

TESIS DE MAGISTER

MAGÍSTER EN CIENCIAS BIOLÓGICAS MENCIÓN NEUROCIENCIA

FACULTAD DE CIENCIAS, UNIVERSIDAD DE VALPARAÍSO

LA RESTRICCIÓN DE MOVIMIENTO DETERIORA EL ACOPLAMIENTO ENTRE LOS SHARP-WAVE RIPPLES HIPOCAMPALES Y LAS OSCILACIONES GAMMA DE LA CORTEZA PREFRONTAL MEDIAL DURANTE LA RECUPERACIÓN DE LA MEMORIA ESPACIAL.

Disciplina Principal	Neurofisiología cognitiva
Disciplina Secundaria	Electrofisiología

ALUMNO

Stevenson APELLIDO PATERNO	Flores APELLIDO MATERNO	Robert Ángel NOMBRES	17.559.952-5 RUT
Instituto de FISIOLÓGIA INSTITUTO O ESCUELA			

TUTOR RESPONSABLE

Negrón APELLIDO PATERNO	Oyarzo APELLIDO MATERNO	Sergio Ignacio NOMBRES	13.592.702-3 RUT
Instituto de FISIOLÓGIA INSTITUTO O ESCUELA			

Evaluador 1:

Nombre: Alexies Dagnino Subiabre
Institución: Universidad de Valparaíso
Correo electrónico: alexies.dagnino@uv.cl

Evaluador 2:

Nombre: Paola Andrea Haeger Soto
Institución: Universidad Católica del Norte
Correo electrónico: phaeger@ucn.cl

Evaluador 3:

Nombre: Agustín Martínez Carrasco
Institución: Universidad de Valparaíso
Correo electrónico: agustin.martinez@uv.cl

Comentado [IN1]: NOTAS:

Mejorar la redacción: mas conciso, con menos "cantinfleo" para explicar algún proceso o mecanismo.

Ser mas preciso en los párrafos; que cada párrafo se dedique a una idea central y que no sea una mezcla de informacion sin hilar. Que el mensaje de cada párrafo sea claro.

CONSEJO: Cada seccion tene varios párrafos, y cada párrafo comunica una unica idea. Por lo tanto, antes de escribir una seccion, se debe saber qué comunicará esa sección, y qué idea irá en cada párrafo. Dado que cada párrafo comunica un idea, esta es la frase final del párrafo (la conclusion). Además, cada parrafo tiene una intro y un desarrollo: en el desarrollo va la informacion que da soporte a la idea central del párrafo, y la intro es una frase que plantea hacia donde va a ir el párrafo, el contexto.

En los RESULTADOS solo van resultados, no se mezclan con los métodos. Es un error a lo largo de toda la sección.

Los metodos y resultados se describen en tiempo pasado.

En las leyendas de figura va la informacion necesaria para entender las figuras, nada mas, nada menos.

SUGIERO CAMBIAR EL ORDEN DE LOS RESULTADOS

1. Conducta
2. Detección de SWR y comparación de SWR entre grupos y etapas (pre, trial, post)
3. Comparación de poder espectral de banda gamma prefrontal entre grupos.
4. ERP SWR-gamma durante vigilia pasiva (pre, trial, post)
5. ERP SWR-gamma durante la navegación

1. RESUMEN

El hipocampo (HPC) y la corteza prefrontal (PFC) participan en la formación, consolidación y recuperación de la memoria espacial de referencia (MER). Se postula que la sincronización entre patrones de actividad neural entre estas dos estructuras, como los *sharp-wave ripples* (SWRs) hipocámpales con las oscilaciones *gamma* de la mPFC durante la vigilia pasiva estarían soportando la formación y recuperación de la MER. Se sugiere que la vivencia de eventos amenazantes por periodos prolongados afecta diversas funciones cognitivas, sin embargo, se desconoce si estos eventos afectan la formación y recuperación de la MER y los procesos neurofisiológicos involucrados. Por lo tanto, postulamos que la restricción de movimiento afectaría la recuperación de la memoria espacial de referencia y la sincronización *SWR-gamma* durante la vigilia pasiva. Para evaluar esta posibilidad, ratones macho adultos fueron sujetos a restricción de movimiento. Posteriormente a animales sometidos y no sometidos a restricción de movimiento se les hizo registro de la actividad cerebral durante la adquisición y recuperación de memoria espacial en el laberinto Barnes. Nuestros resultados mostraron una menor recuperación de la memoria espacial remota en animales del grupo de restricción comparados con la condición control. A nivel electrofisiológico, encontramos una disminución del acoplamiento entre los SWRs hipocámpales y las oscilaciones *gamma* en la mPFC en el grupo restringido durante la recuperación remota de la memoria espacial de referencia⁹⁺. Estos resultados proporcionan información relevante sobre la relación entre los aspectos neurofisiológicos afectados por la restricción de movimiento y las implicaciones cognitivas resultantes.

PALABRAS CLAVES: *Restricción de movimiento; Acoplamiento; Sharp-Wave Ripples; Hipocampo; Oscilaciones Gamma; Corteza Prefrontal Medial; Memoria Espacial*

Comentado [IN2]: Incorporar en el resumen lo de vigilia pasiva

2. INTRODUCCIÓN

2.1 FORMACIÓN DE MEMORIA A LARGO PLAZO.

Los animales, para guiar su comportamiento, deben ser capaces de almacenar información. Este proceso implica la creación de representaciones de nuevas experiencias, que se consolidan para poder ser evocadas posteriormente. La memoria, entendida como la capacidad de almacenar y recuperar información, es fundamental en este contexto (Squire, 2004). Para que esta información inicialmente temporal y vulnerable a interferencias se vuelva estable y duradera, debe pasar por un proceso de consolidación (Diekelmann & Born, 2010). Estos recuerdos, una vez consolidados, pueden almacenarse durante largos periodos de tiempo, ser recuperados para orientar conductas y someterse a re-consolidación, integrando nueva información con la ya almacenada previamente (Cousins & Fernández, 2019; Tang & Jadhav, 2019; Squire et al., 2015; Diekelmann & Born, 2010). Sin embargo, los mecanismos cerebrales que intervienen en el proceso de formación de la memoria aún no se comprenden completamente.

Uno de los mecanismos que se ha propuesto para la formación de memoria es el “*modelo de dos etapas*” (Diekelmann & Born, 2010; Buzsáki, 1989). Este mecanismo propone que durante los estados de vigilia activa (estado *on-line*), en los cuales se aplican conscientemente los sentidos a estímulos externos para recopilar información, esta se representa y almacena temporalmente en regiones cerebrales vinculadas al comportamiento activo. Posteriormente, durante los estados inactivos (estado *off-line*), como la vigilia pasiva y el sueño de ondas lentas (SWS; por su sigla en inglés) (Joo & Frank, 2018; Roumis & Frank, 2015; Jadhav et al., 2012), la información previamente representada y almacenada se estabiliza mediante la interacción e intercambio de información entre áreas cerebrales (Frankland & Bontempi, 2005). Durante la vigilia pasiva, los eventos se reproducen de manera menos precisa y pueden ser modulados por la atención y otros procesos conscientes, facilitando la integración de nueva información con las memorias existentes (Mednick, 2003; Walker, 2005). Este estado es crucial ya que permite una revisión y fortalecimiento inicial de las memorias, creando una base sobre la cual se consolidará más información posteriormente. En contraste, durante el SWS, la reactivación de las memorias es más robusta y específica, permitiendo la consolidación de trazas de memoria más estables y menos susceptibles a interferencias externas (Carr et al., 2011; Diekelmann & Born, 2010). Así, según este modelo, ambos estados (*on-line* y *off-line*) participan de manera colaborativa y secuencial en el proceso de formación de memorias a largo plazo.

Gran parte de la evidencia que da soporte al “modelo de dos etapas” ha provenido de la navegación espacial (Ekstrom et al., 2018; Epstein et al., 2017). Esta función cognitiva, vital para la supervivencia animal, implica ajustar patrones de navegación mediante la adquisición multisensorial de claves externas e internas en un ambiente constante para encontrar rutas hacia objetivos (Ekstrom et al., 2018; Wolbers & Wiener, 2014). Al encontrarse con claves espaciales, el animal puede estimar la dirección y distancia, creando un mapa cognitivo (Tolman, 1948) que integra la posición y relación espacial entre claves externas (Ekstrom et al., 2018; O’Keefe & Nadel, 1978). A medida que el animal explora y se expone al mismo entorno, actualiza y fortalece su mapa cognitivo para establecer una Memoria Espacial de Referencia (MER), que corresponde a una memoria de largo plazo que contiene la ubicación de elementos relevantes y las rutas para acceder a ellos (Prior et al., 1997). Durante la vigilia pasiva, el cerebro reproduce y revisa de manera continua la información espacial adquirida, facilitando la actualización y refuerzo del mapa cognitivo (Mednick, 2003; Walker, 2005; Dewar et al., 2012; Craig et al., 2016; Wamsley et al., 2010). Esta revisión continua permite la integración de nuevas experiencias con las memorias ya existentes, fortaleciendo así la MER y optimizando la navegación espacial (Diekelmann & Born, 2010; Buzsáki, 1989). Por lo tanto, la navegación espacial y la formación de la MER están relacionadas con la adquisición y procesamiento de información espacial.

El “modelo de dos etapas” parece estar soportado principalmente por dos estructuras cerebrales: el hipocampo y la corteza prefrontal (Frankland & Bontempi, 2005; Buzsáki, 1989).

2.2.1 El Hipocampo (HPC)

El hipocampo (HPC), una estructura ubicada en el lóbulo temporal medial de mamíferos desempeña un papel fundamental en la navegación espacial, así como en diversas formas de aprendizaje y memoria (Sigurdsson & Duvarci, 2016). Contribuye a la formación de memorias a largo plazo, tanto contextuales como espaciales, relacionadas con lugares y eventos (Godsil et al., 2013), proporcionando apoyo al aprendizaje mediante la vinculación con diversas áreas corticales (Euston et al., 2012). Su conectividad interna, comúnmente descrita mediante el modelo de “bucle trisináptico”, implica la entrada de información desde la corteza entorrinal (EC) hacia el giro dentado (DG) por la vía perforante (sinapsis 1). Posteriormente, desde el DG, las neuronas granulares proyectan hacia la región CA3 mediante la vía de fibras musgosas (sinapsis 2), y finalmente, las neuronas piramidales de la región CA3 se conectan con la región CA1 vía colaterales de Schaffer (sinapsis 3). CA1 finalmente se proyecta de regreso a la EC, completando el bucle (Knierim, 2015). La importancia de esta conectividad interna radica en cómo el procesamiento y la consolidación de la información espacial y contextual en el HPC contribuyen a la formación de memorias estables y duraderas. La transmisión de información a través del bucle trisináptico permite una integración y fortalecimiento de las señales sensoriales, facilitando la creación de mapas cognitivos detallados (Nakazawa et al., 2004). Esta organización interna no solo es crucial para el almacenamiento temporal de la memoria (Rudy, 2009), sino también para la transferencia de información hacia la neocorteza durante los períodos de vigilia pasiva y SWS, procesos fundamentales para la consolidación de la memoria a largo plazo (Frankland & Bontempi, 2005).

Estudios de *single unit recording in vivo* han proporcionado evidencia de que en el HPC se codifica información espacial a través de neuronas que representan la posición del animal, conocidas como “*place cells*”, típicamente encontradas en las áreas CA1 y CA3 (O’Keefe & Dostrovsky, 1971). Estas neuronas disparan en espacios específicos llamados Campos de Lugar (“*Place fields*”) (Cobar et al., 2017; O’Keefe & Dostrovsky, 1971). Dicha información contribuye a la formación de un “mapa cognitivo” (Tolman, 1948), en donde los animales representan internamente el espacio que los rodea, lo cual utilizan para navegar y orientarse en su entorno. Durante las fases activas de exploración, estas células de lugar permiten al animal crear y actualizar su mapa cognitivo, mientras que, durante la vigilia pasiva y el SWS, estas células se reactivan, consolidando las rutas y la información espacial adquirida (Wilson & McNaughton, 1994). Por lo tanto, esta capacidad del HPC para codificar y consolidar información espacial a través de las células de lugar es fundamental para la navegación eficiente y la formación de memorias espaciales a largo plazo.

2.2.2 La corteza prefrontal medial (mPFC)

La PFC es la corteza de asociación del lóbulo frontal, ubicada en la porción anterior del cerebro de los mamíferos (Fuster, 2001). La identificación de la PFC se ha basado en sus conexiones con el núcleo talámico dorsomedial, un criterio utilizado en diversas especies (Fuster, 1997). En roedores, esta conexión es recibida por la PFC medial (mPFC), que se divide en cuatro subregiones neuroanatómicas: área precentral medial, corteza cingulada anterior (ACC), corteza prelímbica (PL) y corteza infralímbica (IL) (Heidbreder & Groenewegen, 2003). Cada subregión prefrontal está interconectada y se comunica interhemisféricamente con su contraparte (Xu et al., 2019; Fuster, 2001).

La mPFC se postula como una estructura clave en la implementación del comportamiento dirigido a objetivos, facilitando el control cognitivo adaptativo necesario para la navegación espacial (Poucet & Hok, 2017; Eichenbaum, 2017; Eichenbaum, 2015; Preston & Eichenbaum, 2013; Funahashi, 2001). La lesión o inhibición de la mPFC en roedores afecta la implementación de

estrategias de navegación, el cambio de estrategia y la generalización de la memoria durante el aprendizaje espacial (Granon & Poucet, 1995; Ragozzino et al., 1999; Ethier et al., 2001; Rich & Shapiro, 2007; Richards et al., 2014). Además, los patrones de actividad en la mPFC que representan atributos cognitivos relevantes emergen durante el aprendizaje, lo que sugiere su papel en la planificación y toma de decisiones en contextos espaciales (Baeg et al., 2003; Baeg et al., 2007; Rich & Shapiro, 2007; Benchenane et al., 2010; Malagón-Vina et al., 2018; Negrón-Oyarzo et al., 2018). Por tanto, se sugiere que la mPFC es crucial para la memoria espacial, proporcionando soporte para la planificación y ejecución de estrategias de navegación eficientes y la recuperación de memorias espaciales (Euston et al., 2012; Kesner & Churchwell, 2011).

La mPFC no solo facilita la organización y actualización de la memoria espacial a través de su interacción con el HPC, sino que también juega un rol esencial en la toma de decisiones basada en la memoria espacial durante la exploración y navegación (Eichenbaum, 2017; Preston & Eichenbaum, 2013). Por tanto, la mPFC es fundamental para la adquisición y recuperación de la memoria espacial, ya que ayuda a integrar la información contextual necesaria para la navegación y permite la adaptación flexible a nuevos entornos (Eichenbaum, 2017; Preston & Eichenbaum, 2013; Kesner & Churchwell, 2011).

2.2.3 Conectividad anatómica entre HPC y mPFC.

La conexión entre el HPC y el mPFC soporta los procesos de formación de memoria (Wang & Kai, 2006). Se ha propuesto que la transferencia de información entre estas estructuras sería clave para la formación de la MER (Diekelmann & Born, 2010), de tal manera que su interacción parece ser fundamental para la consolidación de la memoria (Squire et al, 2015).

La comunicación anatómica entre el HPC y la mPFC es principalmente unilateral (Verwer et al., 1997; Wang & Cai, 2006). Se han sugerido tres vías de conexión: Directas monosinápticas, indirectas tálamo-corticales e indirectas vía corticales (Eichenbaum, 2017). Las proyecciones monosinápticas unidireccionales directas se han descrito desde el área CA1 del HPC y el subículo proximal hacia distintas capas del mPFC (Hoover & Vertes, 2007; Jay et al., 1989), incluyendo proyecciones desde CA1 dorsal al mPFC (Hans et al., 2023; Binder et al., 2019). La vía tálamo-cortical incluye conexiones bidireccionales entre el *núcleo reuniens* del tálamo y ambas regiones (Vertes, 2002), mientras que la vía cortical conecta directamente la mPFC con la corteza peririnal y entorrinal lateral, las cuales, a su vez, tienen conexiones bidireccionales fuertes con el HPC (Agster & Burwell, 2009). La interrupción de estas vías de comunicación podría resultar en déficits significativos en la memoria espacial y contextual, así como en la capacidad de ejecutar comportamientos dirigidos a objetivos y la toma de decisiones (Sigurdsson & Duvarci, 2016; Preston & Eichenbaum, 2013). Por lo tanto, esta conectividad es crucial para la integración de la memoria y la coordinación de las funciones cognitivas.

Además, durante la vigilia pasiva y el SWS, se ha observado una sincronización de las actividades entre el HPC y la mPFC, lo que facilita la consolidación de la memoria (Diekelmann & Born, 2010; Euston et al., 2012). Durante estos estados, las reactivaciones de las trazas de memoria en el HPC permiten su transferencia y estabilización con la mPFC (Frankland & Bontempi, 2005; Girardeau et al., 2009). Por lo tanto, la conectividad entre el HPC y la mPFC es funcional y clave para los procesos de formación de la MER.

2.3 PATRONES DE ACTIVIDAD NEURONAL REFERENTES AL “MODELO DE DOS ESTADOS” Y SU RELACIÓN CON LA FORMACIÓN DE LA MEMORIA ESPACIAL A LARGO PLAZO.

Los patrones de actividad neural se refieren a las configuraciones específicas y coordinadas de la actividad eléctrica en un grupo de neuronas en el cerebro (Roth & Ding, 2020). Estos patrones se reflejan en el Potencial de Campo Local (*Local Field Potential*, LFP), que representa cambios en

el voltaje extracelular debido a la actividad coordinada de corrientes transmembrana en una red neuronal, registradas con electrodos intracerebrales (Roth & Ding, 2020; Jensen et al., 2019; Pevzner et al., 2016). Las variaciones en la amplitud y frecuencia del voltaje extracelular están vinculadas a las características sincrónicas, estructurales y eléctricas específicas de la red neural registrada (Buzsáki et al., 2012). Por lo tanto, la importancia de estudiar la actividad eléctrica cerebral radica en su capacidad para proporcionar información detallada sobre la comunicación entre distintas áreas cerebrales, lo que es crucial para entender los mecanismos subyacentes a diversas funciones cognitivas y comportamentales (Buzsáki & Koch, 2012).

Distintos patrones de actividad neural en el HPC y la mPFC han sido sugeridos como mecanismos que apoyan la formación de la MER. Se plantea que la sincronización de la actividad eléctrica entre áreas cerebrales respalda el intercambio e integración de información (Schlichting & Preston, 2015; Fries, 2015). Esta sincronización, conocida como conectividad funcional, involucra patrones oscilatorios y de disparo de neuronas, también denominadas "*spikes*" (Bowyer, 2016; Friston, 2011). Por ejemplo, durante la formación de la memoria espacial, las oscilaciones *theta* (6-12Hz) en la mPFC se sincronizan con el HPC y la corteza entorrinal (Siapas et al., 2005; Hyman et al., 2005; Jones y Wilson, 2005; Sirota et al., 2008; Kaplan et al., 2014; Kunz et al., 2019; Chen et al., 2021). De igual manera, la oscilación *theta* prefrontal coordina el disparo neural local, representando eventos cognitivos (Benchenane et al., 2010; Kim et al., 2011; Negrón-Oyarzo et al., 2018). Esto sugiere que la conectividad mediante la sincronización neural soportaría procesos cognitivos como la memoria espacial.

Tanto durante la vigilia pasiva como durante el sueño de ondas lentas, emergen los "*Sharp Wave Ripples*" (SWRs, 120-250Hz) en el HPC (Buzsáki, 2015; Buzsáki et al., 1992; Colgin, 2016; Girardeau & Lopes-Dos-Santos, 2021; Tomar & McHugh, 2022). Durante la vigilia pasiva, las oscilaciones de 4Hz (2-5Hz) también se observan en el HPC y se acoplan con los SWRs (de Lima & Belchior, 2023; Schultheiss et al., 2020; Watrous & Ekstrom, 2013). Además, se ha observado que los SWRs se acoplan a la actividad *gamma* en la mPFC durante estos períodos de vigilia pasiva (Karalis & Sirota, 2022). Esto sugiere que diferentes patrones oscilatorios, que emergen de manera diferencial en los estados "*On-line*" y "*Off-line*", facilitan la sincronización entre el HPC y la mPFC. En ese sentido, los SWRs se han estudiado como un evento oscilatorio que podría apoyar la estabilización de la memoria a largo plazo.

