoria espacial.
- Determinar los patrones de actividad eléctrica en el estado de sueño MOR a través del análisis de potencia y coherencia durante el periodo de consolidación de la memoria espacial.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Animales experimentales

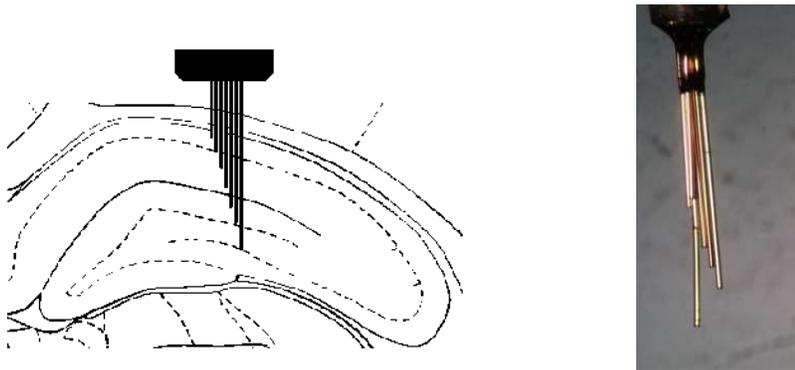
Se utilizaron seis ratas macho de la cepa Sprague-Dawley de 4-5 meses de edad con un peso de 450 a 500 gr. Todos los experimentos se realizaron de acuerdo con la guía y lineamientos del Instituto Nacional de Salud de los Estados Unidos de América; así como con la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 para el mantenimiento cuidado y uso de animales de laboratorio. El protocolo de este trabajo fue aprobado por el Comité de Investigación y Ética del Instituto Mexicano del Seguro Social, México. Las ratas se mantuvieron en condiciones estándar de bioterio, con ciclos de luz-oscuridad 12 hrs/12 hrs, temperatura controlada a  $22 \pm 2^{\circ} \text{C}$ , la comida y el agua estuvieron disponibles. Todos los experimentos se realizaron durante el período de luz, a partir de las 9:00 AM.



**Figura 8.** Rata Sprague-Dawley macho.

## Construcción de electrodos

Para registrar las oscilaciones theta del hipocampo en sus distintos estratos, se construyó un arreglo de ocho electrodos de alambre de nicromo (25 micrómetros de diámetro) montados dentro de una cánula guía. Los electrodos fueron alineados y sus puntos de registro espaciados 180 micrómetros con el fin de cubrir los siguientes estratos hipocampales: piramidal de CA1 (spCA1), radiado (SR), lacunosum-Molecular (SML), piramidal de CA3 (spCA3).

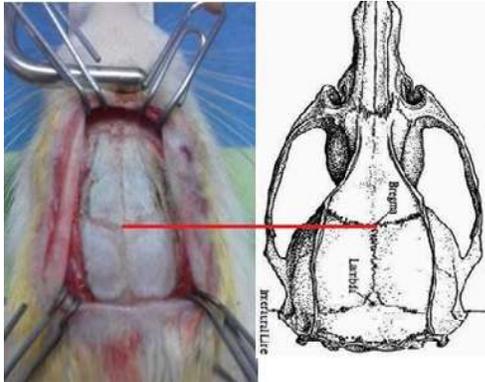


**Figura 9** - Esquema del arreglo de ocho electrodos implantados en el hipocampo.

## Procedimientos quirúrgicos para el implante de electrodos

Cada rata se anestesió con una solución de ketamina (50 mg / kg, IM) y pentobarbital sódico (60 mg / kg, IP) y se colocó en un instrumento estereotáxico (AnyAngle, Stoelting). El cuero cabelludo fue desinfectado con solución de yodo y se aplicó el anestésico local (lidocaína) sobre la piel antes de la incisión quirúrgica. La piel se separó suavemente del cráneo, con la superficie del cráneo expuesta se realizó una craneotomía sobre el hueso suprayacente al hipocampo dorsal derecho para implantar a permanencia un dispositivo con un arreglo de electrodos (HPC, 3,8 mm posterior y 2,7 mm lateral al bregma). La matriz de electrodos se hizo descender lentamente hasta su posición definitiva bajó a 3,8 mm de la superficie del cráneo.

Se insertó un tornillo en el cráneo, por encima del cerebelo para ser utilizado como electrodo de referencia y tierra. Adicionalmente se implantaron dos electrodos en los músculos profundos de la nuca para registrar su actividad electromiográfica. Después de la cirugía las ratas se mantuvieron en una sala de recuperación bajo el cuidado estándar durante 15 días.



**Figura 10.** Posición anatómica de bregma.

### **Registros polisomnográficos**

Una semana antes del inicio de los registros de sueño, las ratas fueron habituadas en cajas especiales aisladas del ruido y la luz exterior, las cajas se acondicionaron con una lámpara para mantener las condiciones estándar de bioterio luz/obscuridad, también estuvieron disponibles el agua y la comida, posteriormente hubo otro periodo de habituación; durante dos días en los cuales se conectó un cable de registro al dispositivo con los electrodos en la cabeza del animal.

Una vez concluida la etapa de habituación, se iniciaron los registros del sueño durante seis días, en el primer día denominado BASAL 1, se registró la actividad eléctrica durante 8 horas continuas de 9:15 hrs hasta las 17:15 hrs. Para descartar efectos en la actividad del sueño MOR asociados con la exploración de un ambiente novedoso o al acarreo del animal desde su caja de sueño al cuarto de

conducta (habitación en la que se ejecutó la tarea de memoria en los días posteriores) se realizó el registro de un segundo día denominado BASAL 2 en el que además del registro en la caja de sueño se incluyó una etapa de registro en el laboratorio de conducta, para lo cual, dos horas después (11:15 AM) del inicio del registro en la caja de sueño, se desconectó el cable de la cabeza del animal para transportar al sujeto en una caja individual hacia el laboratorio de conducta donde se le permitió explorar el ambiente libremente durante 20 minutos, pasado ese tiempo, se regresó a la caja de sueño y se registró la actividad eléctrica por un periodo de 5 horas, este periodo, se consideró como etapa basal post-exploración. Los días 3, 4, 5 y 6; todos los experimentos comenzaron a las 9:15 AM (pre-aprendizaje), los animales se llevaron al laboratorio de conducta para que realizaran la tarea de aprendizaje en el laberinto acuático de Morris, dos horas después del inicio del registro (11:15 AM), una vez terminada la tarea, se regresaron a sus cajas de sueño para registrar el sueño MOR durante el periodo de consolidación de la memoria (5 horas post-aprendizaje). Todos los animales fueron evaluados de la misma manera para evitar en lo posible variabilidad en los resultados.



**Figura 11-** Rata experimental en la caja de registro de sueño.

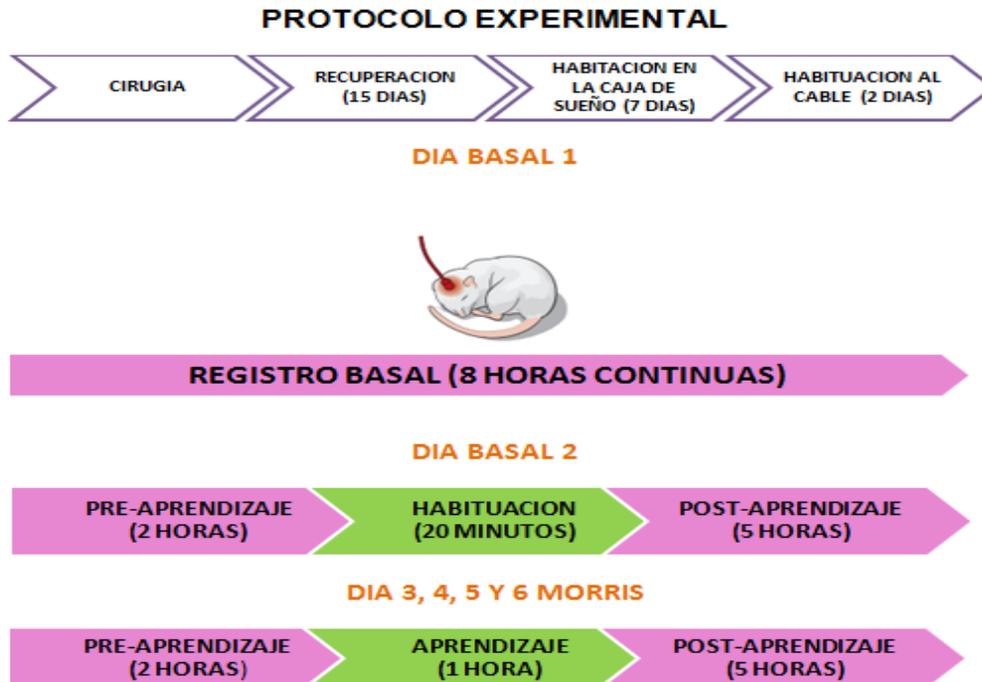


Figura 12- esquema del protocolo experimental.

### Procedimientos de registro

Durante la fase de sueño, las señales electrofisiológicas, provenientes de los electrodos a través del cable de registro se amplificaron (100x) mediante una tarjeta preamplificadora de 8 canales, la señal obtenida fue enviada hacia un sistema de registro de EEG NEURODATA ACQUISITION SYSTEM, modelo P122, ASTROMED INC, GRASS. La señal fue digitalizada con un software POLIVIEW. Todos los eventos de sueño MOR fueron importados y almacenados en MATLAB (MathWorks, Inc.) (Delorme y Makeig, 2004) para su posterior análisis.

En la fase de ejecución de la tarea memoria en el laberinto acuático de Morris, la señal electrofisiológica fue preamplificadas (1X) con un “headstage” Neurotek de 8 canales; para evitar posible cortocircuito al contacto con el agua durante la ejecución de la tarea de memoria, los conectores y el “headstage” fueron protegidos con una capa de silicón y parafilm. La señal fue enviada a través de un dispositivo conmutador motorizado (Neurotek - IT) hacia un sistema de registro de

EEG donde se amplificó (1000X) y se filtró (1-6000 Hz) con un amplificador Grass modelo 15A54. La señal fue digitalizada a 25 KHz con un sistema de adquisición de datos Datawave Technologies. El potencial del campo local fue submuestreado a 1.2 KHz.

### Protocolo de conducta y registro

La prueba de conducta se llevo a cabo en el laberinto acuático de Morris, en un tina circular de 1.5 m de diámetro y 50 cm de altura. El nivel del agua fue fijado a la mitad de la altura total de la tina para que los animales de experimentación no pudieran escapar del laberinto trepando por las paredes. El agua fue teñida de azul por la adición de violeta de genciana y mantenida a 25 °C. El laboratorio donde se encontraba el laberinto contenía señales visuales extralaberinto con las cuales los sujetos podían realizar una representación del ambiente mediante las señales espaciales disponibles. La tina circular fue dividida virtualmente en cuatro cuadrantes iguales, dentro de uno de los cuales se colocó una plataforma circular de 9 cm de diámetro sumergida 2 cm por debajo de la superficie. La relación del área de búsqueda (área de la superficie del agua en la tina) con el tamaño del objetivo (plataforma) fue de 280, lo que garantiza una dificultad óptima en la tarea para evaluar la función del hipocampo en el aprendizaje espacial (Voorhees y Williams, 2006).

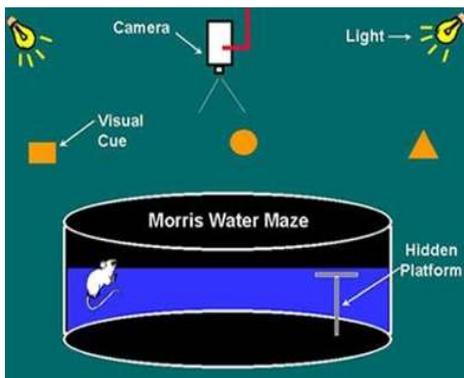
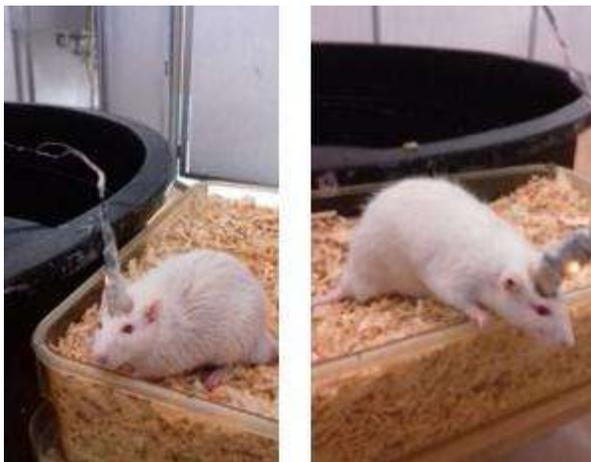


Figura 13- Esquema del laberinto acuático de Morris.

La prueba del laberinto acuático se realizó durante cuatro días, con seis ensayos por día. En cada ensayo se le permitió al sujeto experimental buscar la plataforma un tiempo máximo de 1 minuto, el intervalo inter-ensayo fue de dos minutos. Inicialmente, el animal fue colocado en el interior del laberinto en un sitio al azar junto y de frente a la pared, se le permitió nadar libremente hasta encontrar la plataforma o hasta que transcurra un minuto. Para los ensayos sucesivos, el sujeto fue liberado desde diferentes sitios del laberinto elegidos al azar, si el animal logró encontrar la plataforma se le permitió permanecer sobre esta durante 15 segundos; si no fue así, al final del minuto se le sujetó gentilmente y fue guiado a la plataforma en la que permaneció durante 15 segundos; pasado este periodo, el animal fue llevado a una caja de mantenimiento durante el inter-ensayo (2 minutos). Se midió la latencia de escape, y la distancia recorrida en la búsqueda y/o localización de la plataforma como indicadores de aprendizaje, adicionalmente se obtuvo la velocidad de nado. Estos parámetros fueron calculados mediante el software VideoBench.

Durante la prueba de conducta, los registros electrofisiológicos se realizaron en dos condiciones, en períodos cuando el animal caminaba en la caja de mantenimiento antes de la tarea (grabación de línea de base) y durante el desempeño de la tarea en el laberinto acuático de Morris (etapa de nado).



**Figura 14-** Rata en la caja de mantenimiento en el cuarto de registro.

Al final de los experimentos, las ratas fueron sacrificadas con una inyección letal (pentobarbital sódico 60 mg / kg, vía IP), se extrajeron los cerebros, y la posición de los electrodos fue verificada histológicamente mediante la técnica de tinción con violeta de cresilo.

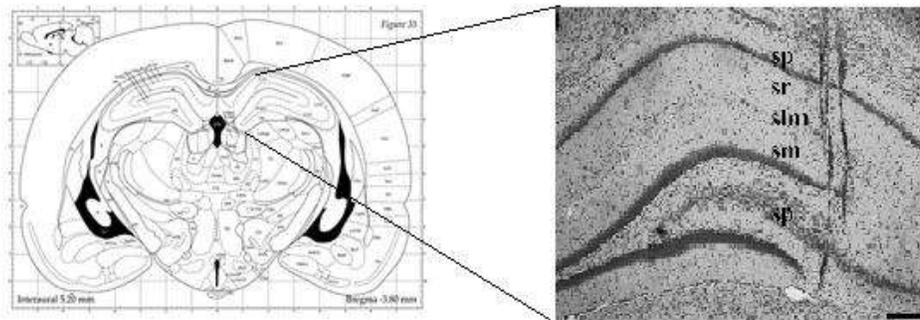
### **Análisis de los datos**

Se utilizó el software Poliview para transformar los archivos a formato de texto (archivos txt) tomando únicamente los segmentos correspondientes al sueño MOR. El sueño MOR fue identificado fuera de línea, por la inmovilidad del animal, las características del EMG y de las imágenes en video. Todos los segmentos de sueño MOR fueron importados en MATLAB (Mathworks, Inc.), para eliminar los artefactos se utilizó el software EEGLAB (Delorme y Makeig, 2004). El análisis del potencial del campo local se llevó a cabo utilizando programas personalizados adaptados de la biblioteca Matlab escrito por Ken Harris, disponible en: <http://osiris.rutgers.edu/Buzsaki/software>. La potencia de las oscilaciones theta fue calculada mediante análisis de densidad espectral de potencia utilizando el método periodograma de Welch, los valores de coherencia entre los estratos intrahipocámpicos fueron calculados como la función de la magnitud de coherencia. Debido a que la función de coherencia es una medida que refleja una asociación lineal entre dos señales, esta puede ser considerada como una medida que proporciona información acerca de las interacciones funcionales entre las regiones del cerebro.

El análisis espectral se llevó a cabo en ventanas de 2 s para garantizar una resolución de frecuencia theta de 0.5 Hz. La potencia absoluta de toda la banda theta (4-12 Hz) se convirtió a potencia relativa (PR) en bins de 0.5 Hz.

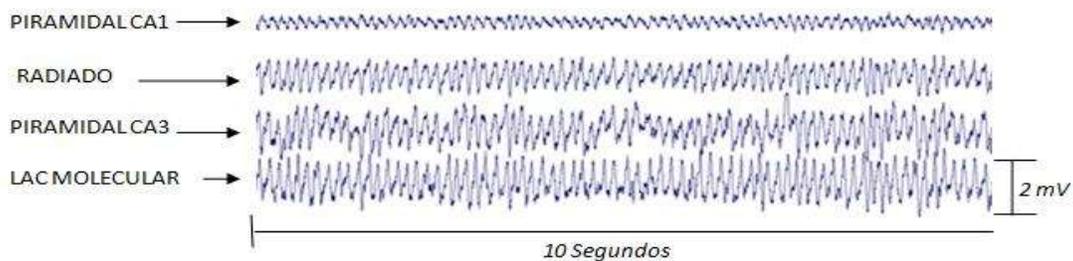
## RESULTADOS

Con el objetivo de verificar que la posición de los electrodos implantados en el hipocampo derecho de la rata estuvieran en el sitio correcto, se procesaron todos los cerebros mediante la técnica de inclusión en parafina, una vez que estuvieron incluidos, estos fueron cortados en un micrótopo con un grosor de 20 micras, posteriormente todos los cortes fueron teñidos mediante la técnica con violeta de cresilo (Fig.15). La posición del arreglo de electrodos fue verificado mediante un microscopio óptico.



**Figura 15-** Derecha; microfotografía de un corte coronal del hipocampo derecho, nótese el trazo del electrodo. Izquierda; corte coronal del hipocampo tomado de paxinos y Watson.

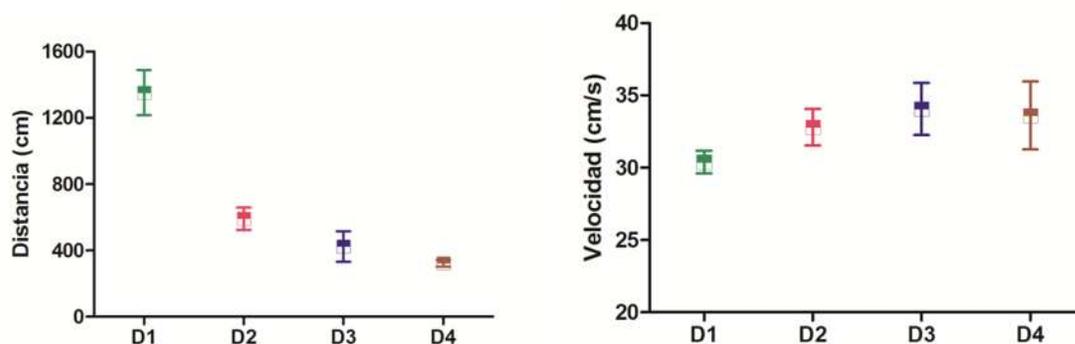
A continuación se muestra un segmento (10 segundos) de la actividad theta característica del sueño MOR (Fig. 16), en los cuatro estratos hipocampales analizados.



**Figura 16-** trazo de la actividad theta en los cuatro estratos hipocampales registrados durante el sueño MOR.

## Análisis de conducta

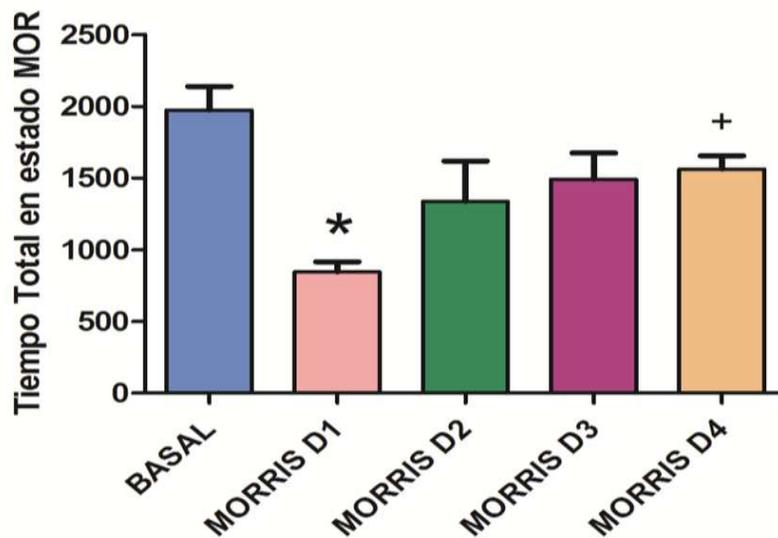
Este análisis se realizó con el objetivo de evaluar el desempeño de los animales experimentales en la tarea de aprendizaje del laberinto acuático de Morris. En cuanto a la distancia se realizó ANOVA de medidas repetidas de una vía (factor tiempo) ( $F_{3,15}= 62.97$ ,  $p<0.0001$ ) y un análisis post hoc de Bonferroni, mostro una disminución significativa de la distancia a través de los días de aprendizaje, es decir, que los animales utilizaron rutas más directas para llegar a la plataforma de escape, la disminución en la distancia recorrida para llegar a la plataforma de escape indica claramente que los animales experimentales aprendieron a resolver la tarea exitosamente. Respecto a la velocidad; también se realizó un ANOVA de medidas repetidas de una vía ( $F_{3,15}= 3.361$ ,  $p=0.2429$ ); un análisis post hoc de Bonferroni no mostro diferencias significativas a través de los días de aprendizaje, la velocidad se mantuvo constante todos los días de prueba (Fig. 17)



**Figura 17-** A) Distribución de la distancia recorrida para llegar a la plataforma de escape, (cm).  $P<0.0001$ . B) Velocidad utilizada para resolver la tarea de aprendizaje, (cm/s).  $p=0.2429$ . (n=6).

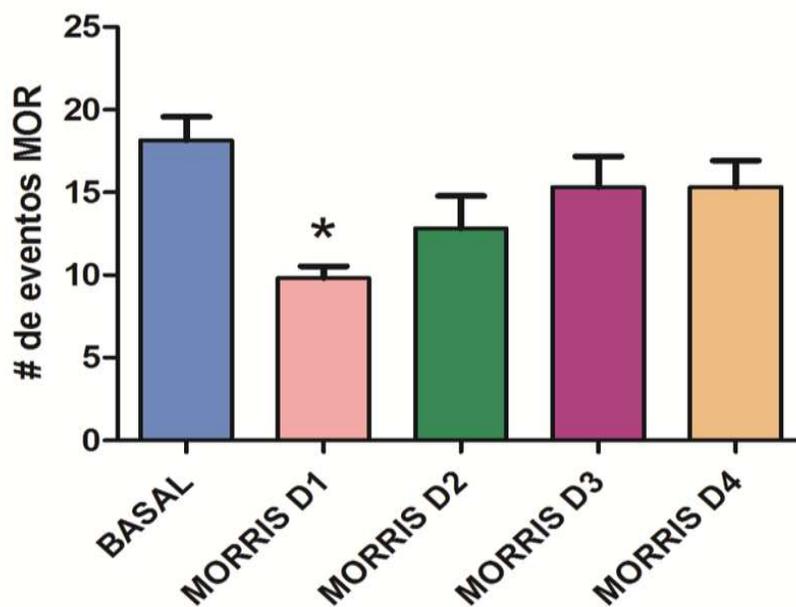
## Análisis de la arquitectura del sueño MOR posterior a la ejecución de la tarea de memoria espacial

Con el objetivo de evaluar si la experiencia de aprendizaje modifica las características del sueño MOR a través de los cuatro días de entrenamiento, se analizó la duración total de los episodios de sueño MOR ocurridos dentro de las primeras 4.5 horas después de la prueba experimental en los días de entrenamiento y en la condición basal. En este análisis únicamente se incluyeron aquellos episodios que aparecieron después de someter al animal a la tarea de aprendizaje, es decir, durante la etapa de consolidación de la memoria. Para determinar si existen cambios en la cantidad de tiempo extendido en sueño MOR, se realizó ANOVA de medidas repetidas de una vía (factor tiempo) el análisis mostro diferencias significativas en el tiempo total que el animal permaneció en la fase de sueño MOR ( $F_{4,20}=6.222$ ,  $p=0.0020$ ). El análisis de Tukey post hoc mostró una disminución en el tiempo total de sueño MOR en el día uno respecto a la condición basal, así como un aumento el tiempo total de sueño MOR en el día cuatro con respecto al día uno de aprendizaje (Fig. 18).