2.4 SHARP WAVE RIPPLES COMO UN EVENTO OSCILATORIO QUE SOPORTA LA CONSOLIDACIÓN DE LA MEMORIA

Los SWR se originan a partir de la interacción de diversas poblaciones neuronales en el HPC. El origen de los SWR comienza con una descarga sincrónica de las neuronas piramidales del área CA3, lo cual genera las ondas agudas ("*Sharp-waves*") la que activan alternadamente a neuronas piramidales e interneuronas del área CA1, generando los eventos "*Ripples*" de aproximadamente 100ms de duración. Su actividad combinada da como resultado oscilaciones de alta frecuencia y la formación del complejo SW-R (Buzsáki, 2015; Girardeau et al., 2014; Cutsuridis, & Taxis, 2013). El componente inhibitorio es clave para la formación, inicio y regulación del SWRs. Las neuronas Axo-Axónicas (AACs) silencian la red para prepararla, las Células Bistratificadas (BSCs) controlan la frecuencia de disparo de las neuronas piramidales (PCs) de CA1, las células de cesta (BCs; *basket cells*) contribuyen a sincronizar la actividad de las PCs en la frecuencia de la ondulación y pueden influir en la temporización precisa de la actividad unitaria las PCs, y las Células *Oriens Lacunosum-Moleculare* (OLMs) pueden tener un papel en la regulación de la influencia de las entradas entorrinales (Schlinghoff et al., 2014; Cutsuridis & Taxis, 2013). Así, estas interacciones complejas entre neuronas excitatorias e inhibitorias contribuyen a la generación y modulación de los eventos SWR en el HPC.

Comentado [IN3]: Esto lo pondría como parte 2.4

Comentado [IN4]: Aquí esta bien: la conclusion final del párrafo se condice y es coherente con lo que menciona en el cuerpo del párrafo.

Los SWRs hipocampales se han relacionado con la activación de células de lugar durante los estados "off-line" (Peyrache et al., 2009). Esta activación ocurre de manera comprimida durante un SWR, poco después del comportamiento exploratorio (Tomar & McHugh, 2022; Tomar et al., 2021; Girardeau, 2014). Según la hipótesis del "modelo de dos etapas", la información representada durante los estados "on-line" en el HPC se reactiva durante los estados "off-line" en las redes CA3-CA1 mediante los SWRs (Girardeau et al., 2009; Peyrache et al., 2009; Frankland & Bontempi, 2005). Así, los SWRs durante la vigilia pasiva contribuirían a la consolidación de la memoria al permitir la reactivación y el fortalecimiento de las representaciones de memoria adquiridas durante la exploración activa (Buzsáki, 2015; Girardeau & Lopes-Dos-Santos, 2021).

Se ha observado que la interferencia de los SWRs hipocampales deteriora el rendimiento en tareas que implican la memoria espacial. Por ejemplo, se observó que la interrupción eléctrica de los SWRs hipocampales durante el sueño deterioró la memoria espacial en un laberinto radial (Girardeau et al., 2009). Del mismo modo, la interrupción de los SWRs hipocampales a través de pulsos eléctricos posterior a una tarea de alternancia espacial (en un laberinto W) durante la vigilia pasiva también resultó en un déficit de su aprendizaje (Jadhav et al., 2012). Resultado similar se obtuvo a través de la interrupción optogenética de SWRs durante la vigilia pasiva (Roux et al., 2017). En conjunto, estos resultados sugieren que los SWRs hipocampales que emergen durante la vigilia pasiva participan en la consolidación de la memoria.

Los SWRs hipocampales facilitan la transferencia de información para la consolidación de la memoria a través de su sincronización con la corteza prefrontal medial (mPFC) (Yu & Frank, 2020; Tang et al., 2017; Jadhav et al., 2016). Esta sincronización se ha observado tanto durante el SWS como durante la vigilia pasiva. Por ejemplo, se ha observado que los SWRs reclutan el disparo de neuronas en la mPFC (Karalis & Sirota, 2022; Oyanedel et al., 2020; Binder et al., 2019; Tang & Jadhav, 2019; Peyrache et al., 2009). Durante estos estados, los SWRs hipocampales también se acoplan con la actividad *gamma rápida* (*high gamma*, 60-140 Hz) en la mPFC, mediado por el ritmo respiratorio (Karalis & Sirota, 2022). Específicamente, durante la vigilia pasiva, se ha observado una sincronización entre los SWRs y las oscilaciones *gamma rápida* en la corteza prefrontal (Jadhav et al., 2012; Logothetis et al., 2012; Euston et al., 2007). Este acoplamiento sugiere una coordinación entre el HPC y la mPFC, proporcionando un mecanismo para la consolidación de la memoria. La sincronización de los SWRs con las oscilaciones *gamma* prefrontales durante la vigilia pasiva y el sueño subraya la importancia de estos estados "off-line" en la estabilización y fortalecimiento de las representaciones de memoria adquiridas durante la exploración activa (Buzsáki, 2015; Girardeau & Lopes-Dos-Santos, 2021).

Las propiedades de los SWRs así como su incidencia cambian según el contexto, la complejidad de la tarea o la longitud del laberinto, manifestándose con mayor incidencia, amplitud y duración en contextos novedosos o de alta exigencia (Paterno et al., 2021; Binder et al., 2019; Fernández-Ruiz et al., 2019). En base a estos hallazgos, se propone que las propiedades de los SWRs podrían informar sobre el contexto o ambiente del animal

2.5 EL CEREBRO COMO BLANCO DE AMENAZAS: EFECTOS SOBRE EL HPC Y LA mPFC.

El cerebro desempeña un papel central en respuesta a los eventos amenazantes, dado que, regula las respuestas conductuales y fisiológicas subsiguientes (McEwen, 2006). Así mismo, el cerebro se vuelve susceptible a mediadores químicos liberados durante la amenaza (McEwen & Akil, 2020; McEwen, 2015; Conrad, 2010). Los glucocorticoides, junto con neurotransmisores de aminoácidos excitadores, afectan la arquitectura neuronal al inducir retracción o expansión dendrítica y disminuir o aumentar la densidad sináptica, dependiendo de la región cerebral (McEwen et al., 2015). Notablemente, el HPC y la mPFC, exhiben una alta sensibilidad a eventos amenazantes (Tomar & McHugh, 2022; McEwen, 2006; McEwen & Sapolsky, 1995).

Comentado [IN5]: Esto lo pondría como parte 2.4

En el HPC, el sistema DG-CA3 muestra sensibilidad y vulnerabilidad ante eventos amenazantes. El estrés crónico suprime la neurogénesis y la supervivencia celular en el DG, disminuye el volumen del HPC y provoca atrofia de las células piramidales en las áreas CA1 y CA3 (Yang, 2015; McLaughlin et al., 2007; Duman & Monteggia, 2006; McEwen, 2006; Abidin et al., 2004; McKittrick et al., 2000; McEwen, 1999). Asimismo, se observó que la restricción de movimiento en roedores provocó retracción y simplificación de las dendritas apicales de las neuronas piramidales de CA3, junto con una disminución en la conectividad sináptica entre DG y CA3 (McLaughlin et al., 2007; Abidin et al., 2004; McKittrick et al., 2000; McEwen, 1999; Magariños et al., 1997). Dichas alteraciones se observan luego de 21 días de restricción de movimiento, pero no a 7 o 14 días (McLaughlin et al., 2007). La disminución en la conectividad entre DG y CA3 implica una menor capacidad para la potenciación a largo plazo (LTP), un proceso crucial para la formación de memorias (Vazdarjanova & Guzowski, 2004). Esto sugiere que la exposición prolongada a amenazas puede inducir cambios estructurales y funcionales en el HPC, comprometiendo así la función hipocampal en la formación y recuperación de memorias (Gould et al., 1998; Kim & Diamond, 2002).

En la mPFC, se ha observado que los eventos amenazantes persistentes en el tiempo producen una disminución de la ramificación dendrítica basilar y apical en neuronas piramidales de la capa V, tanto en longitud como en número, así como una reducción de la actividad neuronal, degeneración de células gliales y disminución de las espinas dendríticas (Xu et al., 2019; Yang, 2015; Dias-Ferreira et al., 2009; Radley et al., 2008; Radley et al., 2004). La restricción de movimiento prolongada también ha demostrado afectar la morfología de las neuronas piramidales en la capa II/III de la corteza cingulada anterior (ACC) y la corteza prefrontal (PL), con una significativa reducción en la longitud total (20%) y el número de ramas (17%) de las dendritas apicales (Radley et al., 2004). Asimismo, la restricción de movimiento reducida disminuyó la transmisión y plasticidad sináptica en las capas superiores de la mPFC (Negrón-Oyarzo et al., 2015; 2014). Dado que estos cambios se observan después de solo 7 días de restricción, se sugiere que la mPFC es más susceptible a las alteraciones asociadas a amenazas en comparación con el HPC.

Existe un consenso general en torno a que la exposición recurrente a situaciones amenazantes impacta de manera significativa en la cognición y la memoria (Tomar & McHugh, 2022; McEwen & Aki, 2020). Los déficits generados por estos eventos pueden tener efectos tales como la afectación en la referencia espacial, deterioro de la memoria de trabajo, la selección de estrategias y la flexibilidad conductual. Estas se asocian directamente con la reorganización sináptica y dendrítica de regiones cerebrales clave, como el HPC y la mPFC (Dias-Ferreira et al., 2009). Se observó por ejemplo que el estrés crónico puede afectar la referencia espacial, deteriorando la memoria de trabajo y la flexibilidad conductual (Arnsten, 2009; Kim et al., 2006). Además, el estrés sostenido puede alterar la selección de estrategias y la capacidad de tomar decisiones, disminuyendo la memoria de trabajo espacial y la MER (McEwen & Morrison, 2013; Holmes & Wellman, 2009). Asimismo, se ha observado que eventos amenazantes persistentes en el tiempo deterioran los procesos cognitivos superiores, entre ellos la toma de decisiones coste/beneficio, la flexibilidad cognitiva, la memoria de trabajo espacial y la MER (Shansky & Lipps, 2013; Cerqueira et al., 2007). No obstante, aún persiste la falta de comprensión sobre los mecanismos que intervienen en estos procesos y que pueden ser alterados por eventos amenazantes.

2.6 EFECTO DE EVENTOS AMENAZANTES EN LA SINCRONIZACIÓN HPC-MPFC ASOCIADOS A LA CONSOLIDACIÓN DE LA MEMORIA ESPACIAL

Se ha propuesto que la vivencia de eventos amenazantes afecta la sincronía entre patrones de actividad neural, lo que se manifiesta en alteraciones cognitivas (Negrón-Oyarzo et al., 2016). Se ha observado que, frente a condiciones amenazantes persistentes en el tiempo, la coherencia espectral (una unidad de medida de sincronización o relación temporal entre dos áreas cerebrales) disminuye entre el HPC y la mPFC, junto con una disminución del poder espectral (Lee et al., 2011).

Asimismo, otros estudios han mostrado un rendimiento deteriorado en tareas que involucran memoria espacial (Oliveira et al., 2011; Cerqueira et al., 2007). A nivel fisiológico, se ha observado un deterioro en la transmisión sináptica en la mPFC (Negrón-Oyarzo et al., 2015; 2014). Por lo tanto, se sugiere que las amenazas persistentes pueden disminuir la sincronización entre el HPC y la mPFC, lo que se asocia con déficits en la memoria espacial.

La restricción de movimiento también afecta la sincronización entre el HPC y la mPFC. Se ha encontrado que la restricción de movimiento disminuye la duración y amplitud de los SWRs hipocámpales, aunque no su incidencia (Tomar et al., 2021). Además, se observa una disminución en la activación de células piramidales de CA1 durante los eventos de SWRs (Tomar et al., 2021). Sin embargo, los efectos de la restricción de movimiento sobre los SWRs durante la vigilia pasiva y su relación con la memoria espacial, así como su interacción con patrones corticales, aún no se comprenden completamente.

En este contexto, este estudio se propone examinar la sincronización de los SWRs hipocámpales y las oscilaciones *gamma* de la mPFC durante la vigilia pasiva en ratones sometidos a tareas que involucran la adquisición de la MER. Específicamente, se analizará el efecto de la restricción de movimiento sobre el acoplamiento de los SWRs hipocámpales y las oscilaciones *gamma* prefrontales, antes y después de las tareas de adquisición de MER. Este estudio busca entregar evidencia sobre cómo la restricción de movimiento puede alterar los procesos de consolidación de la memoria a través de la modificación de la sincronización entre el HPC y la mPFC, y cómo estos cambios se reflejan en la dinámica de los SWRs y las oscilaciones *gamma* durante la vigilia pasiva.

3. HIPÓTESIS

“La restricción de movimiento produce una disminución del acoplamiento de los *Sharp Wave Ripples* hipocampales con la actividad *gamma* de la mPFC, en la vigilia pasiva durante la prueba de Recuperación Remota de la MER”.

4. OBJETIVOS

Objetivo general: Determinar el efecto de la restricción de movimiento en el acoplamiento de los *Sharp Wave Ripples* hipocampales con la actividad *gamma* de la mPFC, durante la vigilia pasiva en la Recuperación Reciente y Remota de la MER

Objetivos específicos.

- **Identificar** SWRs-hipocampales en los estados de vigilia pasiva durante la Recuperación reciente y remota de la MER
- **Establecer** diferencias de las características de los SWRs-hipocampales, en ratones que fueron sometidos a restricción de movimiento y en condiciones control, durante la vigilia pasiva en la recuperación reciente y remota de la MER
- **Identificar** la actividad *gamma* de la mPFC en los estados de vigilia pasiva durante la Recuperación reciente y remota de la MER
- **Determinar** el efecto de la restricción de movimiento sobre el acoplamiento entre los SWRs-hipocampales con la actividad *gamma* de la mPFC, durante la vigilia pasiva en la Recuperación reciente y remota de la MER

5. METODOLOGÍA

5.1 Trabajo experimental

El trabajo experimental de la presente tesis fue realizado por Lorena Chacana Véliz como parte de su tesis de magister (2019). En la presente tesis se analizaron los registros crudos tanto de la conducta como de los registros electrofisiológicos para poner a prueba la hipótesis planteada.

5.1.1 Diseño experimental: Se realizó un estudio cuantitativo con un grupo control y un grupo experimental (expuesto a la restricción de movimiento), ambos conformados por ratones (*Mus musculus*) adultos (entre 60 y 90 días) de la cepa C57BL/6 (fig. 1-A), crónicamente implantados con un arreglo de multielectrodos (MEA) dirigidos hacia el HPC y la mPFC. A ambos grupos se les aplicó la prueba conductual del “Laberinto de Barnes” (*Barnes Maze*) con el fin de evaluar la adquisición y recuperación de la MER. Simultáneamente, se registró la actividad eléctrica del HPC y la mPFC. Los resultados conductuales y de actividad cerebral fueron posteriormente analizados (Fig. 1-B). Se consideró como vigilia pasiva a los momentos en que la oscilación de 4 Hz fuera preponderante, evaluándose específicamente los momentos pre-sesión y post-sesión, así como durante la navegación del animal (Fig. 1-C).

5.1.2 Animales: Se utilizó un total de 16 animales para este estudio, correspondiente a ratones adultos de la cepa C57BL/6 de edad entre 60-90 días desde el nacimiento (Fig. 1-A). Estos animales fueron divididos aleatoriamente en los grupos restringidos (n=8) y control (n=8). El primer grupo fue sometido a un protocolo de restricción de movimiento (*ver más adelante*). Ambos grupos se mantuvieron de 4 animales por jaula (hasta antes de la cirugía) en el bioterio bajo condiciones estándares a 22°C de temperatura, 40-60% de humedad relativa, agua y alimento *ad libitum*. El procedimiento experimental relacionado con los animales fue aprobado por el Comité Institucional de Bioética para la investigación con Animales de la Universidad de Valparaíso (CIBICA). (código de protocolo: BEA098-2016¹).

5.1.3 Arreglo de multielectrodos (MEA, *multielectrode array*): Los MEAs se construyeron en el laboratorio para el registro de *potencial de campo local* (LFP) (fig. 1-B). Por cada MEA se utilizaron 8 microelectrodos de tungsteno (diámetro de 0,005”, 304v; Component Supply Co.); 4 para registro en la mPFC y 4 para registro en el HPC, cada uno de los alambres fue anclado a uno de los canales de la placa de interfase (*Electrode Interface Board*, EIB) de 8 canales (EIB-8: *8 Channel Electrode Interface, Neuralynx*). Como referencia y tierra se instalaron 2 alambres de acero inoxidable (0,003, *Satin1 steel, A. M Systems*) conectados a tornillos de 1,57 mm de longitud (MX-000120-01S; *Miniature Stainless Steel Slotted Flat Head Machine Screws*) para ser anclados al cráneo.

¹ Se adjunta documento en la sección correspondiente, junto con la Enmienda correspondiente al protocolo de estrés

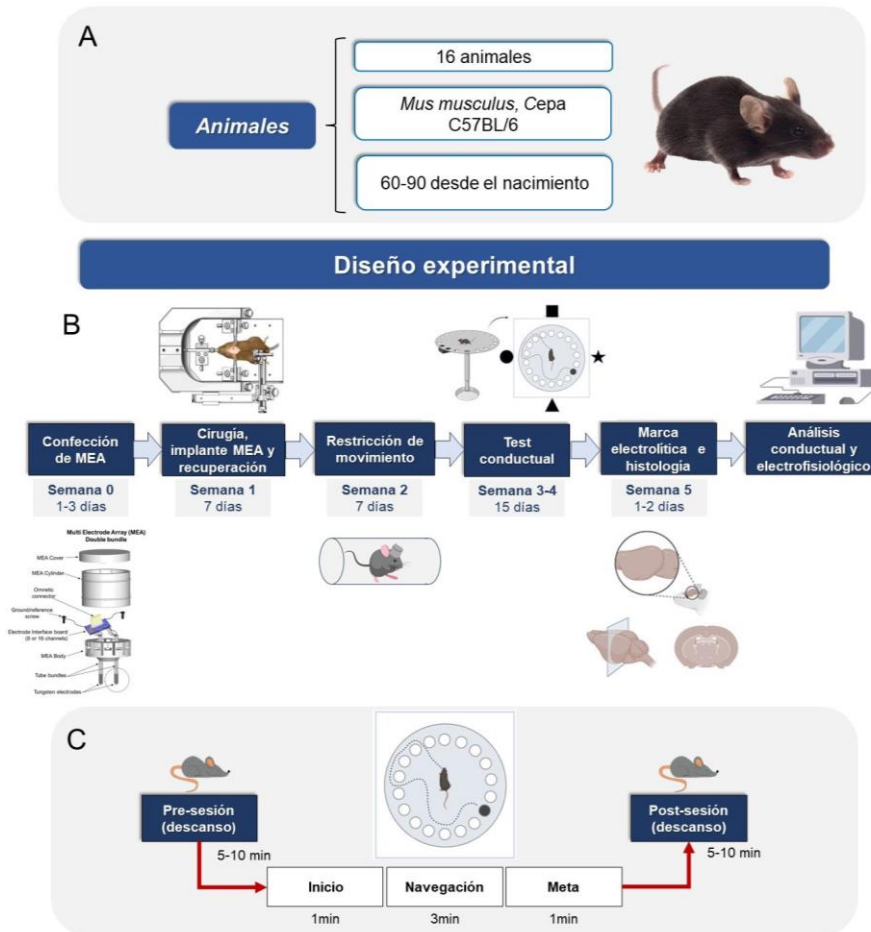


Figura 1: Diseño experimental: (A) Se trabajó con un total de 16 ratones macho de la especie *Mus musculus*, pertenecientes a la cepa C57BL/6. De estos, 8 fueron asignados al grupo de control, mientras que los 8 restantes fueron sometidos a restricción de movimiento. (B) Diagrama resumen de los experimentos llevados a cabo: Confección de MEA (Arreglo de multielectrodos); Cirugía estereotáxica para la implantación del MEA; Restricción de movimiento para uno de los grupos de ratones; aplicación de *Laberinto de Barnes* como test de adquisición de memoria espacial; Realización de marca electrolítica e histología para corroborar la posición de los electrodos en las áreas de interés; Análisis de la conducta y de los registros electrofisiológicos. (C) Esquema explicativo de las fases de cada prueba en el laberinto de Barnes. En este se incluye las pre y post-sesiones.