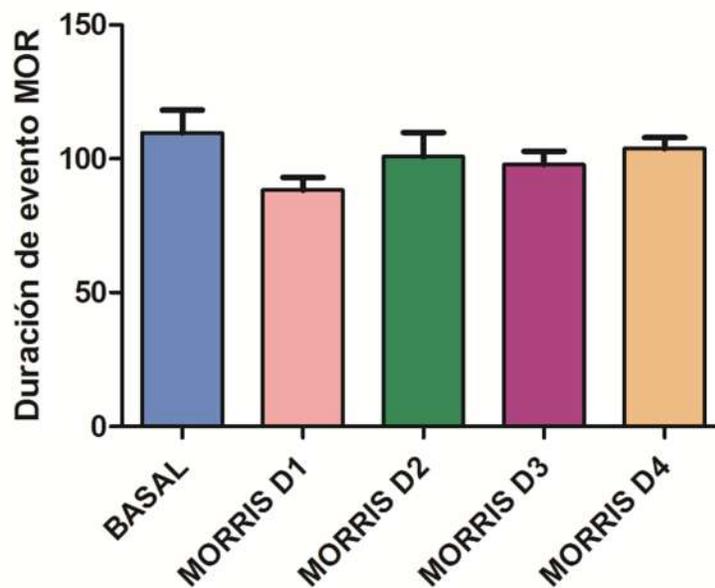
**Figura 18-** Distribución del tiempo total de sueño MOR durante la etapa de consolidación. Se muestra el tiempo total de sueño MOR a través de los días de aprendizaje y la condición basal, expresado en minutos. \*  $p<0.05$  (Comparación entre la condición basal y el día uno de aprendizaje). +  $p<0.05$  (Comparación entre los días uno y cuatro de aprendizaje).

También se realizó un análisis del número de episodios MOR que aparecieron después del aprendizaje durante la etapa de consolidación de la memoria, con el objetivo de evaluar si en esta etapa se producen cambios en el número de eventos MOR. En este análisis se incluyeron todos aquellos eventos que aparecieron durante las primeras 4.5 horas posteriores a la experiencia conductual. El ANOVA de medidas repetidas de una vía (factor tiempo), mostró diferencias significativas en el número de episodios que aparecieron después del aprendizaje ( $F_{4,20} = 4.881$ ,  $p=0.0065$ ). El análisis de Tukey post hoc mostró una disminución en el número de eventos de sueño MOR en el día uno de aprendizaje respecto a la condición basal.



**Figura 19.** Distribución del número de eventos de sueño MOR después del aprendizaje. Se muestra el número de eventos MOR a través de los días de aprendizaje y la condición basal. \* $p<0.05$  (comparación entre la condición basal y el día uno de aprendizaje).

Por último, en cuanto a arquitectura global del sueño se refiere, se realizó un análisis adicional con el objetivo de evaluar si cada uno de los episodios de sueño MOR que aparecieron después del aprendizaje se modificaba en cuanto a su duración. El análisis estadístico utilizado fue un ANOVA de medidas repetidas de una vía (factor tiempo), los resultados no mostraron diferencias significativas en la duración de los eventos de sueño MOR a través de los días de aprendizaje ( $F_{4,20}=2.228$ ,  $p=0.1024$ ). Por lo cual esta evidencia sugiere que los episodios de sueño MOR mantuvieron una duración promedio y el aprendizaje no modificó su duración.

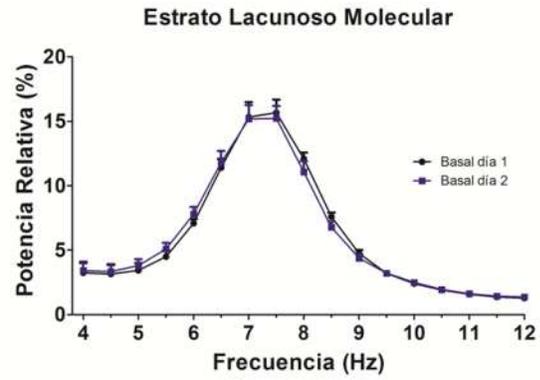
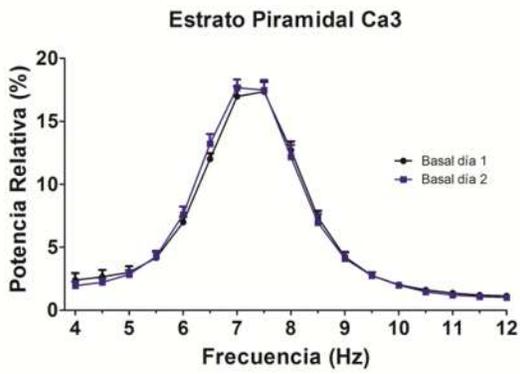
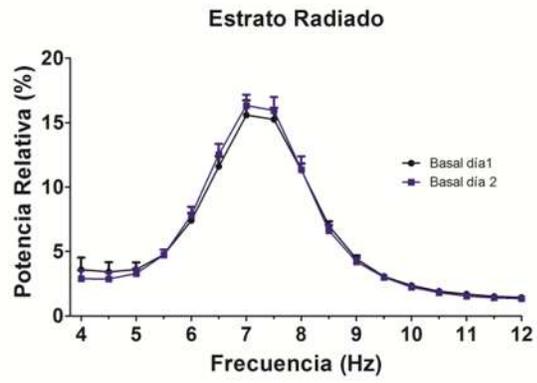
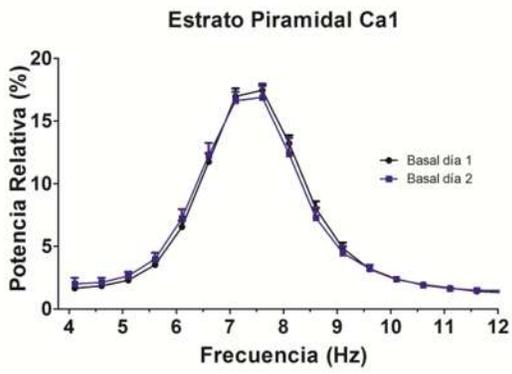


**Figura 20.** Distribución de la duración de cada uno de los eventos de sueño MOR, expresado en minutos. No se encontraron diferencias significativas en la duración de los episodios de sueño MOR a través de los días de aprendizaje,  $p=0.1024$ .

## **Potencia relativa de la actividad theta en sueño MOR de cinco horas de registro en la condición basal**

Con el objetivo de determinar si existen cambios en la potencia relativa de la actividad theta registrada durante el sueño MOR a través de los días en cuatro estratos del hipocampo (piramidal CA1, radiado, piramidal CA3 y lacunoso-molecular) en condiciones basales, se analizó la actividad theta del sueño MOR en dos días antes de iniciar la prueba de aprendizaje. En el día dos de la condición basal las ratas fueron colocadas en el ambiente donde se llevarían a cabo las pruebas de aprendizaje.

El ANOVA de medidas repetidas de dos vías con los factores día y frecuencia no mostraron cambios en potencia relativa en ningún estrato analizado: St. PirCA1 (estrato piramidal CA1) ( $F_{16,68}=0.9111$ ,  $p=0.5602$ ), St. Rad (estrato radiado) ( $F_{16,85}=0.3916$ ,  $p=0.9813$ ), St. Lac-Mol (estrato lacunoso-molecular) ( $F_{16,85}=1.066$ ,  $p=0.3998$ ) y St. PirCA3 (estrato piramidal CA3) ( $F_{16,85}=0.8990$ ,  $p=0.5726$ ) (Fig. 21). Lo cual refleja que la actividad oscilatoria no cambia en condiciones basales a pesar de la manipulación conductual realizada en el día dos. Esto demuestra que la exploración del ambiente donde se llevaría a cabo la tarea y la manipulación conductual no fueron suficientes como para generar cambios en la actividad eléctrica en los diferentes estratos del hipocampo.



**Figura 21.** Distribución de la potencia relativa de la banda theta registrada en los estratos del hipocampo en los días uno y dos de la condición basal.

## **Potencia relativa de la actividad theta de sueño MOR en la condición de aprendizaje espacial.**

Para evaluar si el aprendizaje espacial genera modificaciones en la actividad oscilatoria del hipocampo durante el periodo de consolidación posterior a la tarea de aprendizaje, se analizó la actividad theta del sueño MOR que ocurrió después de la ejecución de la tarea de aprendizaje durante los cuatro días de la prueba. Se realizó ANOVA de medidas repetidas de dos vías (factores día x frecuencia) para cada estrato. Los resultados mostraron diferencias significativas en todos los estratos hipocampales; St. PirCA1 ( $F_{80,340} = 2.789$ ,  $p \leq 0.0001$ ), St. Radiado ( $F_{80,425} = 1.564$ ,  $p = 0.0029$ ), St PirCA3 ( $F_{80,425} = 2.783$ ,  $p=0.0003$ ) y St lacunoso molecular ( $F_{80,425} = 1.945$ ,  $p \leq 0.0001$ ), (Fig. 22). La potencia relativa de la banda theta en los cuatro estratos hipocampales sufrió modificaciones a través de los días de aprendizaje.

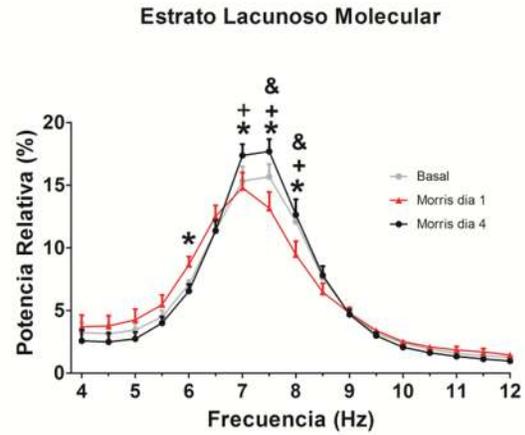
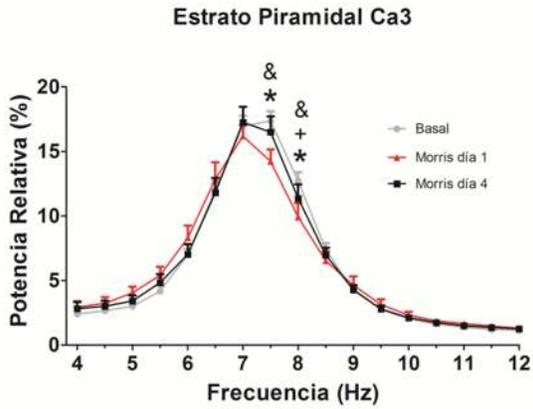
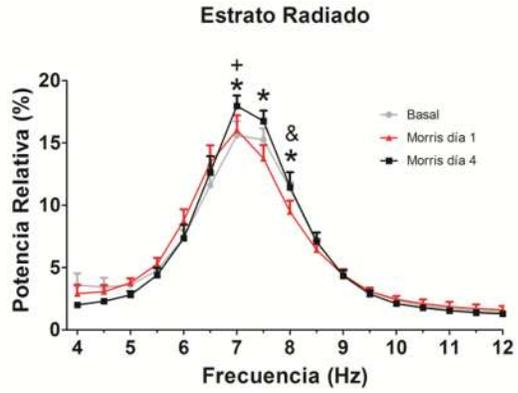
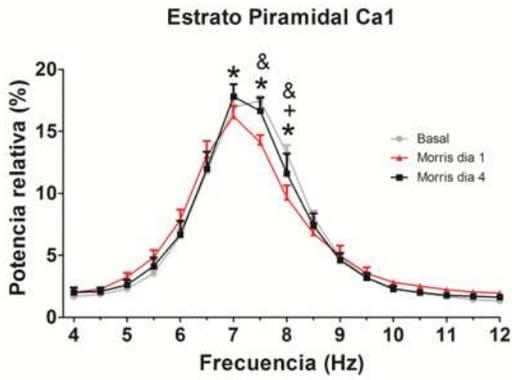
El análisis pos-hoc mostró modificaciones en la PR de las diferentes frecuencias de la banda theta a través de los días de aprendizaje; en el St. PirCA1, en el día uno de la tarea de aprendizaje las frecuencias rápidas (7.0-8.0 Hz) disminuyeron su PR en comparación con el día cuatro ( $p < 0.05$ ). Respecto a la condición basal, el día uno de la tarea de aprendizaje expresó una disminución en la PR de las frecuencias 7.5-8.0 Hz ( $p < 0.05$ ), así como también en el día cuatro se observó una disminución en la PR de la frecuencia 8.0 Hz ( $p < 0.05$ ). Lo cual demuestra una disminución en la PR de frecuencias rápidas en la fase de adquisición temprana de la tarea de aprendizaje con respecto a la condición basal y a la fase de aprendizaje tardío expresado en el día cuatro (Fig.22)