Comentado [IN6]: INCLUIR ALGUN ESQUEMA DONDE SALGA EL PRE-TRIAL Y POST-TRIAL.

5.1.4 Cirugía: Los animales fueron anestesiados inicialmente con isoflurano (3% en O₂) antes de ser posicionados en el marco estereotáxico y máscara de gas de anestesia (*Stoelting* 51609) y se mantuvo la anestesia usando isoflurano (1-2% de isoflurano con 60-80% de O₂) mediante un vaporizador gaseoso hasta el final de la cirugía. Durante el transcurso de la cirugía, la temperatura central fue mantenida (37 °C) con una almohadilla térmica. Una vez posicionado el animal en el estereotáxico y conectado a la mascarilla de anestesia, se realizó el corte del pelaje para visibilizar el cuero cabelludo y realizar la incisión de la piel. Después de la incisión en el cuero cabelludo, se perforaron dos craneotomías en el hemisferio derecho en coordenadas estereotáxicas dirigidas a la mPFC (2.22 mm AP, 0.25 mm ML desde el punto de referencia Bregma (Paxinos, & Franklin, 2001) y el HPC dorsal (-1.94 mm AP, -1.25 mm ML desde el punto de referencia Bregma) y dos craneotomías para los insertar los tornillos de tierra y de referencia en el hemisferio contralateral a las otras dos craneotomías. Para la longitud de los electrodos se consideró la distancia inferosuperior desde HPC y mPFC hasta la superficie cortical (1 mm para la PFC y 1,5 mm para el HPC). Una vez finalizada la cirugía, los animales fueron mantenidos en jaulas individuales en el bioterio con temperatura y humedad controlada (22 ± 1°C), comida y agua a voluntad. Durante la recuperación (mínimo 7 días), se controló diariamente el peso y la salud general, y se administraron dosis subcutánea de analgésico (Ketoprofeno, 5 mg / kg / día) y antibiótico (Enrofloxacin, 5 mg / kg / día).

5.1.5 Restricción de movimiento: La restricción de movimiento es un tipo de amenaza físico que implica limitar completamente la movilidad del animal, causando incomodidad e incapacidad para escapar (Tomar & McHugh; 2022). También puede tener componentes psicológicos y sociales, dado que, en dichas condiciones, el animal puede experimentar ansiedad y aislamiento social (Tomar & McHugh; 2022).

En este estudio, transcurrido el proceso de recuperación después de la cirugía (7 días), los animales del grupo “restringidos” fueron colocados de manera manual en un dispositivo cilíndrico de material acrílico transparente con perforaciones para permitir la ventilación (3 cm de ancho × 10 cm de largo) durante 45 minutos 3 veces al día en sus jaulas de origen, durante 7 días consecutivos (Negrón et al., 2015; 2014). Durante este periodo, los animales del grupo control no fueron manipulados.

5.1.6 Experimento conductual: Los ratones fueron entrenados para la adquisición de la memoria de referencia espacial (MER) en el laberinto de *Barnes* (Pitts, 2018) (Fig. 1-B). Previo y posterior a la tarea conductual, los ratones fueron puestos en sus jaulas.

El procedimiento fue realizado en sala de conducta animal, con temperatura ambiente (22 ± 1°C) y sonido ambiental inferior a 50dB SPL medido con sonómetro. El laberinto consistió en una plataforma circular blanca de 70 cm de diámetro elevada a 70 cm del suelo con 16 agujeros igualmente espaciados a lo largo del perímetro (9 cm de diámetro cada uno) ubicados a 2 cm del borde de la plataforma. Se ubicaron señales visuales en las cuatro paredes de la habitación. Debajo de uno de los agujeros se posicionó una caja de escape negra de plástico (17×13×7 cm) que permitió la entrada de los ratones con el MEAs implantado. Una vez finalizada cada prueba conductual, el laberinto fue limpiado con etanol a 70% con el fin de evitar un sesgo basado en señales olfativas. Durante las pruebas conductuales, el laberinto fue iluminado con dos luces incandescentes que incidieron sobre la plataforma circular. Para producir un nivel de luz de ~ 600 lux (medido con luxómetro).

En cada sesión de **adquisición**, los ratones fueron puestos en la caja de inicio (18x15x10 cm) sobre el laberinto durante 1 minuto con las luces de la habitación apagadas (**fase de inicio**). Una vez transcurrido el tiempo, las luces fueron encendidas, la caja de inicio levantada y el ratón se dejó libre para permitir la navegación en el laberinto (**fase de navegación**). La sesión finalizó cuando el ratón ingresó en la casilla de escape o después de transcurridos 3 minutos (**fase de meta**) (fig. 1-

C. Cuando el ratón entró en la caja de escape, las luces fueron apagadas y se dejó al animal permanecer en la caja de escape durante 1 minuto (fase de objetivo). Si el ratón no encontró la caja de escape dentro de los 3 minutos, el experimentador guio al animal hacia el escape. Una vez finalizada la prueba, el ratón fue desconectado del sistema de registro electrofisiológico y fue devuelto a la jaula de origen (fig.1-C). Para cada ratón, se aplicaron cuatro pruebas de navegación por día con un intervalo de prueba de 15 minutos durante 5 días consecutivos (fig. 2-A)

Para evaluar la recuperación de la MER, se realizó una sesión durante 90 segundos sin la caja de escape 24 horas después de la última sesión de adquisición (memoria reciente, REC). Del mismo modo, 10 días después del último día de adquisición, se evaluó la memoria a largo plazo (o memoria remota, REM), en donde se realizó una prueba de recuperación de memoria durante 90 segundos sin la caja de escape. Dado que la caja de escape es retirada en las pruebas de recuperación de memoria, estas sesiones tienen solo etapas de inicio y navegación. Además, durante la medición de REC y REM, se registró la pre-sesión y post-sesión para cada animal. Estas pre-sesiones y post-sesiones se consideran como vigilia pasiva, ya que son momentos en que el animal no se desplaza y, por lo tanto, representan estados "off-line".

5.1.7 Registro: Los MEAS implantados fueron conectados al *headstage* (modelo RHD2132 *Intan Tech*, CA, EE. UU.) para el registro de la actividad eléctrica cerebral durante las distintas etapas de la tarea conductual (fig.2). Las señales de actividad cerebral fueron amplificadas (1000 veces), digitalizadas (tasa de muestreo 20 kHz) filtradas a 0,5-5000 Hz y monitoreadas a través del sistema de evaluación RHD2000, *Intan Tech*, CA, EE. UU.]

5.1.8 Marca electrolítica e histología: Después de completar los experimentos, los ratones fueron anestesiados con isoflurano al 1% y se marcó la ubicación de cada electrodo por medio de corriente eléctrica de 50 μ A durante 10 segundos mediante una fuente de aislamiento de estímulo (marca electrolítica) (WPI A365, *Stimulus isolates*). Al día siguiente, los ratones fueron anestesiados con isoflurano (3%) y perfundidos transcardiacamente con 45ml de solución salina seguido de 45 ml de paraformaldehído al 4% en solución salina tamponada con fosfato (PBS, pH=7,4). Se extrajo el cerebro, se incubó durante la noche en paraformaldehído al 4% en PBS y luego se almacenó en solución sacarosa 30%. Se prepararon rebanadas de cortes coronales de cerebro (50 μ m) en criostato y luego los cortes fueron mantenidos en solución PBS y azidasódica al 0,01% (*Cryostat Kede KD 2950 zhengiang jinhua kedi instrumental equipment Co., Ltada.*). Los cortes fueron montados en portaobjetos gelatinizados y teñidos con tinción de Nissl. Las imágenes de cortes coronales del cerebro fueron adquiridas con microscopio óptico de campo claro.

Comentado [IN7]: A esto se refiere Paola, esto es lo que la confunde. Aquí dice que los registros se hicieron una vez finalizada la restricción de movimiento, y eso no fue así. Los registros se hicieron durante al BM. Por lo tanto, la parte de registros va después de exp conductuales.

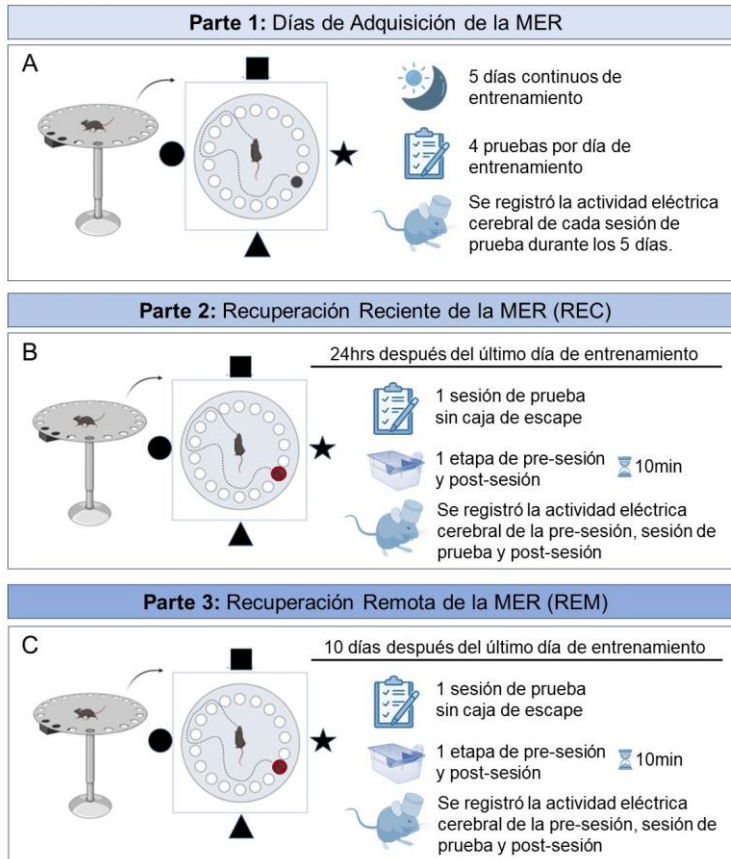


Figura 2: Etapas de la tarea conductual en el laberinto de Barnes (A) Días de adquisición de la MER. Se realizaron 5 días continuos de entrenamiento en el laberinto de Barnes, con 4 pruebas por días. Se registró la actividad eléctrica cerebral durante los 5 días de entrenamiento y para cada prueba. **(B)** Veinticuatro horas después del último día de entrenamiento, se llevó a cabo la prueba de recuperación reciente de la MER, en la cual los animales recorrieron el laberinto sin la presencia del escape. Se midió la actividad eléctrica cerebral antes (pre-sesión) durante la prueba y posterior a ella (post-sesión) de la recuperación reciente de la MER **(C)** Diez días después del último día de entrenamiento, se realizó la prueba de recuperación remota de la MER. Se midió la actividad eléctrica cerebral antes (pre-sesión) durante la prueba y posterior a ella (post-sesión) de la recuperación remota de la MER

5.2 Análisis de los datos

5.2.1 Análisis conductual: Se analizaron varios parámetros conductuales obtenidos durante la prueba del Laberinto de Barnes para evaluar la adquisición y recuperación de la MER.

Para la adquisición de la MER, Los parámetros específicos incluyeron la **latencia de escape**, definida como el tiempo que tarda el ratón en encontrar el escape del laberinto desde el inicio de la prueba, siendo un indicador crucial de la eficiencia del aprendizaje y la memoria espacial (Harrison et al., 2006). También se evaluó los **errores de búsqueda**, es decir, el número de entradas a agujeros incorrectos antes de encontrar el escape, lo que refleja la precisión del aprendizaje espacial (Barnhart et al., 2015). Por otro lado, para la recuperación reciente y remota de la MER, la latencia primaria se consideró cuando el ratón hizo contacto donde debió estar la zona de escape (entendiéndose que, durante la recuperación de memoria, se eliminó la caja de escape), y el número de errores se consideró al número de intentos fallidos antes de encontrar la posición de la zona de escape. Estos parámetros fueron seleccionados debido a su relevancia en la evaluación de la memoria espacial y su capacidad para reflejar la eficacia de los procesos de aprendizaje y memoria en los ratones sometidos a la prueba del Laberinto de Barnes.

5.2.2. Análisis electrofisiológico: Para el análisis de datos, los registros de actividad eléctrica cerebral fueron inicialmente capturados en formato .rhd utilizando el sistema de adquisición de datos Intan RHD2000. Los datos crudos posteriormente fueron convertidos a formato.mat utilizando el programa Matlab, v2015. La tasa de adquisición empleada para cada registro fue 1000Hz. Luego de la conversión, los registros fueron visualizados para eliminar artefactos, de forma que como criterio de exclusión se eliminaron los registros altamente ruidosos y aquellos en los cuales se observó una gran presencia de artefactos. Esto permitió la utilización de solo datos de buena calidad, lo que facilitó una correcta interpretación de los procesos subsiguientes.

5.2.3. Detección de eventos de vigilia pasiva: Se detectaron los períodos de vigilia pasiva durante los estados de inmovilidad. Dada la relación comúnmente ortogonal entre las bandas de frecuencia de 4 Hz (2-5 Hz) y *theta* (θ ; 6-12 Hz) en el HPC durante la vigilia, donde *theta* emerge en momentos de locomoción y la oscilación de 4 Hz en períodos de inmovilidad (de Lima & Belchior, 2023; Schultheiss et al., 2020), se definieron los períodos de vigilia pasiva utilizando la relación 4-Hz/ θ (ratio 4-Hz/*theta*). Para ello, se calculó la amplitud normalizada de 4 Hz en relación con la amplitud normalizada de θ durante el tiempo de registro (Jatupornpoonsub et al., 2022; Novitskaya et al., 2016). Se consideró como estado de vigilia pasiva los períodos en los que la relación 4-Hz/ θ fue superior a la media de todas las relaciones 4-Hz/ θ del registro, para cada animal (Novitskaya et al., 2016). Específicamente, se evaluó los momentos pre-sesión y post-sesión, así como la inmovilidad durante la prueba de recuperación de memoria, ya que son momentos en que el animal no se desplaza y, por lo tanto, representan estados de vigilia pasiva.

$$Ratio = \frac{4 \text{ Hz}}{theta}$$

(z-score)

5.2.4. Detección de SWRs en vigilia pasiva Se usó el método descrito por Logothetis et al (2012). Brevemente, los LFP del HPC se filtraron con un filtro pasa de banda (120–250 Hz) utilizando un filtro de impulso finito no causal de desplazamiento de fase cero con una caída de 0,5 Hz. A continuación, la señal se rectificó y se filtró en paso bajo a 20 Hz con un filtro *Butterworth* de cuarto orden. Este procedimiento produce una envolvente suave de la señal filtrada, que luego fue normalizada (z-scored) Los períodos durante las cuales la señal normalizada superó un umbral de 3,5 SD se consideró como eventos SWR. El primer punto antes del umbral que alcance 1 SD se consideró el inicio y el primero después del umbral en alcanzar 1 SD como el final de los eventos. La diferencia entre el inicio y el final de los eventos se utilizó para estimar la duración de cada SWRs.

Se introdujo una ventana refractaria de 50 ms para evitar detecciones dobles. Para determinar con precisión la frecuencia media, la amplitud y la duración de cada evento, se realizó un análisis espectral utilizando wavelets complejas de Morlet de 7 ciclos. La caja de herramientas de Matlab utilizada se encuentra disponible en línea como *LAN-toolbox* (<http://lantoolbox.wikispaces.com/>). Finalmente, para la eliminación de eventos con características de artefacto, se excluyeron todos aquellos que tuviesen una amplitud superior a 4,5mV y los que tuviesen una duración superior a los 200ms por escaparse de las características que usualmente describen a los SWRs (Buzsáki, 2015). Se cuantificó la incidencia, duración, frecuencia y amplitud de los SWRs para cada grupo de estudio, los cuales se graficaron a través de *Graph Prism v5*.

5.2.5. Detección de eventos *gamma* prefrontales en vigilia pasiva: Los LFP del mPFC se filtraron con un filtro pasa banda de 30-55Hz para *gamma bajo* (*low gamma*) y 60-110Hz para *gamma alto* (*high gamma*) utilizando un filtro de impulso finito no causal de desplazamiento de fase cero con una caída de 0,5 Hz. A continuación, la señal se rectificó y se filtró en paso bajo a 20 Hz con un filtro *Butterworth* de cuarto orden. Este procedimiento produce una envolvente suave de la señal filtrada, que luego era z-puntuación normalizada utilizando la media y la desviación estándar (SD) de toda la señal. Los periodos durante los cuales la señal normalizada superó un umbral de 2 SD se consideraron como eventos *gamma* (Csisvari et al., 2003)

5.2.6 Densidad Espectral de Poder (PSD; *Power Spectral Density*): Se estimó el PSD de la mPFC de ambos grupos para evaluar la actividad *gamma*. Primero, los datos se segmentaron en ventanas de 4 segundos. Luego, se configuraron los parámetros para el análisis de frecuencia (30-55Hz para *gamma bajo* y 60-110Hz para *gamma alto*) utilizando el método de '*multitapers*', que mejora la resolución espectral y la estabilidad de las estimaciones (Mitra & Pesaran, 1999). Se utilizó una ventana tipo '*Hamming*' para reducir la fuga espectral. Posteriormente, se aplicó la Transformada de Fourier a cada segmento de datos para obtener la representación en el dominio de la frecuencia. A partir de estas representaciones, se calculó el PSD para cada segmento.

5.2.7 Potencial relacionado a eventos (ERP): El ERP es una medida directa de la actividad neuronal: un potencial eléctrico generado por la activación de las neuronas en respuesta a un evento específico, como la presentación de un estímulo o la entrega de una respuesta, que coincide precisamente con esa actividad neuronal (Amodio et al., 2014).

Para investigar el acoplamiento entre la actividad eléctrica en la mPFC y la ocurrencia de SWRs hipocampales, primero, aplicamos la transformada de *Wavelet* para aislar y seleccionar las bandas de frecuencia de interés en los registros de la actividad eléctrica de la mPFC: *gamma baja* (30-55 Hz) y *gamma alta* (60-110 Hz) (Mitra & Pesaran, 1999; De Vos et al., 2012). Luego, calculamos la energía de cada banda de frecuencia en relación con el momento de ocurrencia de cada SWR hipocampal, empleando una ventana temporal de 100 ms antes y después de cada evento. Para determinar si las asociaciones entre SWRs y las bandas de frecuencia eran significativas y no producto del azar, realizamos un procedimiento de *Shuffling*, donde aleatorizamos los tiempos de registro de cada banda 100 veces. Este método ayuda a controlar coincidencias aleatorias y confirma la validez de las asociaciones observadas. Este enfoque ha sido efectivo para estudiar cómo se coordinan las actividades entre el HPC y la mPFC durante procesos de memoria y toma de decisiones (Helfrich y Knight, 2019).

5.3 Análisis estadístico

Para comparar los grupos en el rendimiento conductual durante los días de adquisición y durante la recuperación reciente y remota de la memoria espacial de referencia (MER), así como para comparar las características de los SWRs hipocampales y la amplitud máxima de las

Comentado [IN8]: Esto no tiene nada que ver aquí, va en discusión.



oscilaciones gamma en la mPFC, se utilizó un Análisis de Varianza de dos vías (two-way ANOVA) de mediciones repetidas, seguido de una comparación *post hoc* de Bonferroni para los resultados que dieran significativamente distintos. Para el análisis de los potenciales relacionados a eventos (ERP), se utilizó la prueba U de Mann-Whitney, una prueba no paramétrica que compara las diferencias entre dos grupos independientes. Se consideró una diferencia estadísticamente significativa cuando el valor de p alcanzó 0,05 o menos.

6. RESULTADOS

En presente estudio propusimos analizar cómo afecta la restricción de movimiento al acoplamiento entre los SWRs hipocampales y *gamma* prefrontal durante la vigilia pasiva, en tareas que involucran la recuperación reciente y remota de la MER. A continuación, se presentan los resultados obtenidos.

6.1 HISTOLOGÍA

Los resultados histológicos corroboraron la posición de los electrodos en el HPC y la mPFC en los animales de todos los animales sometidos a cirugía de implante de electrodos (Fig. 3A y 3B).

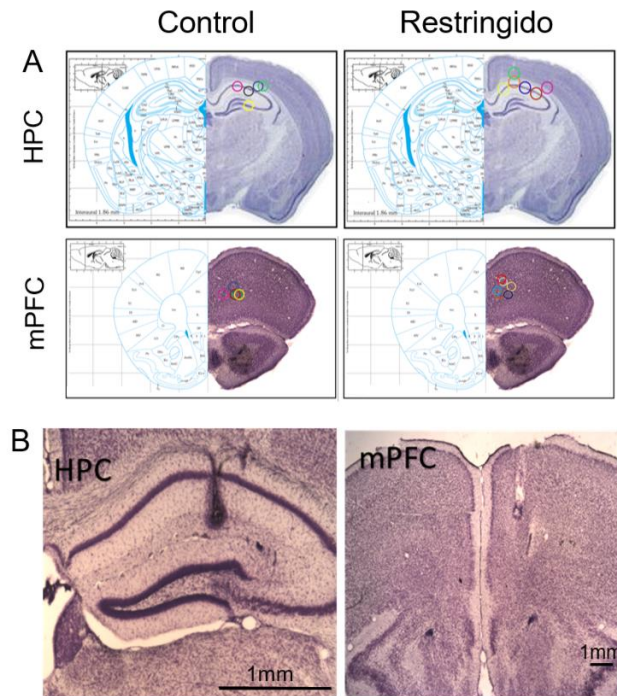


Figura 3: Ubicación de los electrodos en rebanadas coronales. (A) Cortes coronales que indican la ubicación final de los electrodos (círculos de colores) tanto para los animales en el grupo control como para los restringidos, tanto en el HPC (arriba) como en la mPFC (abajo). **(B)** Ejemplos de cortes coronales con marcas electrolíticas que evidencian la posición precisa de los electrodos (Chacana, 2019).

6.2 CONDUCTA

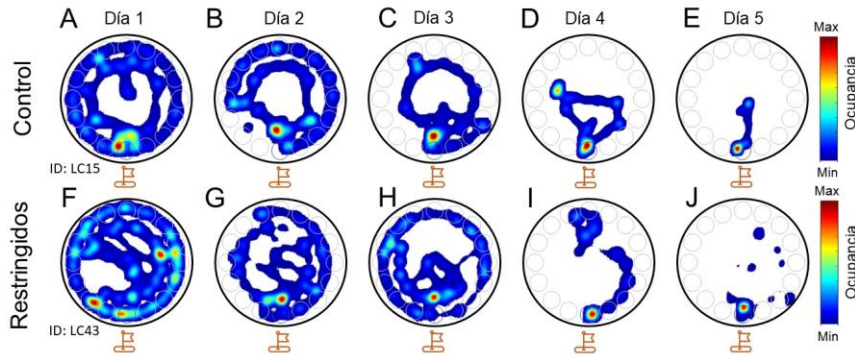
Para medir el desempeño conductual de los animales en la condición control (N=8) y restringidos (n=8), se realizaron mapas de ocupancia para evaluar la adquisición de la MER durante

los días de adquisición. Posteriormente, analizamos la latencia primaria y el número de errores en el laberinto de Barnes. Como se observa en los mapas de ocupancia de la figura 4 (A-E control; F-J restringidos), los animales de ambos grupos exploraron el laberinto durante los primeros días de entrenamiento. Sin embargo, con el paso de los días, ambos grupos pasaron más tiempo en el agujero donde se encontraba el escape. Esto sugiere que, durante los días de adquisición, los animales aprendieron a ubicar espacialmente el escape. Para poder cuantificar si hubo efecto de la restricción de movimiento durante los días de adquisición, comparamos la latencia primaria y el número de errores, parámetros comúnmente utilizados para evaluar el desempeño conductual en el laberinto de Barnes. Encontramos efectos del paso de los días de adquisición sobre la latencia primaria (P: $P = 0,0049$; ANOVA de mediciones repetidas; Fig. 4-O) y en el número de errores (P: $P = 0,0001$; ANOVA de mediciones repetidas; Fig. 4-P) sugiriendo una mejora en el desempeño de los animales con el tiempo. Sin embargo, no encontramos diferencias significativas entre los grupos en la latencia primaria (P: $P = 0,3584$; ANOVA de mediciones repetidas) ni en el número de errores (P: $P = 0,4996$; ANOVA de mediciones repetidas). Un análisis más detallado reveló que no hubo diferencias significativas entre los grupos durante los días de adquisición en la latencia primaria (D1, P: $P = 0,338$; D2, P: $P = 0,313$; D3, P: $P = 0,352$; D4, P: $P = 0,547$; D5, P: $P = 0,943$; prueba de comparaciones múltiples de Bonferroni *post hoc* al ANOVA de dos vías; Fig. 4-O), ni en el número de errores (D1, P: $P = 0,452$; D2, P: $P = 0,427$; D3, P: $P = 0,500$; D4, P: $P = 0,418$; D5, P: $P = 0,319$; prueba de comparaciones múltiples de Bonferroni *post hoc* al ANOVA de dos vías; Fig. 4-P). Por lo tanto, sugerimos que los animales adquirieron la MER, pero que la restricción de movimiento no afectó la adquisición de la MER.

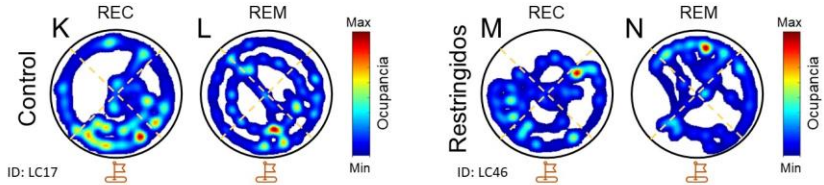
Una vez completada la adquisición, evaluamos el efecto de la restricción de movimiento en la recuperación reciente y remota de la memoria espacial. Como se observa en los mapas de ocupancia de la fig. 4 (K-L), los animales control navegaron por más tiempo en la zona de escape, tanto en las tareas de memoria reciente como en las de memoria remota, a pesar de haber explorado el resto del laberinto. Por su parte, los animales restringidos mostraron un patrón de navegación similar al de los animales control durante la tarea de memoria reciente. Sin embargo, en la tarea de memoria remota, los animales restringidos se alejaron de la zona de escape, sugiriendo que no lograron recordar la ubicación del escape. Para tener una idea detallada del efecto de la restricción de movimiento sobre la memoria reciente y remota, cuantificamos y comparamos la latencia primaria y el número de errores (Fig. 4-Q y R). El análisis estadístico reveló un efecto significativo del paso del tiempo sobre la latencia primaria (P: $P = 0,0408$; ANOVA de dos vías de mediciones repetidas; fig. 4-Q). De manera interesante, encontramos un efecto significativo de la restricción de movimiento sobre la latencia primaria (P: $P = 0,0432$; ANOVA de dos vías de mediciones repetidas; fig. 4-Q). Un análisis más detallado reveló que no hubo un efecto significativo del paso del tiempo sobre la latencia primaria en el grupo control (P: $P = 0,886$; prueba de comparaciones múltiples de Bonferroni *post hoc* al ANOVA de dos vías; fig. 4-Q), sugiriendo que la memoria espacial no fue modificada con el paso del tiempo en animales no restringidos. Tampoco encontramos diferencias significativas entre grupos en la latencia primaria durante la evaluación de la memoria reciente (P: $P = 0,999$; prueba de comparaciones múltiples de Bonferroni *post hoc* al ANOVA de dos vías; fig. 4-Q), sugiriendo que la memoria espacial reciente no se vio alterada por la restricción de movimiento. Sin embargo, encontramos un efecto significativo del paso del tiempo en la latencia de primaria en el grupo restringido, en donde se observó un aumento de la latencia en la memoria remota comparado con memoria reciente (P: $P = 0,0388$; prueba de comparaciones múltiples de Bonferroni *post hoc* al ANOVA de dos vías; fig. 4-Q). Esto sugiere un deterioro de la memoria espacial con el paso del tiempo en los animales restringidos. Más aun, encontramos diferencias significativas entre grupos en la memoria remota (P: $P = 0,0483$; prueba de comparaciones múltiples de Bonferroni *post hoc* al ANOVA de dos vías; fig. 4-Q), sugiriendo un deterioro de la memoria remota en los animales restringidos comparado con los animales control.

Al analizar el parámetro de número de errores durante la memoria reciente y remota, obtuvimos resultados similares a los de la latencia primaria. El análisis estadístico reveló un efecto significativo del paso del tiempo sobre el número de errores ($P = 0,0463$; ANOVA de dos vías de mediciones repetidas; Fig. 4-R). Sin embargo, no encontramos un efecto significativo de la restricción de movimiento sobre el número de errores ($P = 0,052$; ANOVA de dos vías para múltiples comparaciones; fig. 4-R). Al analizar en detalle, se reveló que no hubo efecto significativo del paso del tiempo sobre el número de errores en el grupo control ($P = 0,999$; prueba de comparaciones múltiples de Bonferroni *post hoc* al ANOVA de dos vías; fig. 4-R), sugiriendo que la memoria espacial no fue modificada por el paso del tiempo en este grupo. Tampoco encontramos diferencias significativas entre grupos en el número de errores durante la evaluación de la memoria reciente ($P = 0,999$; prueba de comparaciones múltiples de Bonferroni *post hoc* al ANOVA de dos vías; fig. 4-R), lo que nuevamente sugiere que la memoria espacial reciente no se vio afectada por la restricción de movimiento. Sin embargo, encontramos un efecto significativo del paso del tiempo en el número de errores en el grupo restringido, en donde se observó un aumento de los errores en la memoria remota comparado con memoria reciente ($P = 0,024$; prueba de comparaciones múltiples de Bonferroni *post hoc* al ANOVA de dos vías; fig. 4-R). Esto sugiere un deterioro de la memoria espacial con el paso del tiempo en los animales restringidos. Interesantemente, encontramos diferencias significativas entre grupos en la memoria remota ($P = 0,0258$; prueba de comparaciones múltiples de Bonferroni *post hoc* al ANOVA de dos vías; fig. 4-R), sugiriendo un deterioro de la memoria remota en los animales restringidos comparado con los animales control. Dado los resultados conductuales, se sugiere que la restricción de movimiento resultó en una disminución de la recuperación de la memoria espacial en tareas remotas.

Mapas de Ocupancia: Días de adquisición



Mapas de Ocupancia: Recuperación de memoria reciente y remota



Latencia primaria y errores de búsqueda

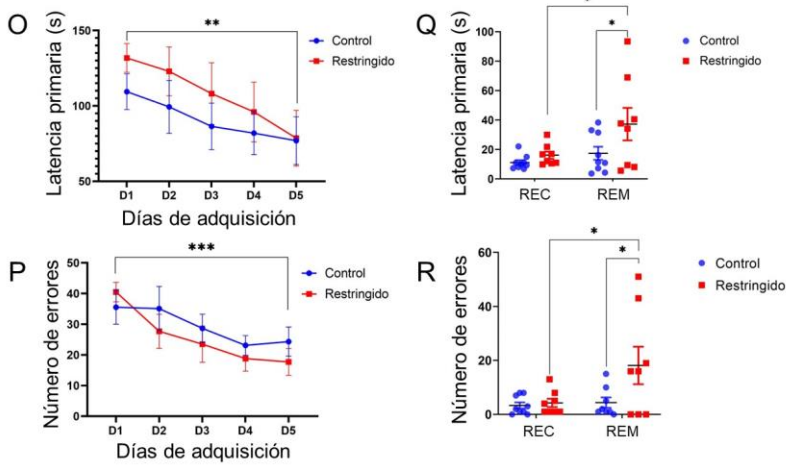


Figura 4: Resultados conductuales de las tareas de adquisición de la MER y recuperación de Memoria Reciente y Remota: Mapas de ocupancia (*occupancy plot*) en los días de adquisición representativo de un animal del grupo control (**A – E**) y del grupo restringido (**F – J**). Los banderines bajo cada laberinto representan la ubicación de la meta. También se presentan los mapas de ocupancia durante las tareas de recuperación de memoria reciente (**K**) y remota (**L**) de un animal control, y memoria reciente (**M**) y remota (**N**) de un animal del grupo restringido. Los banderines bajo el laberinto representan la zona de escape, dado que, para las tareas de recuperación de memoria, los laberintos no cuentan con un escape. (**O**) Latencia primaria a través de los días de adquisición de memoria espacial. (**P**) *Raster plot* comparando el número de errores cometidos antes de encontrar el escape durante los días de adquisición entre los grupos control y restringidos. (**Q**) Latencia primaria durante la recuperación de memoria reciente (REC) y remota (REM) (**R**) Número de errores durante la recuperación de memoria reciente (REC) y remota (REM). Los gráficos de latencia primaria y número de errores (O, P, Q y R) corresponden a parte de los experimentos de la tesis de Chacana (2019) *: $P < 0.05$; **: $P < 0.001$; ***: $P < 0.0001$

6.3 DETECCIÓN DE ESTADOS DE VIGILIA PASIVA

Para detectar los estados de vigilia pasiva, analizamos los registros del HPC utilizando la relación 4-Hz/theta. Se definieron como periodos de vigilia pasiva aquellos en los que la relación 4-Hz/theta era mayor a 1.1, indicando una predominancia de la oscilación de 4-Hz y una disminución de la actividad locomotora (de Lima & Belchior, 2023; Schultheiss et al., 2020). En la figura 5-A se muestra una carta tiempo-frecuencia de un registro de HPC de un animal que se desplazaba por el laberinto de Barnes en su primer día de adquisición (ID: LC43). Mientras el animal exploraba, la oscilación predominante fue *theta* (6-10 Hz). Sin embargo, cuando el animal se detuvo (indicado por el recuadro rojo), disminuye el poder de theta. Un análisis cualitativo más detallado (fig. 5-B) permitió diferenciar los estados de locomoción e inmovilidad mediante una carta tiempo-frecuencia normalizada. Al enfocarnos en las bandas de 4 Hz y theta, realizamos un análisis de poder espectral en el tiempo, comparando el poder de ambas frecuencias (fig. 5-C). Finalmente, al aplicar la relación 4-Hz/theta, observamos que en los estados de inmovilidad esta relación es predominante (fig. 5-D). La detección de los estados de vigilia se realizó para tres tiempos en la recuperación reciente y remota de la memoria espacial: previo a la tarea de recuperación de memoria (*pre-sesión*); durante la sesión; y posterior a la tarea de recuperación de memoria (*post-sesión*)

Comentado [IN9]: Normalmente no se comentan los resultados en la leyenda de la figura.

Comentado [IN10]: Debe haber coherencia entre la figura y la leyenda (y el texto). En ellos aparece como Rec y Rem, en la figura aparece como PT1 y PT2; arreglar eso.

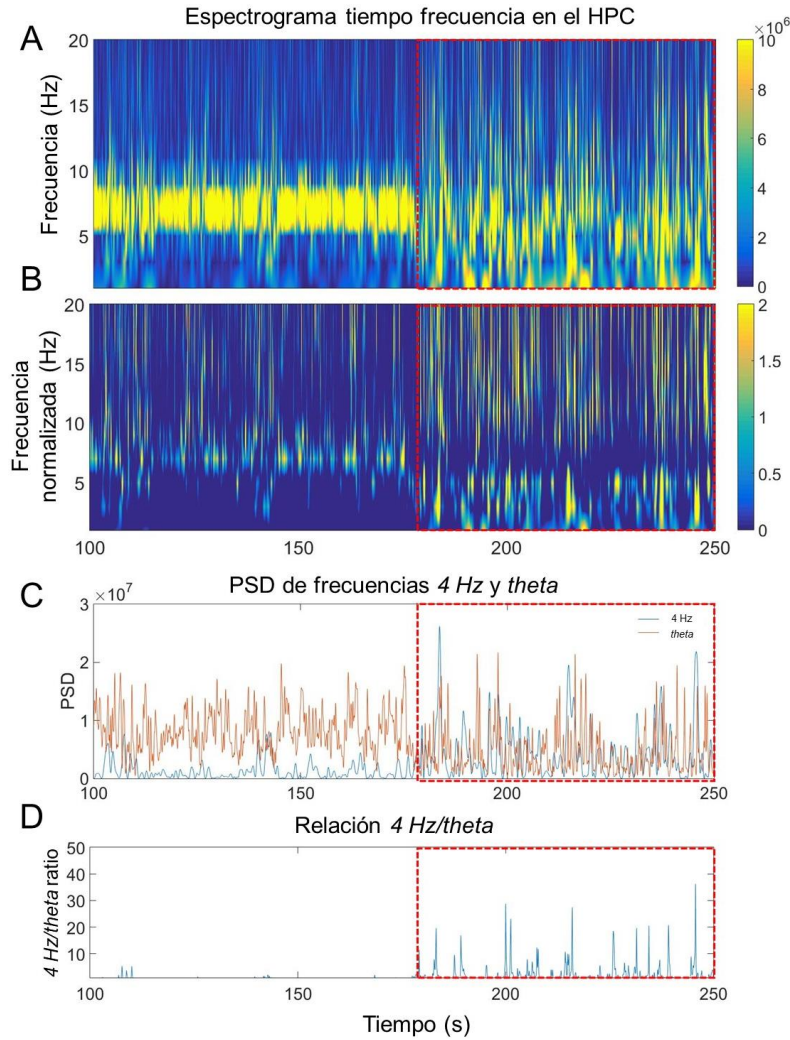


Figura 5: Detección de vigilia pasiva para la selección de SWRs en el HPC. (A) Carta tiempo-frecuencia de un registro representativo de 150s del HPC. (B) Carta tiempo-frecuencia con las amplitudes normalizadas. (C) Densidad de potencia espectral (PSD, *Power Spectral Density*) de las dos frecuencias de interés del mismo registro: 4 Hz en azul y *theta* en naranja. (D) Relación 4 Hz/*theta* del mismo registro. Enmarcado para cada una de las figuras un rectángulo rojo con línea intermitente para representar el periodo considerado vigilia pasiva.

Comentado [IN11]: De qué región se obtuvo este registro? No está indicado.