En el St. Radiado, el día uno de la tarea de aprendizaje las frecuencias rápidas (7.0-8.0 Hz) disminuyeron en PR en comparación con el día cuatro ( $p < 0.005$ ). Respecto a la condición basal, el día uno expresó una disminución en la PR en la frecuencia de 8.0 Hz ( $p < 0.005$ ), mientras que en el día cuatro un incremento en la PR en la frecuencia de 7.0 Hz fue observado ( $p < 0.005$ ). Los cambios en PR durante el aprendizaje son marcados como un predominio de frecuencias lentas

en el día uno y de frecuencias rápidas en el día cuatro respecto a la condición basal (Fig. 22).

En el St. PirCA3, el día uno se presentó una disminución de la PR en las frecuencias rápida de 7.5-8.0 Hz en comparación con el día cuatro ( $p < 0.005$ ). Respecto a la condición basal, el día uno de la tarea de aprendizaje mostro una disminución en la PR en las frecuencias 7.5-8.0 Hz ( $p < 0.005$ ) y una disminución en la PR en la frecuencia de 8.0 Hz durante el día cuatro ( $p < 0.005$ ) (Fig. 22).

El estrato Lacunoso molecular fue la región que expresó los cambios más notables; en el día uno de la tarea de aprendizaje un incremento en la PR en la frecuencia lenta de 6.0 Hz y una disminución en la PR en las frecuencias rápidas de 7.0-8.0 Hz ( $p < 0.005$ ) fueron expresados respecto al día cuatro. En los cambios con respecto a la condición basal se observó una disminución en la PR de las frecuencias de 7.5-8.0 Hz en el día uno, y un aumento en la PR en las frecuencias de 7.0-7.5 Hz ( $p < 0.005$ ) en el día cuatro de la tarea de aprendizaje (Fig. 22).



**Figura 22.** Distribución de la potencia relativa de la banda theta registrada en los estratos del hipocampo en la fase de sueño MOR durante cinco horas posterior a la ejecución de la tarea conductual en los días uno y cuatro de la tarea de aprendizaje y en la condición basal, (\*=  $p < 0.05$  Día uno vs día cuatro de aprendizaje), (& =  $p < 0.05$  día uno de aprendizaje vs Condición basal), (+ =  $p < 0.05$  día cuatro de aprendizaje vs Condición basal).

## **Potencia relativa de la actividad theta de sueño MOR en la condición de aprendizaje espacial correspondiente a la primera ventana temporal de sueño**

Con el objetivo de evaluar si los cambios observados en la PR se mantuvieron estables durante toda la ventana de sueño MOR, es decir durante las cinco horas de registro, tiempo en el cual se ha reportado que ocurre la consolidación de la memoria, el registro del sueño MOR expresado después de la ejecución de la tarea de aprendizaje fue dividido en tres ventanas temporales de 100 minutos para su análisis. Se observó que los cambios en la PR más prominentes se expresaron en la primer ventana temporal de sueño, para tales efectos sólo describimos el primer periodo de registro que corresponde al sueño MOR expresado en los primeros 100 min de registro posterior a la tarea de aprendizaje.

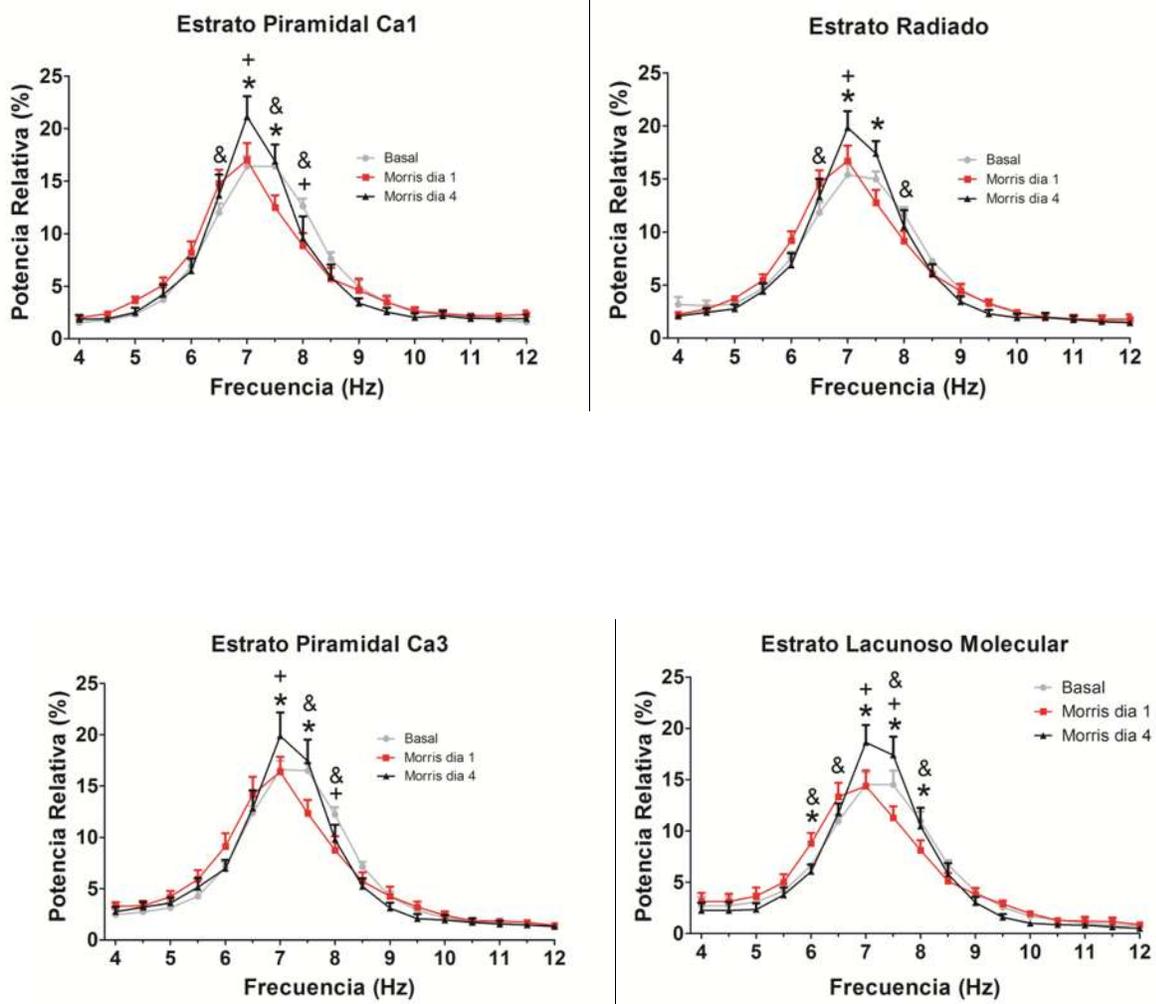
Se realizó ANOVA de medidas repetidas de dos vías (factores día x frecuencia) para cada estrato. Los resultados mostraron diferencias significativas en todos los estratos hipocampales; St. PirCA1 ( $F_{64,272} = 1.902$ ,  $p < 0.0002$ ), St. Radiado ( $F_{64,340} = 1.832$ ,  $p < 0.0003$ ), St PirCA3 ( $F_{64,340} = 2.579$ ,  $p < 0.0001$ ), y St lacunoso molecular ( $F_{64,340} = 3.321$ ,  $p < 0.0001$ ), (Fig. 23). La PR de la banda theta en los cuatro estratos hipocampales sufrió modificaciones a través de los días de aprendizaje.

El análisis pos-hoc mediante el método de Bonferroni, mostró cambios en la PR en las distintas frecuencias en la banda theta a través de los días de aprendizaje; en el St. PirCA1, en el día uno de la tarea de aprendizaje las frecuencias de 7.0-8.0 Hz disminuyeron su PR en comparación con el día cuatro ( $p < 0.05$ ). Respecto a la condición basal, en el día uno de la tarea de aprendizaje se expresó un aumento en la frecuencia lenta de 6.5 Hz ( $p < 0.05$ ) y una disminución en la PR de las frecuencias 7.5-8.0 Hz. Adicionalmente, un aumento en la PR en las frecuencias rápidas de 7.0 y 8.0 Hz ( $p < 0.05$ ) fue observado en el día cuatro respecto a la condición basal (Fig. 23).

La actividad oscilatoria del St. Radiado también disminuyó su PR en frecuencias rápidas 7.0-7.5 Hz, el día uno en comparación con el día cuatro ( $p < 0.005$ ). Respecto a la condición basal, el día uno de la tarea de aprendizaje expresó un incremento en la PR en la frecuencia baja de 6.5 Hz, aunado a una disminución en la frecuencia de 8.0 Hz ( $p < 0.005$ ), del mismo modo en el día cuatro se presentó un incremento en la PR de la frecuencia de 7.0 Hz ( $p < 0.005$ ) (Fig. 23).

En el St. PirCA3, el día uno se presentó una disminución de la PR en las frecuencias rápidas de 7.0-7.5 Hz en comparación con el día cuatro ( $p < 0.005$ ). Respecto a la condición basal, en el día uno de la tarea de aprendizaje la actividad theta mostró una disminución en la PR en las frecuencias 7.5-8.0 Hz ( $p < 0.005$ ). Mientras que en el día cuatro se expresó un aumento en la PR en la frecuencia de 7.0 Hz y una disminución en la PR en la frecuencia de 8.0 Hz ( $p < 0.005$ ) (Fig. 23).

Finalmente, la actividad theta del St. Lacunoso molecular expresó los cambios más prominentes a través de los días de la tarea de aprendizaje; en el día uno, un incremento en PR en la frecuencia de 6.0 Hz ( $p < 0.005$ ) a la par con una disminución en la PR en las frecuencias de 7.0-8.0 Hz fueron observados en comparación con el día cuatro. La comparación de actividad theta entre los días de aprendizaje respecto a la condición basal mostró un aumento en la frecuencia de 6.0 Hz en el día uno y una disminución en la PR de las frecuencias de 6.5, 7.5, 8.0 Hz en el día uno, y un incremento en las frecuencias rápidas de 7.0-7.5 Hz ( $p < 0.005$ ) en el día cuatro (Fig. 23).



**Figura 23.** Distribución de la potencia relativa de la banda theta registrada durante la fase de sueño MOR en los estratos del hipocampo en los días uno y cuatro de la tarea de aprendizaje y la condición basal, equivalentes a la primera ventana temporal de sueño (100 min posteriores al entrenamiento de la tarea). (\* =  $p < 0.05$ , Día uno vs día cuatro de aprendizaje), (& =  $p < 0.05$ , día uno de aprendizaje vs condición basal), (+ =  $p < 0.05$ , día cuatro de aprendizaje vs condición basal).

## **Coherencia de la banda theta registrada durante el sueño MOR en la condicion de aprendizaje espacial**

Para evaluar si el aprendizaje espacial genera modificaciones en el acoplamiento entre los circuitos del hipocampo durante el periodo de consolidación posterior a la tarea de aprendizaje, se analizó la coherencia de la actividad theta entre los estratos que presentan relaciones anatómicas entre ellos (St. PirCA1 vs St. Radiado, St. Radiado vs St.PirCA3 y St. PirCA1 vs St. PirCA3) durante el sueño MOR posterior a la evaluación conductual durante los cuatro días de la prueba de memoria. Desde el punto de vista práctico, la coherencia se interpreta como una forma de medir la semejanza entre dos señales. Funcionalmente la coherencia mide el grado de acoplamiento entre señales, de tal manera que un valor de coherencia alto (máximo “uno”) indica una fuerte sincronización entre regiones, mientras que un valor bajo (mínimo “cero”) indican una débil o nula sincronización entre regiones.

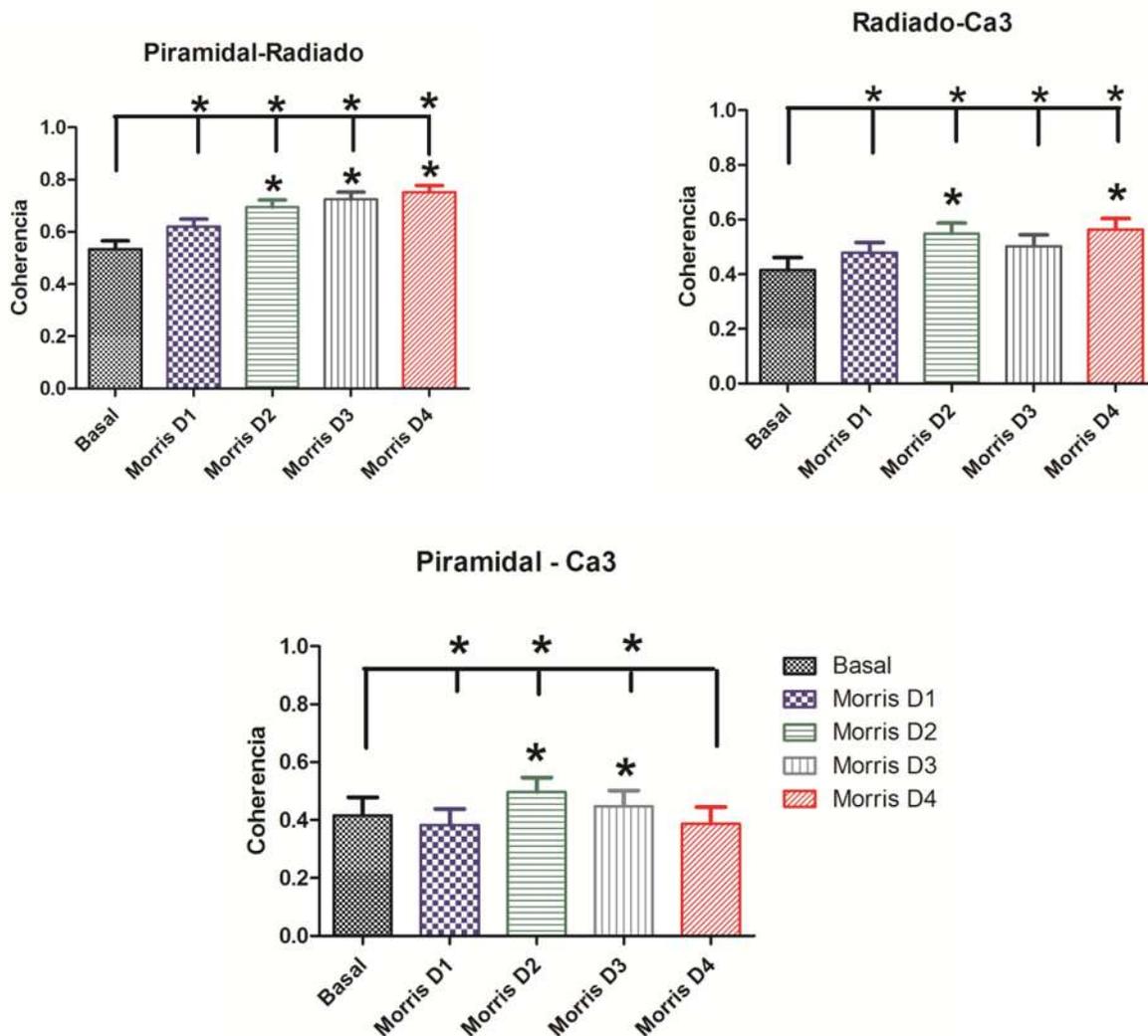
La comparación de valores de coherencia entre los diferentes estratos fue realizado a través de ANOVA de una vía para medidas repetidas (factor tiempo). El análisis mostró diferencias significativas en todas las comparaciones analizadas; St. PirCA1 vs St. Radiado ( $F_{4,64}= 417$ ,  $p<0.0001$ ), St. Radiado vs St.PirCA3 ( $F_{4,64}= 82.83$ ,  $p<0.0001$ ) y St. PirCA1 vs St. PirCA3 ( $F_{4,64}= 288.3$ ,  $p<0.0001$ ) (Fig. 24).

Se realizó un análisis *pos-hoc* para una descripción más detallada de los cambios en la coherencia de la banda theta a través de los días de aprendizaje en los diferentes estratos hipocampales, la comparación entre los St. PirCA1 vs St. Radiado mostró un aumento en la coherencia en los días uno, dos, tres y cuatro de la etapa de aprendizaje con respecto al día basal ( $p<0.005$ ). Los resultados también mostraron un aumento en la coherencia de la banda theta en los días dos, tres y cuatro con respecto al día uno de la tarea de aprendizaje en el laberinto acuático Morris ( $p<0.005$ ) (Fig. 24).

En la comparación efectuada en los St. Radiado vs St.PirCA3 también se observó aumento en la coherencia de la banda theta durante los días uno, dos, tres y cuatro

de la tarea de aprendizaje respecto a la condición basal ( $p < 0.005$ ), la comparación entre coherencia entre días de aprendizaje, el aumento significativo en coherencia se presentó en los días dos y cuatro ( $p < 0.005$ ) (Fig. 24).

Finalmente, el análisis de la comparación entre los St. PirCA1 vs St. PirCA3, mostró una disminución de la coherencia en el día uno de aprendizaje así como un aumento en los días dos y tres de aprendizaje respecto a la condición basal ( $p < 0.005$ ). La coherencia expresada en los días de aprendizaje mostró un incremento durante los días dos y tres respecto al día uno ( $p < 0.005$ ).



**Figura 24.** Distribución de las coherencias de la banda theta registrada durante la fase de sueño MOR a través de una tarea de aprendizaje.  $p < 0.0001$ .

## DISCUSION

Aunque dormimos alrededor de un tercio de nuestra vida, las funciones del sueño aún siguen siendo desconocidas. En este trabajo hemos sugerido que una de las funciones primarias de sueño es su participación en los procesos de memoria, especialmente en la consolidación de la memoria durante la fase de sueño MOR. Lo cual concuerda con evidencia que muestra que durante el sueño se lleva a cabo la reactivación de las redes neuronales que fueron activas durante la codificación de las nuevas experiencias codificadas durante la etapa previa de vigilia (Crick F G. 1983. Newman E. A, 1965. Gaarder K., 1966).

La codificación y la recuperación de la información son procesos que se producen principalmente durante la vigilia cuando el organismo tiene que hacer frente a una gran diversidad de factores estresantes. En contraste, la consolidación de la memoria recientemente adquirida se lleva a cabo preferentemente durante el sueño, cuando el desafío a estresores agudos es mínimo, por esta razón nosotros sugerimos que los procesos de consolidación se desplazan a la fase de sueño, principalmente a la etapa de sueño MOR.

En los últimos años, la opinión de que el sueño sirve para la consolidación de la memoria ha recibido un importante apoyo de un creciente número de estudios realizados en varias especies y en diferentes niveles de análisis, que comprende experimentos a niveles de organización conductuales, celulares y moleculares (Born *et al* 2006; Frank y Benington 2006; Joiner et al. 2006; Tononi y Cirelli 2006; Hennevin *et al.* 2007).

### Arquitectura global de sueño MOR

Con base en los resultados obtenidos en el análisis del sueño MOR, se observó una disminución en el tiempo total de sueño MOR, así como una reducción en el número de episodios de sueño MOR en el primer día de aprendizaje respecto a la

condición basal. Adicionalmente se observó que el tiempo total en sueño MOR fue gradualmente incrementando a través de los días de aprendizaje, nuestros resultados apoyan las ideas de varios autores que sugieren que el aprendizaje aumenta la cantidad de sueño MOR, lo cual precede a una mejora en el rendimiento durante el aprendizaje asociado con la adquisición de una tarea (Lucero, 1970; Hennevin *et al*, 1974; Fishbein *et al*, 1974; Smith *et al*, 1980; Portell-Cortes *et al*, 1989; Smith y Wong, 1991; Bramham *et al*, 1994; Smith y Rose, 1996) (Hennevin *et al*, 1995; Datta, 2000). En los seres humanos, el sueño MOR aumenta justo después de ensayos intensivos de aprendizaje (De Koninck, 1989; Mandai *et al*, 1989; Smith y Lapp, 1991; Smith, 1995). El aprendizaje puede prolongar o bien intensificar el sueño MOR (Smith *et al*, 1980; Dujardin *et al*, 1990; Guerrien *et al*, 1989; Mandai *et al*, 1989). En conjunto, esta evidencia sugiere que el aumento en la cantidad de sueño MOR es un fenómeno generalizado que puede jugar un papel importante en el proceso de consolidación de la memoria.

En cuanto a la duración promedio de los eventos de sueño MOR, los resultados no mostraron ninguna diferencia, puesto que los periodos de sueño MOR se mantuvieron con la misma duración a través de los días de aprendizaje. Probablemente se necesita un número mayor de sujetos para poder apreciar cambios en la duración de los episodios de sueño MOR.

El enfoque del sueño MOR como la etapa del sueño que apoya a la memoria también ha sido criticado por varios estudios que revelan incrementos selectivos en el sueño no-MOR después de la exposición del animal a entornos novedosos o enriquecidos (Fishbein W; 1974), Gutwein BM, 1980; Hanlon EC 200; Hellman K, 2007; Hennevin E, 1974; Kiyono S, 1981; Smith C, 1985; Smith C, 1977; Tagney J, 1973). El sueño no-MOR se ha llegado a proponer como un factor que podría explicar las deficiencias de memoria inducidas por la privación del sueño MOR (Rideout BE, 1979).

Además, en algunos casos el sueño MOR posterior al aprendizaje disminuyó (Marshall L, 2004; Sanford LD, 2003; Smith C, 1996), y esto podría ir acompañado de un aumento simultáneo en el sueño no-MOR (Magloire V, 2009), en los

presentes resultados no fue posible determinar si existió un aumento de sueño no-MOR ya que el objetivo principal de este trabajo se centro en los cambios provocados en la arquitectura del sueño MOR a través del aprendizaje. En comparación con los resultados en ratas, la evidencia de un papel del sueño MOR en el procesamiento de la memoria en los seres humanos es sorprendentemente inconsistente.

### **Actividad theta de sueño MOR en la condición de aprendizaje espacial.**

Con base en los resultados obtenidos en los registros polisomnográficos durante la etapa de consolidación, se encontró una disminución en la PR de la banda theta de alta frecuencia (específicamente en las frecuencias de 7.5-8 Hz) durante el primer día de entrenamiento en la prueba de memoria con respecto a su condición basal; se ha considerado al día uno como una etapa de codificación de la información en la cual el animal forma un mapa de navegación espacial que le permita resolver la tarea de aprendizaje de manera eficiente. Por el contrario, durante el día cuatro de aprendizaje; día que ha sido considerado como una etapa de recuperación de la información, se puede observar un aumento significativo de la PR de la banda theta de alta frecuencia (7-8 Hz) con respecto al día uno de aprendizaje.