Comentado [IN12]: Esto no es PSD, es energía

6.4 DETECCIÓN DE SWRS HIPOCAMPALES Y EVENTOS GAMMA DE LA mPFC DURANTE LA VIGILIA PASIVA.

Una vez definidos los periodos en que los animales se encontraban en vigilia pasiva, identificamos y analizamos los eventos de interés filtrando los *potenciales de campo local* (LFP) tanto del HPC como de la mPFC. La Fig 6-A muestra una ventana temporal de aproximadamente 500 ms, exhibiendo un registro crudo de LFP hipocampal, el mismo registro filtrado entre 120 y 250 Hz para observar los SWRs, el LFP crudo registrado desde la mPFC y el mismo registro filtrado entre 30 y 110 Hz para observar la actividad *gamma* en la mPFC. Las líneas rojas intermitentes destacan los momentos en que se identifican un *sharp-wave*, la presencia de un *ripple*, y el registro de un evento *gamma*. Los SWRs hipocampales tienen una forma característica (fig. 6-B) que consiste en una *sharp-wave* (onda aguda) seguida de un *burst* de alta frecuencia conocido como *ripple*. El SWRs se puede observar como una oscilación rápida de alta frecuencia (120-250 Hz) que dura aproximadamente 50-100 ms y se genera por la actividad sincrónica de las neuronas en la región CA1 del HPC (Buzsáki, 2015). Estas características permiten una fácil identificación de los SWRs en los registros LFP filtrados. La Figura 6-C presenta una carta tiempo-frecuencia que muestra todos los eventos SWR (120-250 Hz) en el HPC, con el tiempo 0 indicando el momento de mayor amplitud. La Figura 6-D muestra una carta tiempo-frecuencia de todos los eventos de *gamma* baja frecuencia (30-55 Hz) en la mPFC, mientras que la Figura 6-E muestra la carta tiempo-frecuencia de todos los eventos de *gamma* alta frecuencia (60-110 Hz) en la mPFC.

Comentado [IN13]: Reemplazar "off line" por "vigilia pasiva"

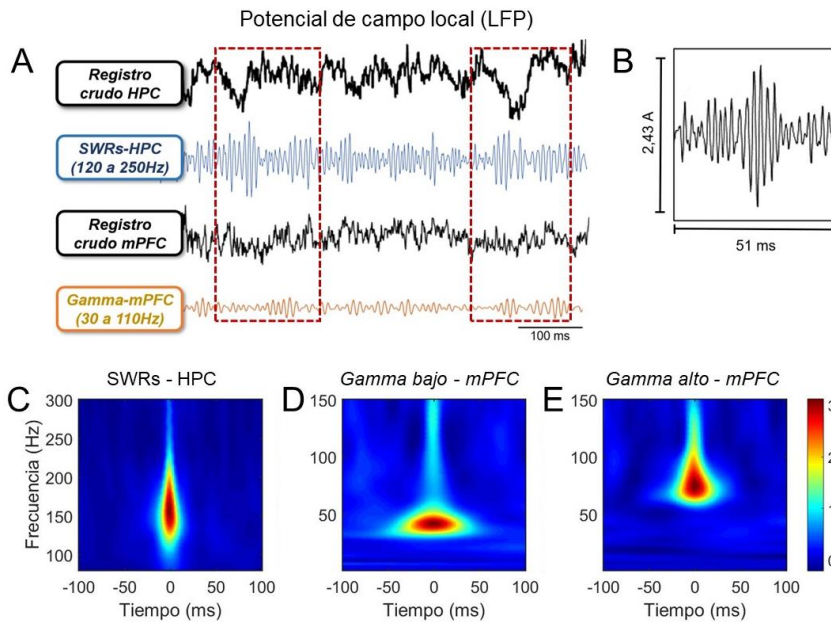


Figura 6: Detección de SWRs hipocampales y eventos *gamma* prefrontales: (A) Registro representativo de 500ms que ilustra el LFP-HPC en negro, el LFP filtrado en una frecuencia de 120

a 250Hz para la detección de SWRs en azul, LFP-mPFC en negro y los eventos *gamma* filtrados entre 30 y 110Hz en naranja. El rectángulo con líneas intermitentes indica los momentos en que se genera una *Sharp-wave*, se observa un *ripple* y se registra un evento *gamma*. **(B)** Registro representativo de un SWR. **(C)** Cartas tiempo-frecuencia mostrando todos los eventos SWR (120-250 Hz) en el HPC. **(D)** *gamma* bajo (30-55 Hz) en la mPFC. **(E)** *gamma* alto (60-110 Hz) en la mPFC. El tiempo 0 indica el momento de mayor amplitud.

6.5 CARACTERÍSTICAS DE LOS SWRs HIPOCAMPALES PRE, DURANTE Y POST TAREAS DE RECUPERACIÓN DE LA MEMORIA ESPACIAL DE REFERENCIA EN VIGILIA PASIVA.

Una vez detectados los SWRs hipocampales, evaluamos el efecto de la restricción de movimiento en las características de los SWRs durante la recuperación reciente y remota de la memoria espacial. Para ello, cuantificamos y analizamos la incidencia, frecuencia, amplitud y duración de los SWRs en tres tiempos: pre-sesión, prueba y post-sesión. El análisis estadístico dio como resultado que la restricción de movimiento no afectó la incidencia de SWRs durante la recuperación reciente de la memoria espacial (P: P = 0,835; ANOVA de dos vías; Fig. 7-A) ni la recuperación remota (P: P = 0,751; ANOVA de dos vías; Fig. 7-B). El mismo análisis reveló que no hubo un efecto significativo del paso del tiempo en la incidencia durante la recuperación reciente de la memoria espacial (P: P = 0,495; ANOVA de dos vías; Fig. 7-A) ni en la recuperación remota (P: P = 0,832; ANOVA de dos vías; Fig. 7-B), lo que sugiere que la restricción de movimiento no altera la incidencia de los SWRs hipocampales. Por el contrario, se obtuvo un efecto significativo de la restricción de movimiento en la recuperación reciente de la memoria espacial (P: P = 0,0062; ANOVA de dos vías; P: P = 0,0010, prueba de comparaciones múltiples de Bonferroni *post hoc* al ANOVA; Fig. 7-C) durante la sesión de prueba. Este efecto no se observó en la recuperación remota de memoria espacial (P: P = 0,247; ANOVA de dos vías; Fig. 7-D), ni en el tiempo para la recuperación reciente de la memoria espacial (P: P = 0,802; ANOVA de dos vías; Fig. 7-C) ni en la recuperación remota (P: P = 0,217; ANOVA de dos vías; Fig. 7-D), lo que sugiere que la restricción de movimiento solo afectaría la frecuencia de los SWRs durante la recuperación reciente de la memoria espacial durante la aplicación de la prueba. En cuanto a la amplitud de los SWRs, no se encontraron diferencias significativas entre los grupos ni en la recuperación reciente (P: P = 0,4616; ANOVA de dos vías; Fig. 7-E) ni en la recuperación remota (P: P = 0,0744; ANOVA de dos vías; Fig. 7-F). Además, no se observó un efecto significativo del paso del tiempo en la amplitud durante la recuperación reciente (P: P = 0,5691; ANOVA de dos vías; Fig. 7-E) ni durante la recuperación remota (P: P = 0,8421; ANOVA de dos vías; Fig. 7-F). Por lo tanto, la restricción de movimiento no afectó la amplitud de los SWRs ni en la recuperación reciente ni en la remota de la memoria espacial. Finalmente, analizamos la duración de los SWRs, y los resultados mostraron que no hubo diferencias significativas entre los grupos ni en la recuperación reciente (P: P = 0,6909; ANOVA de dos vías; Fig. 7-G) ni en la recuperación remota (P: P = 0,2165; ANOVA de dos vías; Fig. 7-H). Tampoco se encontró un efecto significativo del paso del tiempo en la duración de los SWRs durante la recuperación reciente (P: P = 0,9254; ANOVA de dos vías; Fig. 7-G) ni durante la recuperación remota (P: P = 0,9074; ANOVA de dos vías; Fig. 7-H). Por lo tanto, la restricción de movimiento no afectó la duración de los SWRs en la recuperación reciente ni en la remota de la memoria espacial.

Comentado [IN14]: En ninguna parte del texto hasta este punto está explicado qué es pre, durante y post tarea, o por qué divides en estas secciones. Esto debe quedar claro en la introducción, en la pregunta experimental, la estrategia experimental, en los métodos, etc. Es como que lo sacas del bolsillo en este punto sin dar una explicación.

Comparación de las características de los SWRs en la recuperación reciente y remota de la memoria espacial

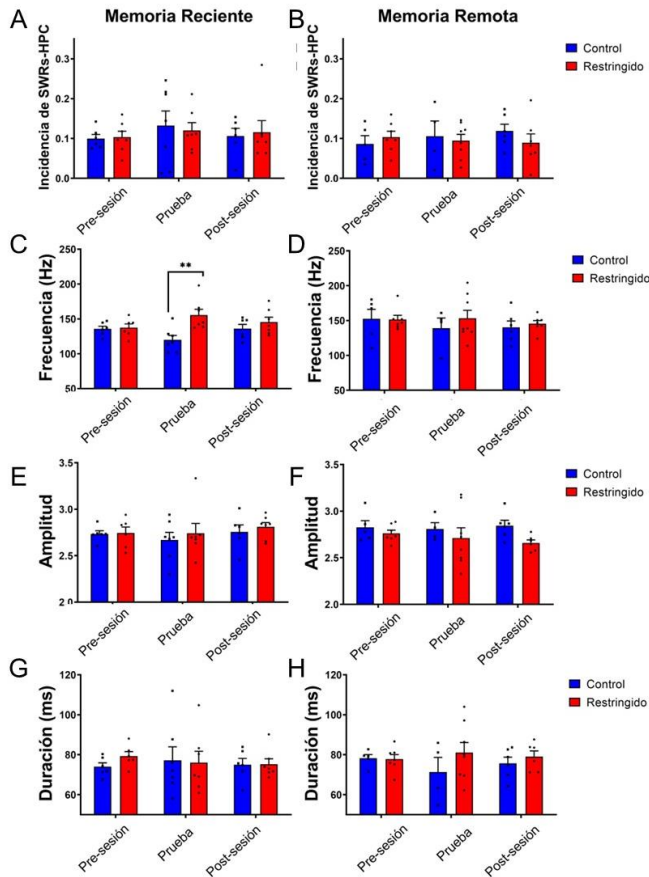
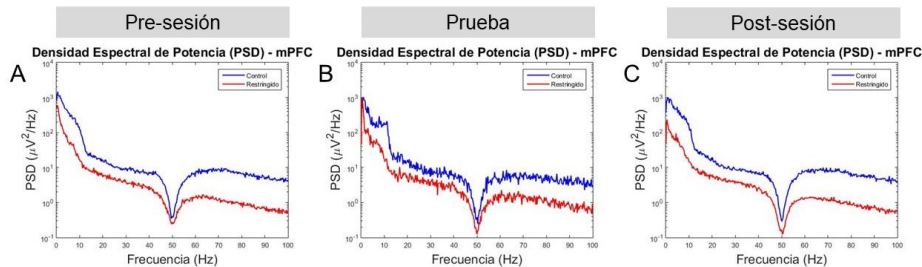


Figura 7: Características de SWRs hipocampales durante la memoria reciente y remota. Incidencia de SWRs hipocampales en (A) memoria reciente y (B) memoria remota. La incidencia se calcula como la cantidad de SWRs por unidad de tiempo de registro. Frecuencia (Hz) de SWRs hipocampales en (C) memoria reciente y (D) memoria remota. Amplitud de SWRs hipocampales en (E) memoria reciente y (F) memoria remota. Duración (ms) de SWRs hipocampales en (G) memoria reciente y (H) memoria remota.

6.6 COMPARACIÓN DE PODER ESPECTRAL (PSD) Y AMPLITUD MÁXIMA de GAMMA EN LA CORTEZA PREFRONTAL EN VIGILIA PASIVA.

A continuación, nos centramos en la mPFC para cuantificar y comparar la densidad espectral de potencia (PSD) durante la recuperación reciente y remota de la memoria espacial en tres tiempos: pre-sesión, prueba y post-sesión. Para ello, realizamos un análisis de PSD del mPFC para cada animal de los grupos control y restringido. En la figura 8, podemos observar el PSD representativo de un animal control y uno restringido durante la recuperación reciente de la memoria espacial (fig. 8-A, B y C), así como durante la recuperación remota de la memoria espacial (fig. 8-D, E y F). Esta comparación nos permite evaluar las diferencias en la actividad espectral entre los grupos.

Densidad espectral de potencia en el mPFC durante la Memoria Reciente (REC)



Densidad espectral de potencia en el mPFC durante la Memoria Remota (REM)

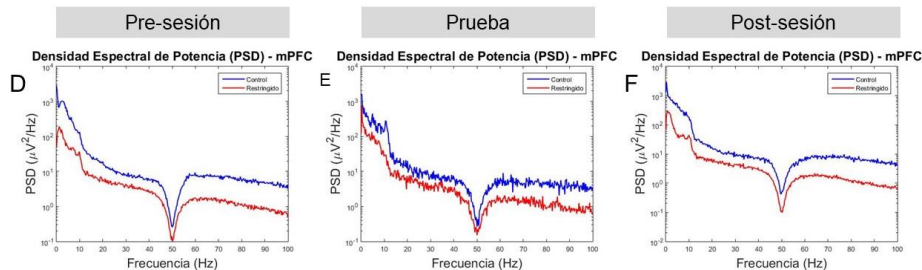


Figura 8: Densidad espectral de poder (PSD) para cada tiempo. Para todos los gráficos, en color azul se representa el PSD de un animal control y en rojo el PSD de un animal restringido en (A) pre-sesión-REC; (B) prueba-REC; (C) post-sesión-REC; (D) pre-sesión-REM; (E) prueba-REM; y (F) post-sesión-REM.

Para evaluar las diferencias en la densidad espectral de potencia en las condiciones control y restringido en los distintos tiempos, comparamos la amplitud máxima de cada banda de interés: *gamma bajo* y *gamma alto* de cada uno de los animales (figura 9). A partir de los análisis, se obtuvo que no hubo efecto de la restricción de movimiento durante la recuperación reciente (REC) de la memoria espacial para la oscilación de *gamma bajo* ($P = 0,9025$; ANOVA de dos vías; Fig. 9-A) y tampoco efecto del tiempo ($P = 0,4733$; ANOVA de dos vías; Fig. 9-A). De manera similar, en *gamma alto* durante la recuperación reciente de la memoria espacial, tampoco se observaron diferencias significativas debido a la restricción de movimiento ($P = 0,1351$; ANOVA de dos vías;

Comentado [IN15]: Poner atención a estos errores en donde falta una letra o cosas parecidas, están muy presentes en el escrito.

Otra cosa: a qué le llamas amplitud? Es poder espectral? No me queda claro

Fig. 9-B) ni en los tiempos ($P = 0,8360$; ANOVA de dos vías; Fig. 9-B). Por lo tanto, se sugiere que, durante la recuperación reciente de la memoria espacial, la restricción de movimiento no afectó el PSD en *gamma bajo* ni en *gamma alto*.

Muy por el contrario, en la recuperación remota de la memoria espacial (REM), si se observó un efecto de la restricción de movimiento en el PSD de *gamma bajo* ($P = 0,0081$; ANOVA de dos vías; Fig. 9-C), sin embargo, no hubo efecto por parte del tiempo en los PSD de *gamma bajo* ($P = 0,3060$; ANOVA de dos vías; 9-C). Interesantemente, tras el análisis encontramos resultados similares en *gamma alto* durante la recuperación remota de la memoria espacial. Se observó un efecto significativo de la restricción de movimiento ($P < 0.0001$; ANOVA de dos vías; Fig. 9-D). Esta diferencia fue particularmente significativa durante tiempo de "Prueba" ($P = 0,0367$; comparaciones múltiples de Bonferroni post hoc al ANOVA de dos vías; Fig. 9-D) y en la post-sesión de la recuperación remota de la memoria espacial ($P = 0,0017$; comparaciones múltiples de Bonferroni post hoc al ANOVA de dos vías; Fig. 9-D), mientras que, no se observó un efecto significativo en la pre-sesión ($P = 0,1496$; comparaciones múltiples de Bonferroni post hoc al ANOVA de dos vías). Adicionalmente, no hubo efecto del tiempo en *gamma alto* de la recuperación remota de la memoria espacial ($P = 0,4655$; ANOVA de dos vías; Fig. 9-D). Por lo tanto, se sugiere que, durante la recuperación remota de la memoria espacial, la restricción de movimiento disminuyó el PSD tanto en *gamma bajo* como en *gamma alto*.

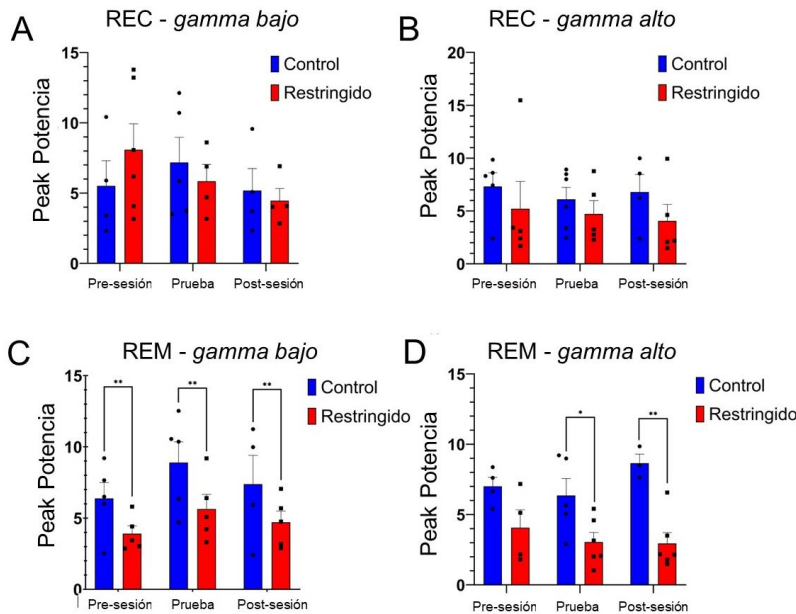


Figura 9: Comparación de los PSD durante la recuperación reciente y remota de la memoria espacial en pre-sesión, prueba y post-sesión. Para todas las figuras, las barras azules representan a los animales controles y las barras rojas a los animales restringidos. (A) Comparación

de la amplitud máxima de *gamma bajo* durante REC. (B) Comparación de la amplitud máxima de *gamma alto* durante REC. (C) Comparación de la amplitud máxima de *gamma bajo* durante REM. (D) Comparación de la amplitud máxima de *gamma alto* durante REM. *: $p < 0.05$. **: $p = 0.001$

6.7 POTENCIALES RELACIONADOS A EVENTOS (ERP) PREVIO Y POSTERIOR A LA EJECUCIÓN DE TAREAS DE RECUPERACIÓN DE LA MER EN VIGILIA PASIVA.

Una vez que detectamos los SWRs hipocampales y registramos y analizamos la actividad *gamma* de la mPFC, medimos si la restricción de movimiento afectó la sincronización temporal de estos eventos a través de los Potenciales Relacionados a Eventos (ERP). En primer lugar, evaluamos este acoplamiento en la pre-sesión y post-sesión para *gamma bajo* (Fig. 10). El análisis reveló diferencias significativas entre los ERP de los animales restringidos y control en la recuperación reciente de la MER para *gamma bajo* en la pre-sesión (P: $P = 0,0001$; Prueba de Mann-Whitney; Fig. 10-A-C) y post-sesión (P: $P = 0,0001$; Prueba de Mann-Whitney; Fig. 10-B-C). Sin embargo, en el caso de la pre-sesión solo se observan diferencias entre los ERP de ambas condiciones y no a un efecto directo de los SWR sobre *gamma bajo*, como lo muestra el mapa de calor, donde cada banda representa el registro de un animal y con colores, la amplitud de *gamma bajo* en función del momento en que emergen los SWRs (punto 0, marcado con una línea punteada). Situación distinta observamos en la post-sesión, donde 20ms después de que emergen los SWRs, se observa un aumento significativo de la amplitud de *gamma bajo* (fig. D para el control; E para la restricción de movimiento; y E ERP). Por lo tanto, sugerimos que la restricción de movimiento mejora el acoplamiento entre los SWR hipocampales y *gamma bajo* de la mPFC después de la sesión de prueba (post-sesión) de recuperación reciente de la MER. De la misma forma, analizamos este acoplamiento entre los SWRs y *gamma bajo* de la mPFC en la recuperación remota de la MER. El análisis reveló que hubo diferencias significativas entre las condiciones control y restringido, tanto para la pre-sesión (P: $P = 0,0001$; Prueba de Mann-Whitney; Fig. 10-I) como para la post-sesión (P: $P = 0,0001$; Prueba de Mann-Whitney; Fig. 10-L). Durante la pre-sesión, se observa que ambas condiciones responden con un aumento de la amplitud de *gamma bajo* al emerger un SWRs, observándose un mayor acoplamiento en la condición control (Fig. 10-G-H). Interesantemente, en la post-sesión, se observa que hubo efecto de la restricción de movimiento sobre el acoplamiento de los SWRs y *gamma bajo* de la mPFC, con un aumento del acoplamiento 20 ms después de que emergen los SWRs (Fig. 10-K), fenómeno que no ocurre en la condición control (fig. 10-J). Por lo tanto, sugerimos que la restricción de movimiento mejora el acoplamiento entre los SWRs hipocampales y *gamma bajo* de la mPFC, durante la post-sesión de la recuperación remota de la MER.