Actualmente es aceptado que un aumento en el poder de la PR de la banda theta es requerido durante la expresión de procesos cognoscitivos como: 1) la codificación exitosa de información en tareas de memoria (Berry & Thompson, 1978; Seager, Johnson, Chabot, Asaka y Berry, 2002; Nokia, Penttonen, Korhonen & Wikgren, 2008), 2) durante la navegación espacial (Vanderwolf, 1969; Buzsaki, 2005; Olvera-Cortez, Guevara & Gonzales-Burgos, 2004) y 3) durante el almacenamiento y recuerdo de elementos o ítems en tareas de memoria de trabajo (Givens, 1996; Jensen & Colgin, 2007).

Resultados similares han sido observados anteriormente en trabajos realizados en nuestro laboratorio durante la ejecución de tareas de aprendizaje (Olvera-Cortés,

Cervantes & González-Burgos, 2002; Olvera-Cortés, Guevara & González-Burgos, 2004), por el contrario, en el presente trabajo los cambios en la PR se expresaron durante el sueño, específicamente durante la fase de sueño MOR, etapa en la cual se ha sugerido se lleva a cabo la reactivación de los trazos de memoria aprendidos durante la etapa de la vigilia.

### **Actividad theta de sueño MOR en la condición de aprendizaje espacial correspondiente a la primera ventana temporal de sueño**

Como se mencionó anteriormente el análisis de la actividad eléctrica registrada durante el sueño fue dividido en tres ventanas temporales, con base a los resultados, únicamente se mostró el análisis de la primera ventana temporal de sueño, ya que es precisamente en las primeras horas después del aprendizaje donde se encontraron los cambios más prominentes en cuanto a la PR se refiere, esto podría sugerir que las primeras horas después de realizar una tarea de aprendizaje son de suma importancia para el proceso de consolidación de la memoria.

Nuestros resultados apoyan a los trabajos realizados por Pavlides y Winson (1989) quienes fueron los primeros en mostrar una mayor activación de las neuronas del hipocampo en el sueño MOR que habían estado activas en la vigilia previa. Adicionalmente otros estudios han demostrado que las células de lugar disparan de una manera ordenada y demuestran más activación durante la actividad irregular de gran amplitud (LIA) en el hipocampo fuera de línea, que se produce durante el sueño no-MOR y durante periodos de reposo en la etapa de vigilia (Wilson y McNaughton, 1994). Esta misma repetición estructurada de las secuencias que se ejecutan durante la etapa de vigilia se observaron también durante el sueño MOR (Louie y Wilson, 2001).

## **Coherencia de la banda theta registrada durante el sueño MOR en la condicion de aprendizaje espacial**

Las oscilaciones neuronales surgen de las fluctuaciones sincrónicas en las corrientes iónicas y ayudan a coordinar la actividad de las redes neuronales mediante la modulación de la plasticidad sináptica (Buzsaki y Draguhn, 2004; Buzsaki *et al*, 2012). Las oscilaciones en frecuencias theta (6-12 Hz) y gamma (30-90 Hz) han sido ampliamente estudiados en el hipocampo de la rata, y estos estudios han proporcionado información sobre cómo estas oscilaciones pueden coordinar procesos celulares relacionados con la memoria (Buzsaki, 2002, 2005; Csicsvaret al. 2003; Harris *et al*, 2003; Colgin y Moser, 2010; Jutras y Buffalo, 2010; Fell y Axmacher, 2011).

Los resultados obtenidos en el presente trabajo mostraron cambios en la coherencia de la banda theta registrada durante el sueño MOR en los días de entrenamiento en la tarea de aprendizaje, expresando un aumento en el acoplamiento entre el estrato piramidal y el estrato radiado. El aumento en la coherencia se mantuvo en gran medida durante los cuatro días de aprendizaje, pudimos observar que este acoplamiento fue aumentando a través de los días de entrenamiento de la tarea, un incremento en el acoplamiento también fue observado entre el estrato radiado y piramidal de CA3, aunque en esta asociación, los valores de coherencia variaron a través de los días de aprendizaje. Del mismo modo también se observó este incremento en acoplamiento entre el estrato piramidal de CA1 y piramidal de CA3, que de acuerdo a evidencia anatómica sabemos que el estrato piramidal de CA1 recibe una proyección directa desde CA3 a través del estrato radiado (Amaral y Witter, 1989; Cooper y Lowenstein, 2002).

Estos resultados son consistentes con la idea de que la dinámica de los ritmos pueden reflejar los cambios en la coordinación de la actividad dentro de los circuitos locales durante el procesamiento de la información. Los cambios en la

actividad oscilatoria del hipocampo (estructura cerebral importante para la función de memoria) se producen a medida que se procesa la información que recibe de múltiples regiones del cerebro (Buzsaki y Draguhn, 2004; Cannon *et al*, 2014; Colgin *et al*, 2009; Schomburg, *et al*, 2014; Lee *et al*, 1994; Igarashi *et al*, 2014).

Los cambios en frecuencia y coherencia pueden reflejar procesamiento de información relacionado a la consolidación de la memoria ya que se ha reportado que la interrupción de ritmo theta hipocampal durante este mismo periodo (sueño MOR) produce deficiencias en el recuerdo de la información recientemente aprendida. Esto fue demostrado en un estudio en el que la interrupción del ritmo theta hipocampal durante la fase de sueño MOR produjo deficiencias en pruebas de memoria, lo cual sugiere que estas oscilaciones son críticas para la consolidación de la memoria durante la fase de sueño MOR (R. Boyce *et al*, 2016).

El patrón de actividad theta del sueño MOR, en comparación con la exploración durante la vigilia, mejora su procesamiento fuera de línea en el giro dentado y las regiones CA3 del hipocampo, y promueve la sincronización de ráfagas cortas con la región CA1 con el objetivo de promover la comunicación neocortical (Montgomery S.M., Sirota A., Buzsaki G., 2008). Aunado a esto, diversas observaciones sugieren la participación de las oscilaciones theta en los procesos de plasticidad sináptica (Buzsáki, 2002).

La fase del ritmo theta controla el disparo de las neuronas del hipocampo durante la vigilia y sueño MOR, por lo que cambios en la frecuencia theta durante MOR, como los encontrados en el presente trabajo, pueden modificar la actividad de las neuronas del hipocampo para favorecer el proceso de la consolidación de las memorias recientemente adquiridas, ya que se ha sugerido que las oscilaciones en rangos theta (6-12 Hz) y gamma (30-90 Hz) coordinan procesos celulares relacionados con la memoria (Buzsaki, 2002, 2005 ; Csicsvari *et al.*, 2003;. Harris *et al*, 2003; Colgin y Moser, 2010; Jutras y Buffalo, 2010; Fell y Axmacher, 2011). Por ejemplo, las interacciones entre los ritmos theta y gamma favorecen distintos aspectos de la función hipocampal. En particular en la región CA1, diferentes frecuencias de la actividad gamma permiten el acoplamiento selectivo entre CA3 o

corteza entorrinal de manera independientes, lo cual se ha sugerido que facilita la codificación o la recuperación (Colgin y Moser, 2010).

Finalmente, un aumento en el acoplamiento entre CA3 y CA1 encontrado en el presente trabajo, también ha sido descrito durante la ejecución exitosa de tareas de memoria (Montgomery y Buzsáki, 2007), lo cual puede implicar que un incremento en la comunicación de estas dos regiones facilite el proceso de recuerdo de información aprendida. Además de que la interrupción en la comunicación afecta drásticamente la ejecución de tareas de memoria (Brun *et al.*, 2002; Nakazawa *et al.*, 2002; Florian y Rouillet, 2004; rolls y Kesner, 2006). Por lo cual el incremento en la coherencia encontrado en la etapa de sueño durante los últimos días de entrenamiento coincide con la etapa en la cual los animales ya habían aprendido la tarea por lo cual es posible sugerir que puede contribuir al recuerdo de información que ya ha sido aprendida.

## CONCLUSIÓN

De acuerdo a la evidencia encontrada en este trabajo queda demostrado que la consolidación de la memoria es afectada si se interrumpe el sueño MOR y que los patrones de actividad oscilatoria del hipocampo que ocurren durante el sueño o estados de vigilia que preceden la experiencia de aprendizaje de tareas de memoria que juegan un papel crítico en la consolidación de la memoria. En el presente trabajo se encontró que el patrón de actividad theta generado durante la fase de sueño MOR puede estar contribuyendo al proceso de consolidación de las nuevas memorias. Por lo tanto se sugiere que debido a los cambios observados en la frecuencia y/o acoplamiento de los generadores theta hipocampales estos pueden sustentar el proceso de consolidación de las memorias recientemente adquiridas. Adicionalmente, también se encontró un aumento en el tiempo de sueño MOR después del aprendizaje, así como también en el número de episodios de sueño MOR, es decir que el sueño MOR juega un papel crítico en la ventana temporal de sueño requerido para la consolidación de la memoria, ya que estos cambios generaron modificaciones en la arquitectura global del sueño MOR.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Addis DR, y col. (2004). Characterizing spatial and temporal features of autobiographical memory retrieval networks: a partial least squares approach. *Neuroimage*; 23: 1460-71.

Amaral DG, Witter MP (1995) Hippocampal formation. In: *The rat nervous system* (Paxinos G, ed), pp 443–490. New York: Academic.

Amaral DG and Witter MP (1989). The three-dimensional organization of the hippocampal formation: a review of anatomical data. *Neuroscience* 31: 571-591.

Ashby FG, Turner BO, Horvitz JC (2010). Cortical and basal ganglia contributions to habit learning and automaticity. *Trends Cognitive Science*; 14:208-15.

Astur RS, Taylor LB, Mamelak AN, Philpott L, Sutherland RJ. (2005). Humans with hippocampus damage display severe spatial memory impairments in a virtual Morris water task. *Behavioral Brain Research*; 132: 77-84.

Bartesaghi R y Gessi T (2004) Parallel activation of field CA2 and dentate gyrus by synaptically elicited perforant path volleys. *Hippocampus* 14:948-963.

Bartsch T, Schönfeld R, Müller FJ, Alfke K, Leplow B, Aldenhoff J, Koch JM. (2010). Focal lesions of human hippocampal CA1 neurons in transient global amnesia impair place memory. *Science*; 328: 1412-15.

Bastuji H, Garcia-Larrea L (1999) Evoked potentials as a tool for the investigation of human sleep. *Sleep Medical Review* 3:23– 45.

Bear MF, Connors BW, Paradiso MA, (1998). *Sistemas de la memoria*. In Bear MF, Connors BW, Paradiso MA. *Neurociencia explorando el cerebro*. Barcelona: Masson-Williams & Wilkins;514-45.

Beaulieu I, Godbout R (2000). Spatial learning on the Morris Water Maze Test after a short-term paradoxical sleep deprivation in the rat. *Brain. Cognition* 43:27–31.

Belluscio MA, Mizudeki K, Schmidt R, Kempter R, Buzsáki G (2012). Crossfrequency phase-phase coupling between theta and gamma oscillations in the hippocampus. *The Journal of Neuroscience*; 32(2):423-435.

Berger RJ, Phillips NH (1995). Energy conservation and sleep. *Behavioral Brain Research* 69: 65–73.

Bloch V, Hennevin E, Leconte P (1977). Interaction between post-trial reticular stimulation and subsequent paradoxical sleep in memory consolidation processes. In: *Neurobiology of Sleep and Memory*, edited by Drucker-Colin MJ. New York: Academic, p. 255–272.

Borbely AA, Tobler I (1989) Endogenous sleep-promoting substances and sleep regulation. *Physiology Review* 69:605– 670.

Born J, Gais S (2000). REM sleep deprivation: the wrong paradigm leading to wrong conclusions. *Behavioral Brain Science* 23: 912–913.

Braak E, Griffing K, Arai K, Bohl J, Bratzke H and Braak H (1999). Neuropathology of Alzheimer's disease: what is new since A.Alzheimer?.*Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 249: 14-22.