Acoplamiento de los SWRs y *gamma bajo* de la mPFC durante la pre-sesión y post-sesión de la recuperación reciente y remota de la MER en

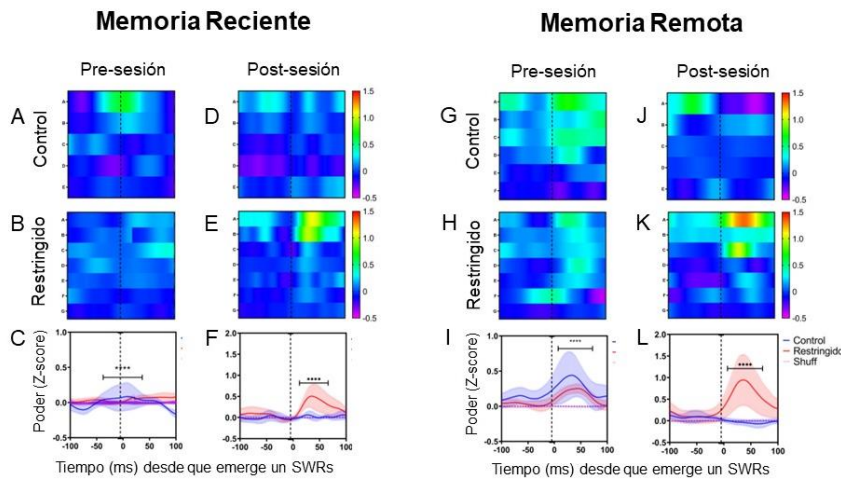


Figura 10: Efecto de la restricción de movimiento en el acoplamiento de los SWRs hipocámpales y *gamma bajo* de la mPFC durante la pre-sesión y post-sesión de la recuperación reciente y remota de la MER: Representación visual de los ERP en forma de mapa de calor de (A) animales control (n = 5) y (B) animales restringidos (n = 7) para *gamma bajo*, durante la pre-sesión de la recuperación reciente de la MER. Cada banda horizontal representa a un animal, mientras que la abscisa muestra el tiempo. La línea punteada central indica el momento en que emerge SWRs en el HPC. (C) Gráfico del ERP que muestra la potencia de *gamma bajo* en función del tiempo en que emerge un SWRs (punto cero) durante la pre-sesión de la recuperación reciente de la MER. En azul se puede observar a los animales control, en rojo a los animales restringidos y en lila el *Shuffling*. (D y F) Representación visual de los ERP de (D) los animales control y (E) animales restringidos para *gamma bajo*, durante la post-sesión de la recuperación reciente de la MER. (F) Gráfico del ERP durante la post-sesión de la recuperación reciente de la MER para *gamma bajo*. (G y H) Representación visual de los ERP de (G) los animales control y (H) animales restringidos para *gamma bajo*, durante la pre-sesión de la recuperación remota de la MER. (I) Gráfico del ERP durante la pre-sesión de la recuperación remota de la MER para *gamma bajo*. (J y K) Representación visual de los ERP de (J) los animales control y (K) animales restringidos para *gamma bajo*, durante la post-sesión de la recuperación remota de la MER. (L) Gráfico del ERP durante la post-sesión de la recuperación remota de la MER para *gamma bajo*. **el orden de las bandas horizontales en los mapas de calor está ordenado desde "mayor acoplamiento" a "menor acoplamiento"*.

Posteriormente, evaluamos este acoplamiento en la pre-sesión y post-sesión para *gamma alto* en la recuperación reciente y remota de la MER (Fig. 11). El análisis reveló que la restricción de movimiento mejoró el acoplamiento de lo SWRs y *gamma alto* de la mPFC durante la pre-sesión (P: P = 0,0001; Prueba de Mann-Whitney; Fig. 11-C) y post-sesión (P: P = 0,0001; Prueba de Mann-

Whitney; Fig. 11-F), suceso contrario a lo que se observa en la condición control, donde parece no emerger *gamma alto* durante la pre-sesión (fig. 11-A) y post-sesión (fig. 11-D). Por lo tanto, sugerimos que la restricción de movimiento mejora el acoplamiento de los SWRs y *gamma alto* de la mPFC durante la pre y post-sesión de la recuperación reciente de la MER. De la misma forma, evaluamos el acoplamiento de los SWRs y *gamma alto* pre y post-sesión de recuperación remota de la MER. El análisis reveló que la restricción de movimiento afectó el acoplamiento antes de que emergieran los SWRs ($P = 0,0001$; Prueba de Mann-Whitney; Fig. 11-I), sin embargo, se observa un acoplamiento similar con *gamma alto* de la mPFC después de que emergen los SWRs en la condición control y con restricción de movimiento (Fig. 11-G-H-I). Finalmente, analizamos la post-sesión de la recuperación remota de la MER, en donde observamos que, nuevamente el efecto de la restricción de movimiento mejoró el acoplamiento de los SWRs y *gamma alto* de la mPFC ($P = 0,0001$; Prueba de Mann-Whitney; Fig. 11-L). Por lo tanto, sugerimos que la restricción de movimiento mejora el acoplamiento de los SWRs y *gamma alto* de la mPFC durante la pre y post-sesión de la recuperación remota de la MER.

Acoplamiento de los SWRs y *Gamma alto* de la mPFC durante la pre-sesión y post-sesión de la recuperación reciente y remota de la MER

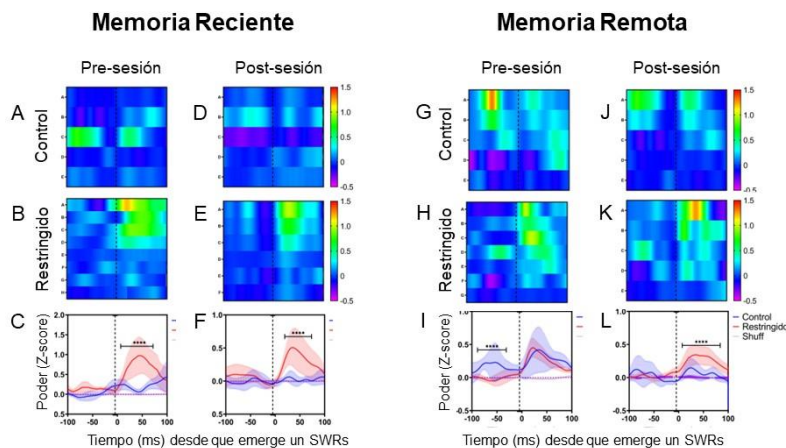


Figura 11: Efecto de la restricción de movimiento en el acoplamiento de los SWRs hipocámpales y *gamma alto* de la mPFC durante la pre-sesión y post-sesión de la recuperación reciente y remota de la MER: (A). Representación visual de los ERP en forma de mapa de calor de (A) animales control ($n = 5$) y (B) animales restringidos ($n = 8$) para *gamma alto*, durante la pre-sesión de la recuperación reciente de la MER. Cada banda horizontal representa a un animal, mientras que la abscisa muestra el tiempo. La línea punteada central indica el momento en que emerge SWRs en el HPC. (C) Gráfico del ERP que muestra la potencia de *gamma alto* en función del tiempo en que emerge un SWRs (punto cero) durante la pre-sesión de la recuperación reciente de la MER. En azul se puede observar a los animales control, en rojo a los animales restringidos y en lila el *Shuffling*. (D y F) Representación visual de los ERP de (D) los animales control y (E) animales restringidos para *gamma alto*, durante la post-sesión de la recuperación reciente de la MER. (F) Gráfico del ERP durante la post-sesión de la recuperación reciente de la MER para *gamma*

alto. (G y H) Representación visual de los ERP de (G) los animales control y (H) animales restringidos para *gamma bajo*, durante la pre-sesión de la recuperación remota de la MER. (I) Gráfico del ERP durante la pre-sesión de la recuperación remota de la MER para *gamma alto*. (J y K) Representación visual de los ERP de (J) los animales control y (K) animales restringidos para *gamma alto*, durante la post-sesión de la recuperación remota de la MER. (L) Gráfico del ERP durante la post-sesión de la recuperación remota de la MER para *gamma alto*. **el orden de las bandas horizontales en los mapas de calor está ordenado desde “mayor acoplamiento” a “menor acoplamiento”.*

6.8 POTENCIALES RELACIONADOS A EVENTOS (ERP) DURANTE LA PRUEBA DE RECUPERACIÓN DE MEMORIA RECIENTE Y REMOTA DE LA MER EN VIGILIA PASIVA.

Finalmente, evaluamos si la restricción de movimiento afectó el acoplamiento entre los SWRs hipocampales y *gamma* de la mPFC durante la recuperación reciente y remota de la MER (Fig. 12). El análisis reveló que, durante la recuperación reciente de la MER, hubo diferencias significativas entre los animales con restricción de movimiento y aquellos no restringidos ($P = 0,0001$; Prueba de Mann-Whitney; Fig. 12-A-B-C). Sin embargo, el patrón de aumento de amplitud (que se puede observar en la fig. A y B) no representan un efecto de acoplamiento a los SWRs. Este efecto cambia cuando evaluamos el acoplamiento con *gamma alto*, en donde podemos observar el efecto de la restricción de movimiento, disminuyendo el acoplamiento antes de que emerjan los SWRs ($P = 0,0001$; Prueba de Mann-Whitney; Fig. 12-F). Sin embargo, como se observa en la fig. 12-D, E y F, ambas condiciones muestran acoplamiento de *gamma alto* con los SWRs. Por lo tanto, no podemos concluir si hay efecto de la restricción de movimiento durante la recuperación reciente de la MER en el acoplamiento de los SWRs hipocampales y *gamma* de la mPFC. No obstante, a lo anterior, los análisis revelaron que, durante la recuperación remota de la MER, la restricción de movimiento disminuyó significativamente el acoplamiento entre los SWRs hipocampales y *gamma* de la mPFC, tanto para *gamma bajo* ($P = 0,0001$; Prueba de Mann-Whitney; Fig. 12-I) como para *gamma alto* ($P = 0,0001$; Prueba de Mann-Whitney; Fig. 12-L). Mientras que en los animales no restringidos podemos observar este acoplamiento después de los 20ms en *gamma bajo* (fig. 12-G) y *gamma alto* (fig. 12-J), en los animales restringidos observamos un patrón aleatorio de aumento de amplitud en *gamma* (fig. 12-H-K). Por lo tanto, sugerimos que la restricción de movimiento disminuye el acoplamiento de los SWRs hipocampales con *gamma* de la mPFC durante la recuperación remota de la MER.

Acoplamiento de los SWRs y γ de la mPFC durante la sesión recuperación reciente y remota de la MER en

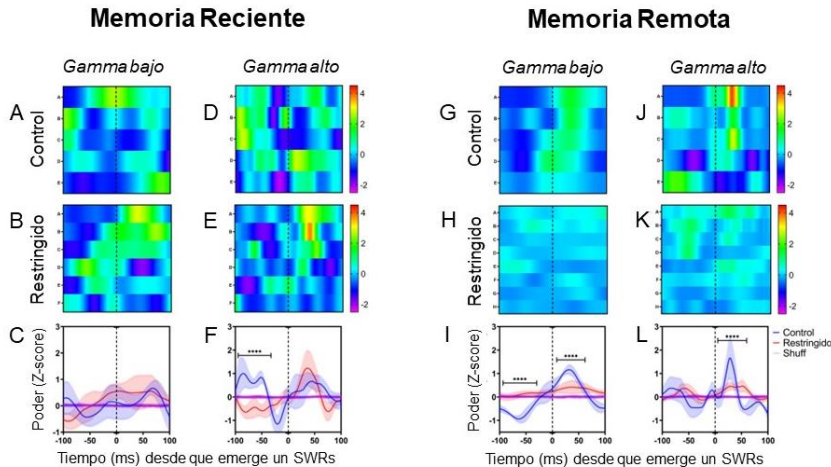


Figura 12: Efecto de la restricción de movimiento en el acoplamiento de los SWRs hipocámpales y γ de la mPFC durante la recuperación reciente y remota de la MER: (A). Representación visual de los ERP en forma de mapa de calor de (A) animales control ($n = 5$) y (B) animales restringidos ($n = 6$) para γ bajo, durante la recuperación reciente de la MER. (C) Gráfico del ERP que muestra la potencia de γ bajo en función del tiempo en que emerge un SWRs (punto cero) durante la recuperación reciente de la MER. (D y F) Representación visual de los ERP de (D) los animales control y (E) animales restringidos para γ bajo, durante la recuperación reciente de la MER. (F) Gráfico del ERP durante la recuperación reciente de la MER para γ alto. (G y H) Representación visual de los ERP de (G) los animales control y (H) animales restringidos para γ bajo, durante la recuperación remota de la MER. (I) Gráfico del ERP durante la recuperación remota de la MER para γ bajo. (J y K) Representación visual de los ERP de (J) los animales control y (K) animales restringidos para γ alto, durante la recuperación remota de la MER. (L) Gráfico del ERP durante la recuperación remota de la MER para γ alto. *el orden de las bandas horizontales en los mapas de calor está ordenado desde "mayor acoplamiento" a "menor acoplamiento".

7. DISCUSIÓN

En este estudio, se exploraron los efectos de la restricción de movimiento sobre la recuperación de la memoria reciente y remota en la MER, y los efectos en el acoplamiento entre SWRs hipocampales y la actividad *gamma* de la mPFC, durante la vigilia pasiva. Los análisis revelaron que la restricción de movimiento no afectó la adquisición de la MER, no afectó la recuperación reciente de la MER, pero curiosamente, si disminuyó la recuperación remota de la MER. Por otro lado, desde el análisis de la actividad eléctrica cerebral, se obtuvo que las características de los SWRs hipocampales detectados durante la vigilia pasiva no se vio afectada por la restricción de movimiento. Contrario a eso, si hubo un efecto de la restricción de movimiento en la actividad *gamma baja* y *alta* de la mPFC, en donde se encontró una disminución de la amplitud máxima (*peak*) antes, durante y después de las sesiones de recuperación reciente y remota de la MER. Finalmente, los análisis revelaron que, durante la pre y post-sesión a la recuperación reciente y remota de la MER, la restricción de movimiento aumento el acoplamiento de los SWRs y *gamma* de la mPFC. Efecto contrario se observó durante la prueba de recuperación remota de la MER, en donde la restricción de movimiento disminuyo el acoplamiento de los SWRs y *gamma* de la mPFC.

7.1 LA RESTRICCIÓN DE MOVIMIENTO DETERIORÓ LA RECUPERACIÓN REMOTA DE LA MER.

Se encontró que, en los resultados conductuales, la restricción de movimiento no afectó la adquisición ni la recuperación reciente de la MER. Contrario a lo anterior, si observó un efecto de la restricción de movimiento en la recuperación remota de la MER, lo cual se evidenció en un aumento de la latencia primaria y del número de errores cometidos en la prueba del laberinto de Barnes. Estos resultados sugieren que la capacidad de los animales para recuperar la MER se ve comprometida cuando se altera el acoplamiento de los SWRs hipocampales con las oscilaciones *gamma* en la mPFC. Por lo tanto, parece ser que esta sincronización es crucial la recuperación remota de la MER.

Respecto a los resultados conductuales de la recuperación reciente y remota de la MER, la restricción de movimiento no afectó el rendimiento de todos los animales por igual, observándose al menos dos subgrupos (fig. 4-Q y 4-R): un grupo que obtuvo un rendimiento similar a los controles y un grupo con un rendimiento muy deteriorado. Esta variabilidad en el rendimiento sugiere la existencia de diferencias individuales en la resiliencia frente a la restricción de movimiento. Algunos animales parecen ser **resilientes** a los efectos negativos de la restricción de movimiento, manteniendo un rendimiento comparativamente alto en las tareas de recuperación de memoria. En contraste, otros animales muestran una **susceptibilidad** significativa, con un rendimiento deteriorado en las mismas tareas. Estos hallazgos son consistentes con la literatura que señala cómo el estrés crónico y la exposición a eventos amenazantes pueden tener efectos variados en función de la resiliencia individual (McEwen, 2012). La capacidad de algunos individuos para resistir los efectos negativos del estrés puede estar mediada por diferencias en la neuroplasticidad y la regulación del eje hipotalámico-pituitario-adrenal (HPA), así como por factores genéticos y epigenéticos que modulan la respuesta al estrés (McEwen, 2006; Kim & Diamond, 2002). Esto sugiere que para próximos estudios se considere la variabilidad individual de los animales para analizar tanto los resultados conductuales como electrofisiológicos. Del mismo modo, se hace relevante analizar con marcadores biológicos como la ganancia de peso, niveles de cortisol, presencia de citoquinas proinflamatorias, alteraciones en la arquitectura neuronal, entre otras (McEwen; 2020; 2012; 2006) si el protocolo de restricción de movimiento utilizado en este estudio generó efectivamente estrés en todos los animales sometidos a dicho tratamiento.

Finalmente, la duración de la restricción de movimiento pudo ser determinante en los efectos conductuales y electrofisiológicos observados. En este estudio, la restricción de movimiento se aplicó durante solo 7 días, lo cual no afectó la recuperación reciente de la MER a nivel conductual (fig. 4-Q y 4-R), ni en el acoplamiento de los SWRs hipocampales con las oscilaciones *gamma* de la mPFC

(fig. 12-C y 12-F). Tampoco se observó un impacto en el rendimiento durante los días de adquisición (fig. 4-O y 4-P). Sin embargo, otros estudios que han aplicado protocolos más prolongados han encontrado alteraciones significativas en la memoria de trabajo espacial y la adquisición de la MER (Conrad et al., 2010; Cerqueira et al., 2007). Por lo tanto, se sugiere que la duración de la restricción de movimiento podría ser un factor crucial que determine los efectos sobre la memoria y el acoplamiento entre HPC y mPFC.

7.2 LA RESTRICCIÓN DE MOVIMIENTO NO AFECTÓ LAS CARACTERÍSTICAS DE LOS SWRS HIPOCAMPALES DETECTADOS EN VIGILIA PASIVA.

En cuanto a las características de los SWRs hipocampales, se encontró que la restricción de movimiento aumentó la frecuencia de los SWRs durante la recuperación reciente de la MER (fig. 7-C). Sin embargo, no afectó a ninguna otra característica de los SWRs, ya sea amplitud, duración, incidencia o frecuencia en la recuperación remota (fig. 7). Estos resultados son consistentes con investigaciones previas realizadas por Tomar et al. (2021) en condiciones similares. Aunque este estudio no abordó los efectos a nivel celular de la restricción de movimiento, otros estudios en los que se aplicó este protocolo durante 21 días encontraron retracción y simplificación de las dendritas apicales de las neuronas piramidales de CA3, junto con alteraciones en la conectividad entre DG y CA3 (McLaughlin et al., 2007; Abidin et al., 2004; McKittrick et al., 2000; McEwen, 1999; Magariños et al., 1997). Estas alteraciones no se produjeron con 7 o 14 días de protocolo, lo que sugiere que la restricción de movimiento en este estudio no fue suficiente para inducir cambios estructurales significativos en el HPC. Por lo tanto, es posible que la restricción de movimiento no haya afectado la formación ni las propiedades de los SWRs, dado que quizás no indujo alteraciones a nivel de HPC.