Brown LK, (2012). Can sleep deprivation studies explain why human adults sleep? *Current Opinon Pulm Medical* 18: 541–545.

Burgess N, Maguire EA, O'Keefe J, (2002). The human hippocampus and spatial and episodic memory. *Neuron*; 35:625–41.

Buzsáki G, Moser EI, (2013). Memory, navigation and theta rhythm in the hippocampal-entorhinal system. *Natural Neuroscience*; 16:130–38.

Buzsáki G (2002). Theta oscillations in the hippocampus. *Neuron*; 33(3):325-340.

Buzsaki G (1989) Two-stage model of memory trace formation: a role for “noisy” brain states. *Neuroscience* 31:551–570.

Carpenter, G. A., & Grossberg, S. (1988). The ART of adaptive pattern recognition by a self-organizing neural network. *Computer*, 21, 77–88

Carpenter MB, (1994). *Neuroanatomía Fundamentos*. Argentina: Editorial Médica Panamericana.

Cassel JC, Duconseille E, Jeltsch H and Will B (1997) The fimbria-fornix/cingular bundle pathways: a review of neurochemical and behavioural approaches using lesions and transplantation techniques. *Program Neurobiology*51: 663-716.

Cherubini E, Gaiarsa JL and Ben-Ari Y (1991) GABA: an excitatory transmitter in early postnatal life. *Trends Neuroscience*14: 515-519.

Chicurel ME, Harris KM, (1999). Three-dimensional analysis of the structure and composition of CA3 branched dendritic spines and their synaptic relationships with mossy fiber boutons in the rat hippocampus. *Journal Company Neurol*; 325: 169-82.

Chu N, Bloom FE (1973) Norepinephrine-containing neurons: changes in spontaneous discharge patterns during sleeping and waking. *Science* 179:908 – 910.

Churchwell JC, Morris AM, Musso ND, Kesner RP,(2010). Prefrontal and hippocampal contributions to encoding and retrieval of spatial memory. *Neurobiology Learning and Memory*; 93: 415-21.

Cirelli C, Tononi G (2008). Is sleep essential? *PLoS Biology* 6: e216.

Cooper EC and Lowenstein DH (2002). Hippocampus. En *Encyclopedia of Life Sciences* (www. els. net).

Cornwell BR, Johnson LL, Holroyd T, Carver FW, Grillon C, (2008). Human hippocampal and parahippocampal theta during goal-directed spatial navigation predicts performance on a virtual Morris water maze. *Journal Neuroscience*; 28:5983-90.

Crick F, Mitchison G (1983) The function of dream sleep. *Nature* 304:111–114.

Datta S, Mavanji V, Ulloor J, Patterson EH (2004). Activation of phasic pontine-wave generator prevents rapid eye movement sleep deprivation-induced learning impairment in the rat: a mechanism for sleep-dependent plasticity. *Journal Neuroscience* 24: 1416–1427.

Deller T (1998). The anatomical organization of the rat fascia dentata: new aspects of laminar organization as revealed by anterograde tracing with Phaseolus vulgaris-Leucoagglutinin (PHAL). *Anatomy Embryology (Berl)* 197: 89-103.

Destrade C, Hennevin E, Leconte P, Soumireu-Mourat B (1978). Relationship between paradoxical sleep and time-dependent improvement of performance in BALB/c mice. *Neuroscience* 7: 239–244, 1978.

Deutsch JA, Deutsch D, (1963). Attention: some theoretical considerations. *Psychology Review*; 70: 80-90.

Diekelmann, S., & Born, J. (2007). One memory, two ways to consolidate? *Nature Neuroscience*, 10, 1085–1086.

De Quervain D. J, Roozendaal B, McGaugh J. L, *Nature* 394, 787 (1998).

Dodge AM, Beatty WW (1980). Sleep deprivation does not affect spatial memory in rats. *Psychonomic Social* 16: 408–409.

Dudai, Y. (2004). The neurobiology of consolidations, or, how stable is the engram? *Annual Review of Psychology*, 55, 51–86.

Duvarci S. Pare D. Amygdala microcircuits controlling learned fear. *Neuron* 2014; 482: 966–80.

Ebbinghaus, H. (1885). U ¨ber das Ged ¨chtnis: Untersuchungen zur experimentellen Psychologie. Leipzig: Duncker & Humblot.

Eichenbaum H, Cohen NJ (2014). Can we reconcile the declarative memory and spatial navigation views on hippocampal function? *Neuron*; 83: 764-70.

Eichenbaum H (1997). Neuroscience: how does the brain organize memories? *Science*; 77(5324): 330-2.

Eichenbaum H (2011). *The cognitive neuroscience of memory: an introduction*. Oxford University Press.

Eichenbaum H (1997). To Cortex: Thanks for the Memories. *Neuron*; 19: 481-4.

Fernandez-Espejo E (2007). Neurobiologia basica de la formacion hipocampica. *Review Neurol.* 24(131): 779-784.

Fishbein W (2000). The case against memory consolidation in REM sleep: Balderdash! *Behavioral Brain Science* 23: 867–876.

Fogel S, Jacob J, Smith C (2002). The role of sleep spindles in simple motor percedural learning. *Sleep* 25: A279–A80.

Freund TF and Buzsaki G (1996). Interneurons of the Hippocampus. *Hippocampus.* 6: 347-470.

Frotscher M, Seress L, Schwerdtfeger WK, Buhl E (1991). The mossy cells of the fascia dentate: a comparative study of their fine structure and synaptic connections in rodents and primates. *Journal Compañy Neurol*;312:145–63.

Giovanello KS, Verfaillie M, Keane MM (2003). Disproportionate deficit in associative recognition relative to item recognition in global amnesia. *Cognitive Affect Behavioral Neuroscience*; 3: 186-94.

Gonzalez M. M. del C, Debilly G, Valatx J. L, Jouvet M, (1995).*Neuroscience. Lett.* 202, 5.

Gottesmann C (2001) The golden age of rapid eye movement sleep discoveries. *Lucretius–1964. Program Neurobiology* 65:211–287.

Grastyan E, Karmos G (1961) A study of a possible “dreaming” mechanism in the cat. *Acta Physiology Academic Science Hung* 20:41–50.

Gulyas AI, Toth K, McBain CJ and Freund TF (1998). Stratum radiatum giant cells: a type of principal cell in the rat hippocampus. *Euro Journal Neuroscience*10: 3813-3822.

Hales JB, Ocampo AC, Broadbent NJ, Clark RE (2015). Hippocampal Infusion of Zeta Inhibitory Peptide Impairs Recent, but Not Remote, Recognition Memory in Rats. *Neural Plasticity*; 501, 847136.

Hales JB, y col. Medial entorhinal cortex lesions only partially disrupt hippocampal place cells and hippocampus-dependent place memory. *Cell Rep* 2014; 9: 893-01.  
Harry, GJ and d'Hellencourt CL (2003). Dentate Gyrus: Alterations that occur with hippocampal injury. *NeuroToxicology*24: 342-356.

Hars B, Hennevin E (1983). Reminder abolishes impairment of learning induced by paradoxical sleep retardation. *Physiology Behavioral* 30: 831–836.

Hartley T, Lever C, Burgess N, O'Keefe J (2014). Space in the brain: how the hippocampal formation supports spatial cognition. *Philosophic Trans R Social Lond Be Biology Science*; 369: 20120510.

Hawkins J, Phillips N, Moore JD, Gilliland MA, Dunbar S, Hicks RA (1980). Emotionality and REMD: a rat swimming model. *Physiology Behavioral* 25: 167–171.

Hennevin E, Leconte P, Bloch V (1974). Paradoxical sleep increase triggered by learning, extinction and relearning of a response based on a positive reinforcement. *BrainResearch* 70: 43–54.

Hennevin E, Leconte P (1977). Study of the relations between paradoxical sleep and learning processes. *Physiology Behavioral* 18: 307–319.

Hernández-Peon R, Scherrer H, Jouvet M (1956). Modification of electric activity in cochlear nucleus during attention in unanesthetized cats. *Science*;24;123(3191):331-2.

Hillyard SA, Vogel EK, and Luck SJ (1998). Sensory gain control (amplification) as a mechanism of selective attention: electrophysiological and neuroimaging evidence. *Philosophic Trans R. Social London Be*; 353:1257-70.

Horne JA, McGrath MJ (1984). The consolidation hypothesis for REM sleep function: stress and other confounding factors—a review. *Biology Psychology* 18: 165–184.

Ishikawa A, Kanayama Y, Matsumura H, Tsuchimochi H, Ishida Y, Nakamura S (2006). Selective rapid eye movement sleep deprivation impairs the maintenance of long term potentiation in the rat hippocampus. *Euro Journal neuroscience*.

Ishizuka N, Weber J, Amaral DG. Organization of intrahippocampal projections originating from CA3 pyramidal cells in the rat. *Journal Company Neurol* 1990; 295:580–23.*Neuroscience* 24: 243–248.

Horne J. A, McGrath M. J, (1984). *Biology Psychology*. 18,165.

Horne J. A, (2000). *Neuroscience Biobehavioral. Review*. 24, 777.

Jouvet M (1999) The paradox of sleep: the story of dreaming. Cambridge, MA: MIT.

Kandel ER, Kupfermann I, Iversen S, (2001). Aprendizaje y memoria. In: Kandel RE, Schwartz HJ, Jessell MT, eds. Principios de neurociencia. Madrid: McGraw-Hill Interamericana;1227- 46.

Kandel ER, Schwartz JH, (1982). Molecular biology of learning: modulation of transmitter release. Science; Oct 29; 218: 433-43.

Karni A, Tanne D, B. Rubenstein S, Askenasy J. J, Sagi D (1994), Science 265, 679.

Khalaf-Nazzal R, Francis F, (2013). Hippocampal development - old and new findings. Neuroscience; 248:225-42.

Kivisaari SL, Probst A, Taylor KI, (2013). The Perirhinal, Entorhinal, and Parahippocampal Cortices and Hippocampus: An Overview of Functional Anatomy and Protocol for Their Segmentation in MR Images In fMRI. Springer Berlin Heidelberg. p. 239-67.

Killgore WDS (2010). Effects of sleep deprivation on cognition. Program Brain Research 185:105–129.

Kim SM, Ganguli S, Frank LM, (2012). Spatial information outflow from the hippocampal circuit: distributed spatial coding and phase precession in the subiculum. Journal Neuroscience; 32: 11539-58.

Klimesch W, Doppelmayr M, Yonelinas A, Kroll NEA., Lazzara M, Röhms D, Gruber W (2001). Theta synchronization during episodic retrieval: neural correlates of conscious awareness. Cognitive Brain Research; 12(1):33–38.

Kleitman N, (1963). Sleep and Wakefulness (Univ. of Chicago Press, Chicago).

Knutson KL, Spiegel IK, Penev P, van Cauter E (2007). The metabolic consequences of sleep deprivation. Sleep Medical Review 11: 163–178.

Laurberg S, Sorensen KE, (1981). Associational and commissural collaterals of neurons in the hippocampal formation (hilus fasciae dentate and subfield CA3. Brain Research; 212:287–00.

Laursen B, y col, (2014). Impaired hippocampal acetylcholine release parallels spatial memory deficits in Tg2576 mice subjected to basal forebrain cholinergic degeneration. Brain Research; 1543: 253-62.

Lavenex P and Amaral DG (2000) Hippocampal–neocortical interaction: a hierarchy of associativity. Hippocampus 10: 420–430.

Lavenex P, Banta LP, Amaral DG, (2007). Postnatal development of the primate hippocampal formation. *Neuroscience*; 29:179–19.

Lavenex P, Suzuki WA, Amaral DG (2004). Perirhinal and parahippocampal cortices of the macaque monkey: Intrinsic projections and interconnections. *Journal Company Neurol.*; 472:371-94.

Lecas JC (1976). Changes in paradoxical sleep accompanying instrumental learning in the cat. *Neuroscience Lett* 3: 349–355.

Leconte P, Hennevin E, Bloch V (1973). An analysis of the effects of a learning task and its level of acquisition on subsequent paradoxical sleep. *Brain Research*: 367–379.

Leconte P, Hennevin E (1973). Temporal characteristics of the augmentation of paradoxical sleep following learning in the rat. *Physiology Behavioral* 677–686.

Leconte P, Hennevin E (1981). Post-learning paradoxical sleep, reticular activation and noradrenergic activity. *Physiology Behavioral* 26: 587–594.

Leff P, Romo-Parra H, Medécigo M, Gutiérrez R, Anton B (2001). Synaptic plasticity: understanding the neurobiological mechanisms of learning and memory. Part I. *Salud Mental*; 24(2):43-9.

Legault G, Smith CT, Beninger RJ (2004). Scopolamine during the paradoxical sleep window impairs radial arm maze learning in rats. *Pharmacology Biochemist Behavioral* 79: 715–721.

Lissak K, Karmos G, Grastyan E (1962) Apeculiar dreamlike stage of sleep in the cat. *Act Nerv Super (Praha)* 4:347–352.

Lucero MA (1970). Lengthening of REM sleep duration consecutive to learning in the rat. *Brain Research* 20: 319–322.

Marr, D. (1971). Simple memory: a theory for archicortex. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 262, 23–81

McClelland, J. L., McNaughton, B. L., & O'Reilly, R. C. (1995). Why there are complementary learning systems in the hippocampus and neocortex: insights from the successes and failures of connectionist models of learning and memory. *Psychological Review*, 102, 419–457.

McGinty DJ, Harper RM (1976) Dorsal raphe neurons: depression of firing during sleep in cats. *Brain Research* 101:569 –575.

McGrath MJ, Cohen DB, (1978). REM sleep facilitation of adaptive waking behavior: a review of the literature. *Psychological Bull* 85: 24–57.

Morden B, Conner R, Mitchell G, Dement W, Levine S (1968). *Physiology Behavioral* -3, 425.

Milner B, Squire LR, and Kandel ER (1998). *Cognitive neuroscience and the study of memory. Neuron*; 20: 445-68.

McGrath M. J, Cohen D. B, (1978). *Psychological. Bull.* 85, 24.

Morgado I, (2005). *Psicobiología del aprendizaje y la memoria: fundamentos y avances recientes. Review NeuroI*; 40(5):289-97.

Morris RG. (1984). *Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. Journal Neuroscience Methods*; 11: 47-60.

Morris RG, y col, (2006). *Memory reconsolidation: sensitivity of spatial memory to inhibition of protein synthesis in dorsal hippocampus during encoding and retrieval. Neuron*; 50, 479– 89.

Moser E, Moser MB, Andersen P, (1993). *Spatial learning impairment parallels the magnitude of dorsal hippocampal lesions, but is hardly present following ventral lesions. Journal Neuroscience*; 13: 3916-25.

Moser MB, Rowland DC, Moser EI, (2015). *Place cells, grid cells, and memory. Cold Spring Harb Perspect Medical*; 7: a 021808.

Muzur A (2005) *Toward an integrative theory of sleep and dreaming. Journal Theoretical Biology* 233:103–118.

Nadel, L., Samsonovich, A., Ryan, L., & Moscovitch, M. (2000). *Multiple trace theory of human memory: computational, neuroimaging, and neuropsychological results. Hippocampus*, 10, 352–368.

O Keefe JO, Nadel L, (1978). *The hippocampus as a cognitive map. Oxford: Clarendon Press.*

O'Keefe JA, Dostrovski J, (1971). *The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. Brain Research* 34: 171-5.

Olvera-Cortés, E., Cervantes, M., & González-Burgos I. (2002). *Place-learning, but not cue-learning training, modifies the hippocampal theta rhythm in rats. Brain Research Bulletin*, 58, 261–270.

O'Mara SM, Commins S, Anderson M and Gigg J (2001). *The subiculum: a review of form, physiology and function. Program Neurobiology* 64: 129-155.

Oswald I (1980). Sleep as restorative process: human clues. *Program Brain Research* 53: 279–288.

Pearlman C (1979). REM sleep and information processing: evidence from animal studies. *Neuroscience Biobehavioral Review* 3: 57–68.

Poe GR, Walsh CM, Bjorness TE (2010). Cognitive neuroscience of sleep. *Program Brain Research* 185: 1–19.

Portell-Cortés I, Martí-Nicolovius M, Segura-Torres P, Morgado-Bernal I (1989). Correlations between paradoxical sleep and shuttle-box conditioning in rats. *Behavioral Neuroscience* 103: 984–990.

Portell Cortes I, Morgado Bernall (1988). Learning and subsequent paradoxical sleep. *Arch Neurobiology* 51: 305–315.

Pujol GX. (2006). Paisajes en el cerebro. <http://www.elpais.com/articulo/futuro/Paisajes/cerebro/elpepusocfut/2006> El Pais.es [03.05.2006].

Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, Katz LC, La Mantia AS, Mc Namara JO (2001). Memoria Humana. In: Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, Katz LC, LaMantia AS, Mc Namara JO. *Invitación a la neurociencia*. Argentina: Editorial Médica Panamericana; 597-611.

Quervain DJ (2006). Glucocorticoid-induced inhibition of memory retrieval: implications for posttraumatic stress disorder. *Ann NY Academic Science* 1071: 216–220.

Quiroga RQ, (2012). Concept cells: the building blocks of declarative memory functions. *Natural Review Neuroscience*; 13: 587-97.

Rampin C, Cespuglio R, Chastrette N, Jouvet M, (1991). *Neuroscience. Lett.* 126, 113.

Rechtschaffen A, Bergmann BM (1995). Sleep deprivation in the rat by the disk-over-water method. *Behavioral Brain Research* 69: 55–63.

Rechtschaffen A, Siegel J. M, (2000). In *Principles of Neuroscience*, E. R. Kandel, J. H. Schwartz, T. M. Jessel, Eds. (McGraw-Hill, New York), pp. 936–937.

Stickgold R, James L, Hobson J. A, (2000). *Nature Neuroscience.* 3, 1237.

Ruch S, Markes O, Duss SB, Oppliger D, Reber TP, Koenig T, Mathis J, Roth C, Henke K (2012). Sleep stage II contributes to the consolidation of declarative memories. *Neuropsychologia*.

Sakai K, El Mansari M, Lin JS, Zhang JG, Vanni-Mercier G (1990). The posterior hypothalamus in the regulation of wakefulness and paradoxical sleep. In: *The diencephalon and sleep* (Marini G, ed), pp 171–198. New York: Raven.

Sharon T, Moscovitch M, Gilboa A (2011). Rapid neocortical acquisition of long-term arbitrary associations independent of the hippocampus. *Proc Natl Academic Science*; 108: 1146-51.

Siegel JM (2001) The REM sleep-memory consolidation hypothesis. *Science* 294:1058 –1063.

Simons JS and Spiers HJ (2003). Prefrontal and medial temporal lobe interactions in long-term memory. *Nature Review Neuroscience*. 4: 637-648

Smith C (1985). Sleep states and learning: a review of the animal literature. *Neuroscience Biobehavioral Rev* 9: 157–168.

Smith C. (1996). Sleep stages, memory processes and synaptic plasticity. *Behavioral Brain Research*: 49–56.

Smith C. (2011). Sleep states and memory processing in rodents: a review. *Sleep Medical Clinics* 6: 59–70.

Smith C (1993). REM sleep and learning: some recent findings. In: *The Functions of Dreaming*, edited by Moffitt A, Kramer M, Hoffmann R. Albany, NY: State University of New York Press, p. 341–361

Smith C (1995). Sleep states and memory processes. *Behavioral Brain Research* 69: 137–145.

Smith C (2001). Sleep states and memory processes in humans: procedural versus declarative memory systems. *Sleep Medical Review* 5: 491–506.

Smith C, Conway J, Rose G (1993). Evidence for a N-methyl-D-aspartate receptor dependent window for memory of a spatial learning task. *Sleep Research* 22.

Smith C, Lowe D, Smith MJ (1977). Increases in paradoxical and slow sleep during acquisition of an appetitive task in rats. *Physiological Psychological* 5: 364–372.

Smith C, Kitahama K, Valatx JL, Jouvet M (1974). Increased paradoxical sleep in mice during acquisition of a shock avoidance task. *Brain Research* 77: 221–230.

Smith C, Wong PT, (1991). Paradoxical sleep increases predict successful learning in a complex operant task. *Behavioral Neuroscience* 105: 282–288.

Smith C, Young J, Young W. (1980). Prolonged increases in paradoxical sleep during and after avoidance-task acquisition. *Sleep* 3: 67–81.

Squire LR, Zola-Morgan S (1991). Conscious and Unconscious Memory Systems. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 2;7(3).

Squire LR, Zola-Morgan S (1991). The cognitive neuroscience of human memory since HM. *Annual Review Neuroscience*; 34: 259–88.

Squire LR and Zola-Morgan S (1991). The medial temporal lobe memory system. *Science* 253:1380–1386.

Squire LR and Zola-Morgan S (1996). Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems. *Proc Nature Academic Science USA* 93:13515–13522.

Stanfield BB and Cowan WM (1988). The Development of the Hippocampal Region. *En Cerebral Cortex. Vol. 7: Development and Maturation of Cerebral Cortex*. Ed. Peters y Jones. Pags. 91-131.

Steriade M (2000) Corticothalamic resonance, states of vigilance and mentation. *Neuroscience* 101:243–276.

Stone SS, y col. (2011). Stimulation of entorhinal cortex promotes adult neurogenesis and facilitates spatial memory. *J Neuroscience*; 31: 13469-84.

Strange BA, Witter MP, Lein ES, Moser EI, (2014). Functional organization of the hippocampal longitudinal axis. *Nature Review Neuroscience*; 15: 655-69.

Suzuki W, Amaral DG (2003). Perirhinal and parahippocampal cortices of the macaque monkey: cytoarchitectonic and chemoarchitectonic organization. *Journal Company Neurol*; 463:67–91.

Sweatt JD (2004). Hippocampal function in cognition. *Psychopharmacology* 174: 99-110.

Thompson RF (1986). The neurobiology of learning and memory. *Science*; 233(4767): 941-47.

Thompson RF (2005). In search of memory traces. *Annual Review Psychological*; 56:1-23.

Timmann D, y col, (2010). The human cerebellum contributes to motor, emotional and cognitive associative learning. A review. *Cerebral and Cortex.*; 46: 845-57.

Turner DA, Buhl EH, Hailer NP and Nitsch R (1998). Morphological features of the entorhinal hippocampal connection *Program Neurobiology*55: 537-562.

Ullman MT (2004). Contributions of memory circuits to language: The declarative/procedural model. *Cognition*; 92: 231-70.

Vandekerckhove M, Cluydts R (2010). The emotional brain and sleep: an intimate relationship. *Sleep Medical Review* 14: 219–226.

Van Hulzen Z. J. M, A. Coenen M. L, (1982). *Physiological. Behavioral.* 29, 581.

Vázquez GH (2005). *Neuroanatomía de la Memoria. Diagnóstico en neurociencias.*  
<http://www.neurodiagnostico.com.ar.info@diagnostico.com.ar> Octubre.  
[12.02.2006].

Vertes RP (2004) Memory consolidation in sleep; dream or reality. *Neuron* 44:135–148.

Vimont-Vicary P, Jouvet-Mounier D, Delorme F, (1966). *Electro -encephalographic. Clinical. Neurophysiological.*20, 439.

Walker MP, Stickgold R (2004) Sleep-dependent learning and memory consolidation. *Neuron* 44:121–133.

Webb WB (1988). An objective behavioral model of sleep. *Sleep* 11: 488–496.

Witter MP, Amaral DG (1991). Entorhinal cortex of the monkey: V projections to the dentate gyrus, hippocampus, and subicular complex. *Journal Company Neurology;* 307:437-59.

Witter MP, Wouterlood FG, Naber PA, Van Haeften T (2000). Anatomical organization of the parahippocampal-hippocampal network. *Ann NY Academic Science Jun;* 911:1-24.

Zanto TP, Rubens MT, Thangavel A, Gazzaley A (2011). Causal role of the prefrontal cortex in top-down modulation of visual processing and working memory. *Nature Neuroscience;* 14: 656-61.

Zhang SJ, y col (2013). Functional connectivity of the entorhinal–hippocampal space circuit. *Philos Trans R Soc London Be BiologyScience Dec 23;* 369(1635):20120516.