7.3 LA RESTRICCIÓN DE MOVIMIENTO DISMINUYÓ LA AMPLITUD MÁXIMA DE GAMMA BAJO Y ALTO DURANTE LA RECUPERACIÓN REMOTA DE LA MER EN VIGILIA PASIVA.

Los resultados obtenidos revelaron efectos de la restricción de movimiento en la actividad *gamma* en la mPFC y la amplitud máxima durante la recuperación de la MER (Fig. 9). En la fase de recuperación reciente de la MER, no se observó un efecto de la restricción de movimiento en la amplitud de *gamma baja* ni *gamma alta*, indicando una ausencia de efectos durante esta fase. Sin embargo, durante la recuperación remota de la MER, encontramos que la restricción de movimiento disminuyó significativamente la amplitud máxima de *gamma bajo* y *gamma alto*, principalmente durante la tarea de recuperación remota de la memoria y posterior a ella (post-sesión). Por lo tanto, se sugiere que la restricción de movimiento afectó de manera específica la actividad *gamma* de la mPFC durante la recuperación remota de la MER.

La relevancia de la amplitud de las oscilaciones *gamma* radica en su relación con la sincronización neuronal y la plasticidad sináptica, procesos esenciales para la memoria y el aprendizaje. Una mayor amplitud de las oscilaciones *gamma* indica una mayor sincronización de las neuronas en un área específica, lo que facilita la comunicación eficiente entre redes neuronales y la integración de información (Vásquez-Marrufo, 2017; Buzsáki, 2015; Fries, 2005; Colgin, 2013). Así mismo, se ha observado que las capas que dan origen a la actividad *gamma* en la mPFC (capa II/III y capa V) son precisamente las más sensibles a eventos amenazantes (Xu et al., 2019; Yang, 2015; Dias-Ferreira et al., 2009; Arnsten, 2009; Radley et al., 2008; Radley et al., 2004). Por lo tanto, la disminución de la amplitud de *gamma* observada sugiere que la restricción de movimiento podría haber reducido la sincronización neuronal en la mPFC.

Estos hallazgos son consistentes con otros estudios en donde se ha observado que el estrés crónico y otras formas de restricción de movimiento pueden alterar la actividad *gamma* (McEwen, 2006; Kim & Diamond, 2002). Además, la mPFC es particularmente vulnerable a los efectos del

Comentado [IN16]: Aun no me queda claro a qué te refieres con amplitud máxima. Imagino que con la descripción en la parte de métodos me quedará más claro.

estrés y la restricción de movimiento, como se ha observado en la alteración de la actividad *gamma*, mientras que los SWRs hipocampales no mostraron cambios significativos, lo que sugiere una mayor susceptibilidad de la mPFC a estas condiciones adversas (Liston et al., 2006; McEwen, 2006; Kim & Diamond, 2002; Arnsten, 2009).

7.4 LA RESTRICCIÓN DE MOVIMIENTO AUMENTA EL ACOPLAMIENTO DE LOS SWRS Y GAMMA DE LA MPFC EN LA PRE-SESIÓN Y POST-SESIÓN DE LA RECUPERACIÓN RECIENTE Y REMOTA DE LA MER

Encontramos que, durante la post-sesión a la recuperación reciente y remota de la MER, la restricción de movimiento aumentó el acoplamiento de los SWRs y la actividad *gamma baja* de la mPFC (Fig. 10-F y 10-L). Este aumento puede estar relacionado posiblemente con los efectos del estrés inducido por la restricción de movimiento. El estrés crónico ha demostrado impactar negativamente la plasticidad sináptica y la función neuronal en el HPC y la mPFC (Kim & Diamond, 2002). La mayor sincronización observada puede reflejar un estado compensatorio en el cual el cerebro intenta mitigar los efectos negativos del estrés para mantener la funcionalidad de la red de memoria mediante una mayor coordinación neuronal (McEwen, 2012; Liston et al., 2009). Además, el estrés puede inducir la liberación de glucocorticoides, que afectan la conectividad y la eficiencia sináptica en la mPFC, potenciando la necesidad de una mayor sincronización *gamma* para sostener la recuperación de la memoria (Arnsten, 2009; Maren & Holmes, 2016). Esta sincronización aumentada podría representar un esfuerzo del cerebro por reforzar la integración de información y la plasticidad sináptica en respuesta al estrés crónico, lo cual es crucial para la formación y recuperación de memorias a largo plazo (Sweatt, 2016; Popova et al., 2017). Interesantemente, los animales restringidos que presentaron un mejor acoplamiento son los que tuvieron un mal desempeño en la recuperación remota de la MER. Por lo tanto, se sugiere como hipótesis que el aumento del acoplamiento responde a mecanismos compensatorios producidos por la restricción de movimiento.

Se observó un escenario similar en el acoplamiento de los SWRs y la *gamma alta* durante la pre y post-sesión a la recuperación reciente y remota de la MER (fig. 11-C, 11-F y 11-L), donde la restricción de movimiento también aumentó la sincronización. La actividad *gamma alta* está asociada con procesos de integración de información y comunicación entre áreas cerebrales distantes, siendo crucial para funciones cognitivas complejas como la memoria y la atención (Colgin, 2013). Un aumento en la sincronización de *gamma alta* podría indicar un esfuerzo del cerebro por compensar los efectos negativos de la restricción de movimiento, promoviendo una mayor funcionalidad de las redes de memoria (Fries, 2005; Buzsáki & Wang, 2012). De esta manera, hipotetizamos que el aumento del acoplamiento de los SWRs y *gamma* de la mPFC se debe a mecanismos compensatorios a los efectos negativos producidos por la restricción de movimiento.

7.5 LA RESTRICCIÓN DE MOVIMIENTO DETERIORÓ EL ACOPLAMIENTO ENTRE LOS SWRS HIPOCAMPALES Y LA ACTIVIDAD GAMMA DE LA MPFC DURANTE LA RECUPERACIÓN RECIENTE Y REMOTA DE LA MER.

El acoplamiento entre los SWRs hipocampales y la actividad *gamma* en la mPFC mostró cambios significativos durante la tarea de recuperación remota de la MER (fig. 12-I y 12-L). El análisis mostró que la restricción de movimiento disminuyó el acoplamiento de los SWRs en ambas bandas de frecuencias: *gamma baja* y *gamma alta*. Es posible que esta disminución en el acoplamiento esté relacionado con alteraciones en la actividad *gamma* de la mPFC, y no con alteraciones en los SWRs, dado que no se vieron afectados por la restricción de movimiento. Entrando en detalle, sugerimos que esta reducción en el acoplamiento podría deberse a la afectación de las capas II/III y V de la mPFC, que son claves para el origen de las oscilaciones *gamma* y son sumamente susceptibles a

eventos amenazantes (Xu et al., 2019; Yang, 2015; Dias-Ferreira et al., 2009; Arnsten, 2009; Radley et al., 2008; Radley et al., 2004). Estas oscilaciones son generadas por la interacción entre las interneuronas inhibitorias de tipo parvalbúmina (PV) y las neuronas piramidales excitatorias. Las interneuronas PV, ubicadas principalmente en las capas profundas de la mPFC, juegan un papel crucial en la generación de ritmos *gamma* a través de la inhibición sincrónica y rápida de las neuronas piramidales (Sohal et al., 2009; Buzsáki & Wang, 2012). Entonces, la disminución del acoplamiento podría reflejar una desregulación de este mecanismo de sincronización, resultando en una menor eficiencia en la comunicación neuronal y, por ende, en un deterioro de la consolidación y recuperación de la memoria (Colgin, 2013; Buzsáki & Wang, 2012; Sohal et al., 2009). Otros estudios han demostrado que el acoplamiento entre SWRs y actividad *gamma* en la mPFC es crucial para la reactivación y transferencia de memorias desde el HPC a la mPFC, sugiriendo que la restricción de movimiento podría estar interfiriendo con estos procesos esenciales (Jadhav et al., 2012; Yu & Frank, 2015). Por lo tanto, sugerimos que, a partir de la disminución del acoplamiento observada, la restricción de movimiento puede estar comprometiendo la eficiencia de las redes neuronales de la mPFC, lo que resulta en un deterioro conductual (deterioro en la memoria) y neurofisiológico en la recuperación remota de la MER.

Considerando los resultados previos, que evidencian el deterioro en la recuperación remota de la MER en términos conductuales, manifestado por un incremento en la latencia primaria y el número de errores, así como la reducción significativa en la amplitud máxima de *gamma baja* y *gamma alta* en la mPFC durante la fase de recuperación remota de la MER en animales restringidos; y, finalmente, la disminución observada en el acoplamiento entre los SWRs hipocampales y la *gamma* de la mPFC, se plantea la existencia de una relación entre la exposición a la restricción de movimiento, el deterioro en la recuperación remota de la MER y la disminución del acoplamiento SWRs-*gamma*. Este hallazgo establece un correlato significativo entre los aspectos conductuales y neurofisiológicos del impacto de la restricción de movimiento en la función cognitiva, resaltando las interacciones entre la actividad neural y la memoria (McEwen & Morrison, 2013; Liston et al., 2009). Estos resultados subrayan la importancia de la sincronización neuronal en la mPFC para la recuperación efectiva de memorias a largo plazo y sugieren que la restricción de movimiento puede interferir con estos mecanismos, afectando tanto el rendimiento conductual como la actividad electrofisiológica subyacente.

8. CONCLUSIÓN

En este estudio, investigamos los efectos de la restricción de movimiento sobre la recuperación reciente y remota de la MER y su impacto en el acoplamiento entre los SWRs hipocampales y la actividad *gamma* de la mPFC durante la vigilia pasiva. Nuestros hallazgos revelan que la restricción de movimiento no afectó la adquisición de la MER ni la recuperación reciente, pero sí deterioró la recuperación remota, evidenciado por el aumento en la latencia primaria y el número de errores en la prueba del laberinto de Barnes. Esto sugiere una disrupción en la capacidad de los animales para recuperar memorias a largo plazo cuando se altera la sincronización entre el HPC y la mPFC.

Desde una perspectiva electrofisiológica, observamos que las características de los SWRs hipocampales no fueron afectadas por la restricción de movimiento, pero sí hubo una disminución en la amplitud máxima de las oscilaciones *gamma baja* y *alta* en la mPFC durante las sesiones de recuperación reciente y remota. Además, la restricción de movimiento aumentó el acoplamiento de los SWRs y *gamma* de la mPFC en las fases pre y post-sesión, lo cual podría representar un mecanismo compensatorio del cerebro para mitigar los efectos negativos de la restricción de movimiento. Sin embargo, durante la fase de recuperación remota de la MER, se observó una

Comentado [IN17]: En la conclusion solo va informacion referente a lo descubierto en esta tesis.

disminución en el acoplamiento, lo cual puede deberse a alteraciones en las capas II/III y V de la mPFC, esenciales para la generación de las oscilaciones *gamma*.

Estos hallazgos son consistentes con estudios previos que han demostrado cómo el estrés crónico y la restricción de movimiento pueden afectar la actividad *gamma* y, en consecuencia, la memoria (Kim & Diamond, 2002; McEwen, 2006). La mPFC es particularmente vulnerable a estas condiciones adversas, lo que sugiere que la restricción de movimiento compromete la eficiencia de las redes neuronales involucradas en la memoria, afectando tanto el rendimiento conductual como la actividad electrofisiológica subyacente.

BIBLIOGRAFÍA

1. Abidin, I., Köhler, T., Weiler, E., Zoidl, G., Eysel, U. T., & Arckens, L. (2004). Reduced apoptosis and increased neurogenesis in the DG of adult rats following treatment with the neurotrophic factor fibroblast growth factor-2. *European Journal of Neuroscience*, 19(6), 1499-1508.
2. Abidin, I., Yargıçođlu, P., Agar, A., Gümüslü, S., Aydın, S., Öztürk, O., & Sahin, E. (2004). The effect of chronic restraint stress on spatial learning and memory: relation to oxidant stress. *The International journal of neuroscience*, 114(5), 683-699. <https://doi.org/bibliotecadigital.uv.cl/10.1080/00207450490430543>
3. Adamantidis, A. R., Gutierrez Herrera, C., & Gent, T. C. (2019). Oscillating circuitries in the sleeping brain. *Nature reviews. Neuroscience*, 20(12), 746-762. <https://doi.org/10.1038/s41583-019-0223-4>
4. Agster, K. L., & Burwell, R. D. (2009). Cortical efferents of the perirhinal, postrhinal, and entorhinal cortices of the rat. *Hippocampus*, 19(12), 1159-1186.
5. Amodio DM, Bartholow BD, Ito TA. Tracking the dynamics of the social brain: ERP approaches for social cognitive and affective neuroscience. *Soc Cogn Affect Neurosci*. 2014 Mar;9(3):385-93. doi: 10.1093/scan/nst177. Epub 2013 Dec 5. PMID: 24319116; PMCID: PMC3980796.
6. Arnsten A. F. (2009). Stress signalling pathways that impair prefrontal cortex structure and function. *Nature reviews. Neuroscience*, 10(6), 410-422. <https://doi.org/10.1038/nrn2648>
7. Baeg, E. H., Kim, Y. B., Huh, K., Mook-Jung, I., Kim, H. T., & Jung, M. W. (2003). Dynamics of population code for working memory in the prefrontal cortex. *Neuron*, 40(1), 177-188. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(03\)00597-x](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(03)00597-x)
8. Baeg, E. H., Kim, Y. B., Jang, J., Kim, H. T., Mook-Jung, I., & Jung, M. W. (2007). Fast spiking and regular spiking neural correlates of fear conditioning in the medial prefrontal cortex of the rat. *Cerebral Cortex*, 17(10), 2384-2393.
9. Baeg, E. H., Kim, Y. B., Kim, J., Ghim, J. W., Kim, J. J., & Jung, M. W. (2007). Learning-induced enduring changes in functional connectivity among prefrontal cortical neurons. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 27(4), 909-918. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4759-06.2007>
10. Baeg, E., Kim, Y. B., Huh, K., Mook-Jung, I., Kim, H. T., & Jung, M. W. (2003). Dynamics of population code for working memory in the prefrontal cortex. *Neuron*, 40(1), 177-188.
11. Barnhart, C. D., Yang, D., & Lein, P. J. (2015). Using the Barnes maze to assess spatial learning and memory in weanling mice. *PLOS ONE*, 10(4), e0123520.
12. Başar E. (2013). Brain oscillations in neuropsychiatric disease. *Dialogues in clinical neuroscience*, 15(3), 291-300. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2013.15.3/ebasar>
13. Başar, E., Gölbaşı, B. T., Tülay, E., Aydın, S., & Başar-Erođlu, C. (2016). Best method for analysis of brain oscillations in healthy subjects and neuropsychiatric diseases. *International journal of psychophysiology : official journal of the International Organization of Psychophysiology*, 103, 22-42. <https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2015.02.017>

14. Benchenane, K., Peyrache, A., Khamassi, M., Tierney, P. L., Gioanni, Y., Battaglia, F. P., & Wiener, S. I. (2010). Coherent theta oscillations and reorganization of spike timing in the hippocampal-prefrontal network upon learning. *Neuron*, 66(6), 921–936. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.05.013>
15. Benchenane, K., Tiesinga, P. H., & Battaglia, F. P. (2010). Oscillations in the prefrontal cortex: a gateway to memory and attention. *Current Opinion in Neurobiology*, 20(2), 152-160.
16. Binder, M. D., Hirokawa, N., & Windhorst, U. (2019). *Encyclopedia of Neuroscience*. Springer Science & Business Media.
17. Binder, S., Lechinger, J., Absenger, M., Rösler, J., Herrmann, A., & Lang, U. E. (2019). Hippocampal sharp wave ripples recruit neurons in the prefrontal cortex during the awake state. *Nature Communications*, 10(1), 1-12.
18. Binder, Sonja, Matthias Mölle, Michael Lippert, Ralf Bruder, Sonat Aksamaz, Frank Ohl, J. Simon Wiegert, and Lisa Marshall (2019). "Monosynaptic Hippocampal-Prefrontal Projections Contribute to Spatial Memory Consolidation in Mice." *The Journal of Neuroscience* 39 (35): 6978–91. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2158-18.2019>
19. Biskamp, J., Bartos, M., & Sauer, J. F. (2017). Organization of prefrontal network activity by respiration-related oscillations. *Scientific reports*, 7, 45508. <https://doi.org/10.1038/srep45508>
20. Bowyer, S.M. Coherence a measure of the brain networks: past and present. *Neuropsychiatr Electrophysiol* 2, 1 (2016). <https://doi.org/10.1186/s40810-015-0015-7>
21. Buzsáki, G., Costas A. Anastassiou, and Christof Koch. (2012). "The Origin of Extracellular Fields and Currents — EEG, ECoG, LFP and Spikes." *Nature Reviews Neuroscience* 13 (6): 407–20. <https://doi.org/10.1038/nrn3241>.
22. Buzsáki, G. (1989). "Two-Stage Model of Memory Trace Formation: A Role for 'Noisy' Brain States." *Neuroscience* 31 (3): 551–70. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(89\)90423-5](https://doi.org/10.1016/0306-4522(89)90423-5).
23. Buzsáki, G. (2015). Hippocampal sharp wave-ripple: A cognitive biomarker for episodic memory and planning. *Hippocampus*, 25(10), 1073-1188.
24. Buzsáki, G. (2015). *Rhythms of the Brain*. Oxford University Press.
25. Buzsáki, G. (2015). *The brain from inside out*. Oxford University Press.
26. Buzsáki, G., & Tingley, D. (2018). Space and Time: The Hippocampus as a Sequence Generator. *Trends in cognitive sciences*, 22(10), 853–869. <https://doi.org/10.1016/j.tics.2018.07.006>
27. Buzsáki, G., & Wang, X.-J. (2012). Mechanisms of gamma oscillations. *Annual Review of Neuroscience*, 35, 203-225. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-062111-150444>
28. Buzsáki, G., Anastassiou, C. A., & Koch, C. (2012). The origin of extracellular fields and currents—EEG, ECoG, LFP and spikes. *Nature Reviews Neuroscience*, 13(6), 407-420.
29. Buzsáki, G., Horváth, Z., Urioste, R., Hetke, J., & Wise, K. (1992). High-frequency network oscillation in the hippocampus. *Science (New York, N.Y.)*, 256(5059), 1025–1027. <https://doi.org/10.1126/science.1589772>
30. Buzsáki, G., Leung, L. W. S., & Vanderwolf, C. H. (1983). "Cellular bases of hippocampal EEG in the behaving rat." *Brain Research Reviews*, 6(2), 139-171.
31. Buzsáki, György, and Edvard I Moser. (2013). "Memory, Navigation and Theta Rhythm in the Hippocampal-Entorhinal System." *Nature Neuroscience* 16 (2): 130–38. <https://doi.org/10.1038/nn.3304>.
32. Carr, M. F., Jadhav, S. P., & Frank, L. M. (2011). Hippocampal replay in the awake state: a potential substrate for memory consolidation and retrieval. *Nature Neuroscience*, 14(2), 147–153.
33. Cerqueira, J. J., Mailliet, F., Almeida, O. F., Jay, T. M., & Sousa, N. (2007). The prefrontal cortex as a key target of the maladaptive response to stress. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 27(11), 2781–2787. <https://doi.org/bibliotecadigital.uv.cl/10.1523/JNEUROSCI.4372-06.2007>

34. Chacana Véliz, L. (2019). Efecto del estrés crónico sobre la conectividad funcional del circuito hipocampo-prefrontal durante el aprendizaje de la memoria espacial de referencia (Tesis de magister). Universidad Santo Tomás, Viña del Mar, Chile.
35. Chen, C. C., & Yen, C. T. (2012). Changes in the amplitude of gamma oscillations in rat sensorimotor cortex during immobilization and their relation to synaptic plasticity. *Neuroscience*, 209, 225-232. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2012.02.038>
36. Cobar, L. F., Yuan, L., & Tashiro, A. (2017). Place cells and long-term potentiation in the hippocampus. *Neurobiology of learning and memory*, 138, 206–214. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2016.10.010>
37. Colgin L. L. (2011). Oscillations and hippocampal-prefrontal synchrony. *Current opinion in neurobiology*, 21(3), 467–474. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2011.04.006>
38. Colgin L. L. (2016). Rhythms of the hippocampal network. *Nature reviews. Neuroscience*, 17(4), 239–249. <https://doi.org/10.1038/nrn.2016.21>
39. Colgin, L. L. (2013). Mechanisms and functions of theta rhythms. *Annual Review of Neuroscience*, 36, 295-312. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-062012-170330>
40. Conrad C. D. (2010). A critical review of chronic stress effects on spatial learning and memory. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, 34(5), 742–755. <https://doi-org.bibliotecadigital.uv.cl/10.1016/j.pnpbp.2009.11.003>
41. Conrad, C. D., LeDoux, J. E., Magariños, A. M., & McEwen, B. S. (1999). Repeated restraint stress facilitates fear conditioning independently of causing hippocampal CA3 dendritic atrophy. *Behavioral neuroscience*, 113(5), 902–913. <https://doi-org.bibliotecadigital.uv.cl/10.1037//0735-7044.113.5.902>
42. Cousins, J. N., & Fernández, G. (2019). The impact of sleep deprivation on declarative memory. *Progress in brain research*, 246, 27–53. <https://doi-org.bibliotecadigital.uv.cl/10.1016/bs.pbr.2019.01.007>
43. Craig, M., Wolbers, T., & Watson, D. M. (2016). Passive rest facilitates the consolidation of spatial memory in humans. *Neurobiology of Learning and Memory*, 134, 93-102.
44. Csicsvari, J., Jamieson, B., Wise, K. D., & Buzsáki, G. (2003). Mechanisms of gamma oscillations in the hippocampus of the behaving rat. *Neuron*, 37(2), 311-322. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(02\)01169-8](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(02)01169-8)
45. Cutsuridis, V., & Taxisid, J. (2013). Deciphering the role of CA1 inhibitory circuits in sharp wave-ripple complexes. *Frontiers in systems neuroscience*, 7, 13. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2013.00013>
46. Dewar, M., Alber, J., Butler, C., Cowan, N., & Della Sala, S. (2012). Brief wakeful resting boosts new memories over the long term. *Psychological Science*, 23(9), 955-960.
47. Dias-Ferreira, E., Sousa, J. C., Melo, I., Morgado, P., Mesquita, A. R., Cerqueira, J. J., Costa, R. M., & Sousa, N. (2009). Chronic stress causes frontostriatal reorganization and affects decision-making. *Science (New York, N.Y.)*, 325(5940), 621–625. <https://doi-org.bibliotecadigital.uv.cl/10.1126/science.1171203>
48. Diekelmann, S., & Born, J. (2010). The memory function of sleep. *Nature reviews. Neuroscience*, 11(2), 114–126. <https://doi.org/10.1038/nrn2762>
49. Duman, R. S., & Monteggia, L. M. (2006). A neurotrophic model for stress-related mood disorders. *Biological Psychiatry*, 59(12), 1116-1127.
50. Eichenbaum H. (2017). Prefrontal-hippocampal interactions in episodic memory. *Nature reviews. Neuroscience*, 18(9), 547–558. <https://doi.org/10.1038/nrn.2017.74>
51. Eichenbaum, H., C Stewart, and Rg Morris. (1990). "Hippocampal Representation in Place Learning." *The Journal of Neuroscience* 10 (11): 3531–42. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.10-11-03531.1990>.

52. Eichenbaum, H. (2015). The organization of cognitive processes in the hippocampus: theoretical considerations and empirical evidence. *Annual Review of Neuroscience*, 18(1), 31-43.
53. Eichenbaum, H. (2017). The role of the hippocampus in navigation is memory. *Journal of Neurophysiology*, 117(4), 1785-1796.
54. Eickhoff, S.B., and V.I. Müller. (2015). "Functional Connectivity." In *Brain Mapping*, 187-201. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397025-1.00212-8>.
55. Ekstrom, Arne D., Hugo J. Spiers, Véronique D. Bohbot, and R. Shayna Rosenbaum. (2018). *Human Spatial Navigation*. Princeton University Press.
56. Engel, A. K., Fries, P., & Singer, W. (2001). Dynamic predictions: oscillations and synchrony in top-down processing. *Nature reviews. Neuroscience*, 2(10), 704-716. <https://doi.org/10.1038/35094565>
57. Epstein, Russell A., Eva Zita Patai, Joshua B. Julian, and Hugo J. Spiers. (2017). "The Cognitive Map in Humans: Spatial Navigation and Beyond." *Nature Neuroscience* 20 (11): 1504-13. <https://doi.org/10.1038/nn.4656>.
58. Eschenko, Oxana, Wiâm Ramadan, Matthias Mölle, Jan Born, and Susan J. Sara. (2008). "Sustained Increase in Hippocampal Sharp-Wave Ripple Activity during Slow-Wave Sleep after Learning." *Learning & Memory* 15 (4): 222-28. <https://doi.org/10.1101/lm.726008>.
59. Ethier, K., Le Marec, N., Rompré, P. P., & Godbout, R. (2001). Spatial strategy elaboration in egocentric and allocentric tasks following medial prefrontal cortex lesions in the rat. *Brain and cognition*, 46(1-2), 134-135. [https://doi.org/10.1016/S0278-2626\(01\)80050-6](https://doi.org/10.1016/S0278-2626(01)80050-6)
60. Ethier, N., & Poulin, J. F. (2001). Review on neural mechanisms underlying delayed matching- and nonmatching-to-sample tasks. *Behavioral Brain Research*, 123(2), 167-181.
61. Euston, D. R., Gruber, A. J., & McNaughton, B. L. (2012). The role of medial prefrontal cortex in memory and decision making. *Neuron*, 76(6), 1057-1070. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.12.002>
62. Fell, J., & Axmacher, N. (2011). The role of phase synchronization in memory processes. *Nature reviews. Neuroscience*, 12(2), 105-118. <https://doi.org/10.1038/nrn2979>
63. Fernández-Ruiz, A., Oliva, A., Fermino de Oliveira, E., Rocha-Almeida, F., Tingley, D., & Buzsáki, G. (2019). Long-duration hippocampal sharp wave ripples improve memory. *Science (New York, N.Y.)*, 364(6445), 1082-1086. <https://doi.org/10.1126/science.aax0758>
64. Frankland, Paul W., and Bruno Bontempi. (2005). "The Organization of Recent and Remote Memories." *Nature Reviews Neuroscience* 6 (2): 119-30. <https://doi.org/10.1038/nrn1607>.
65. Fries, Pascal. (2005). A mechanism for cognitive dynamics: neuronal communication through neuronal coherence. *Trends in cognitive sciences*, 9(10), 474-480. <https://doi.org/10.1016/j.tics.2005.08.011>
66. Fries, Pascal. (2015). "Rhythms for Cognition: Communication through Coherence." *Neuron* 88 (1): 220-35. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.09.034>
67. Friston, Karl J. 2011. "Functional and Effective Connectivity: A Review." *Brain Connectivity* 1 (1): 13-36. <https://doi.org/10.1089/brain.2011.0008>.
68. Funahashi, S. (2001). Neuronal mechanisms of executive control by the prefrontal cortex. *Neuroscience Research*, 39(2), 147-165.
69. Fuster J. M. (2001). The prefrontal cortex--an update: time is of the essence. *Neuron*, 30(2), 319-333. [https://doi-org.bibliotecadigital.uv.cl/10.1016/S0896-6273\(01\)00285-9](https://doi-org.bibliotecadigital.uv.cl/10.1016/S0896-6273(01)00285-9)
70. Fuster J. M. (2002). Frontal lobe and cognitive development. *Journal of neurocytology*, 31(3-5), 373-385. <https://doi.org/10.1023/a:1024190429920>
71. Fuster J. M. (2009). Cortex and memory: emergence of a new paradigm. *Journal of cognitive neuroscience*, 21(11), 2047-2072. <https://doi.org/10.1162/jocn.2009.21280>
72. Fuster, Joaquín M. (1997) *The Prefrontal Cortex-Anatomy Physiology, and Neuropsychology of the Frontal Lobe*. Third Edition. Lippincott-Raven, Philadelphia

73. Ghafarimoghadam, M., Mashayekh, R., Gholami, M., Fereydani, P., Shelley-Tremblay, J., Kandezi, N., Sabouri, E., & Motaghinejad, M. (2022). A review of behavioral methods for the evaluation of cognitive performance in animal models: Current techniques and links to human cognition. *Physiology & behavior*, 244, 113652. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2021.113652>
74. Girardeau, G., & Lopes-Dos-Santos, V. (2021). Brain dynamics supporting memory consolidation. *Current Opinion in Neurobiology*, 67, 85-94.
75. Girardeau, G., & Lopes-Dos-Santos, V. (2021). Brain neural patterns and the memory function of sleep. *Science (New York, N.Y.)*, 374(6567), 560–564. <https://doi.org/10.1126/science.abi8370>
76. Girardeau, G., & Lopes-Dos-Santos, V. (2021). Brain oscillations and neural ensembles during wake and sleep. *Current Opinion in Neurobiology*, 67, 1-8.
77. Girardeau, G., & Lopes-Dos-Santos, V. (2021). Sharp wave/ripples as a biomarker of memory. *Neurobiology of Learning and Memory*, 170, 107217.
78. Girardeau, G., Benchenane, K., Wiener, S. I., Buzsáki, G., & Zugaro, M. B. (2009). Selective suppression of hippocampal ripples impairs spatial memory. *Nature neuroscience*, 12(10), 1222–1223. <https://doi.org/10.1038/nn.2384>
79. Girardeau, G., Cei, A., & Zugaro, M. (2014). Learning-induced plasticity regulates hippocampal sharp wave-ripple drive. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 34(15), 5176–5183. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4288-13.2014>
80. Godsil, B. P., Kiss, J. P., Spedding, M., & Jay, T. M. (2013). The hippocampal-prefrontal pathway: the weak link in psychiatric disorders?. *European neuropsychopharmacology : the journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, 23(10), 1165–1181. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2012.10.018>
81. Gould, E., McEwen, B. S., Tanapat, P., Galea, L. A., & Fuchs, E. (1998). Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult tree shrew is regulated by psychosocial stress and NMDA receptor activation. *Journal of Neuroscience*, 18(23), 9929-9937.
82. Granon, S., & Poucet, B. (1995). Medial prefrontal lesions in the rat and spatial navigation: evidence for impaired planning. *Behavioral neuroscience*, 109(3), 474–484. <https://doi.org/10.1037//0735-7044.109.3.474>
83. Han, S., Ren, J., Li, Z., Wen, J., Jiang, B., & Wei, X. (2023). Deactivation of dorsal CA1 pyramidal neurons projecting to medial prefrontal cortex contributes to neuropathic pain and short-term memory impairment. *Pain*, 10.1097/j.pain.0000000000003100. Advance online publication. <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000003100>
84. Harris, A. Z., & Gordon, J. A. (2015). Long-range neural synchrony in behavior. *Annual review of neuroscience*, 38, 171–194. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-071714-034111>
85. Harrison, F. E., Hosseini, A. H., & McDonald, M. P. (2006). Endogenous anxiety and stress responses in water maze and Barnes maze spatial memory tasks. *Behavioural Brain Research*, 168(1), 52-60.
86. Harrison, F. E., Reiserer, R. S., Tomarken, A. J., & McDonald, M. P. (2006). Spatial and nonspatial escape strategies in the Barnes maze. *Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, 13(6), 809–819. <https://doi.org/10.1101/lm.334306>
87. Heidbreder, C. A., & Groenewegen, H. J. (2003). The medial prefrontal cortex in the rat: evidence for a dorso-ventral distinction based upon functional and anatomical characteristics. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 27(6), 555–579. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2003.09.003>
88. Helfrich, R. F., & Knight, R. T. (2019). Cognitive neurophysiology: Event-related potentials. In K. H. Levin & P. Chauvel (Eds.), *Clinical Neurophysiology: Basis and Technical Aspects* (Vol. 160, pp. 544-545). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64032-1.00036-9>

89. Hoover, W. B., & Vertes, R. P. (2007). Anatomical analysis of afferent projections to the medial prefrontal cortex in the rat. *Brain structure & function*, 212(2), 149–179. <https://doi.org/10.1007/s00429-007-0150-4>
90. Hupalo, S., Bryce, C. A., Bangasser, D. A., Berridge, C. W., Valentino, R. J., & Floresco, S. B. (2019). Corticotropin-Releasing Factor (CRF) circuit modulation of cognition and motivation. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 103, 50–59. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2019.06.010>
91. Illouz, T., Madar, R., Clague, C., Griffioen, K. J., Louzoun, Y., & Okun, E. (2016). Unbiased classification of spatial strategies in the Barnes maze. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 32(21), 3314–3320. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btw376>
92. Jadhav, S. P., Kemere, C., German, P. W., & Frank, L. M. (2012). Awake hippocampal sharp-wave ripples support spatial memory. *Science*, 336(6087), 1454–1458.
93. Jadhav, S. P., Rothschild, G., Rounis, D. K., & Frank, L. M. (2016). Coordinated excitation and inhibition of prefrontal ensembles during awake hippocampal sharp-wave ripple events. *Neuron*, 90(1), 113–127.
94. Jadhav, Shantanu P., Caleb Kemere, P. Walter German, and Loren M. Frank. (2012). “Awake Hippocampal Sharp-Wave Ripples Support Spatial Memory.” *Science* 336 (6087): 1454–58. <https://doi.org/10.1126/science.1217230>.
95. Jatupornpoonsub, T., Thimachai, P., Supasyndh, O., & Wongsawat, Y. (2022). EEG Delta/Theta Ratio and Microstate Analysis Originating Novel Biomarkers for Malnutrition-Inflammation Complex Syndrome in ESRD Patients. *Frontiers in human neuroscience*, 15, 795237. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2021.795237>
96. Jay, T. M., Glowinski, J., & Thierry, A. M. (1989). Selectivity of the hippocampal projection to the prelimbic area of the prefrontal cortex in the rat. *Brain research*, 505(2), 337–340. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(89\)91464-9](https://doi.org/10.1016/0006-8993(89)91464-9)
97. Jenkins, J. G., & Dallenbach, K. M. (1924). Obliviscence during sleep and waking. *American Journal of Psychology*, 35(4), 605–612.
98. Jensen, Ole, Eelke Spaak, and Johanna M. Zumer. (2019). “Human Brain Oscillations: From Physiological Mechanisms to Analysis and Cognition.” In *Magnetoencephalography*, edited by Selma Supek and Cheryl J. Aine, 1–46. Cham: Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-62657-4_17-1.
99. Jin, J., & Maren, S. (2015). Prefrontal-Hippocampal Interactions in Memory and Emotion. *Frontiers in systems neuroscience*, 9, 170. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2015.00170>
100. Joo, H. R., & Frank, L. M. (2018). The hippocampal sharp wave-ripple in memory retrieval for immediate use and consolidation. *Nature reviews. Neuroscience*, 19(12), 744–757. <https://doi.org/10.1038/s41583-018-0077-1>
101. Karalis, N., & Sirota, A. (2022). Breathing coordinates cortico-hippocampal dynamics in mice during offline states. *Nature communications*, 13(1), 467. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-28090-5>
102. Karalis, N., & Sirota, A. (2022). Breathing coordinates limbic network dynamics underlying memory consolidation. *BioRxiv*.
103. Kesner, R. P., & Churchwell, J. C. (2011). An analysis of rat prefrontal cortex in mediating executive function. *Neurobiology of Learning and Memory*, 96(3), 417–431.
104. Kim, J. J., & Diamond, D. M. (2002). The stressed hippocampus, synaptic plasticity and lost memories. *Nature reviews. Neuroscience*, 3(6), 453–462. <https://doi.org/10.1038/nnr849>
105. Knierim J. J. (2015). The hippocampus. *Current biology : CB*, 25(23), R1116–R1121. <https://doi.org/bibliotecadigital.uv.cl/10.1016/j.cub.2015.10.049>

106. Lavenex, P., & Amaral, D. G. (2000). Hippocampal-neocortical interaction: a hierarchy of associativity. *Hippocampus*, 10(4), 420–430. [https://doi.org/10.1002/1098-1063\(2000\)10:4<420::AID-HIPO8>3.0.CO;2-5](https://doi.org/10.1002/1098-1063(2000)10:4<420::AID-HIPO8>3.0.CO;2-5)
107. Le Merre, P., Åhrlund-Richter, S., & Carlén, M. (2021). The mouse prefrontal cortex: Unity in diversity. *Neuron*, 109(12), 1925–1944. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2021.03.035>
108. Lee, Y. A., Poirier, P., Otani, S., & Goto, Y. (2011). Dorsal-ventral distinction of chronic stress-induced electrophysiological alterations in the rat medial prefrontal cortex. *Neuroscience*, 183, 108–120. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.03.039>
109. Liston, C., McEwen, B. S., & Casey, B. J. (2009). Psychosocial stress reversibly disrupts prefrontal processing and attentional control. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(3), 912–917. <https://doi.org/10.1073/pnas.0807041106>
110. Lo, A. C., Chen, A. Y., Hung, S. F., Wu, A. Y., & Tsai, C. Y. (2013). Behavioral and pharmacological comparison of water maze and Barnes maze in rat model of depression. *Behavioral Brain Research*, 244, 84–92.
111. Logothetis, N. K., Eschenko, O., Murayama, Y., Augath, M., Steudel, T., Evrard, H. C., Besserve, M., & Oeltermann, A. (2012). Hippocampal-cortical interaction during periods of subcortical silence. *Nature*, 491(7425), 547–553. <https://doi-org.bibliotecadigital.uv.cl/10.1038/nature11618>
112. Magariños, A. M., Verdugo, J. M., & McEwen, B. S. (1997). Chronic stress alters synaptic terminal structure in hippocampus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(25), 14002–14008. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.25.14002>
113. Malagón-Vina, H., Ciocchi, S., Passecker, J., Dorffner, G., & Klausberger, T. (2018). Fluid network dynamics in the prefrontal cortex during multiple strategy switching. *Nature Communications*, 9(1), 1–13.
114. Maren, S., & Holmes, A. (2016). Stress and fear extinction. *Neuropsychopharmacology*, 41(1), 58–79. <https://doi.org/10.1038/npp.2015.180>
115. McEwen, B. S. (1999). Stress and hippocampal plasticity. *Annual review of neuroscience*, 22, 105–122. <https://doi-org.bibliotecadigital.uv.cl/10.1146/annurev.neuro.22.1.105>
116. McEwen, B. S. (2006). Protective and damaging effects of stress mediators: central role of the brain. *Dialogues in clinical neuroscience*, 8(4), 367–381. <https://doi-org.bibliotecadigital.uv.cl/10.31887/DCNS.2006.8.4/bmcewen>
117. McEwen, B. S. (2006). Stress and the aging hippocampus. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 27(2), 123–132.
118. McEwen, B. S. (2012). The ever-changing brain: cellular and molecular mechanisms for the effects of stressful experiences. *Developmental Neurobiology*, 72(6), 878–890. <https://doi.org/10.1002/dneu.20968>
119. McEwen, B. S., & Akil, H. (2020). Revisiting the Stress Concept: Implications for Affective Disorders. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 40(1), 12–21. <https://doi-org.bibliotecadigital.uv.cl/10.1523/JNEUROSCI.0733-19.2019>
120. McEwen, B. S., & Morrison, J. H. (2013). The brain on stress: vulnerability and plasticity of the prefrontal cortex over the life course. *Neuron*, 79(1), 16–29. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.06.028>
121. McEwen, B. S., Bowles, N. P., Gray, J. D., Hill, M. N., Hunter, R. G., Karatsoreos, I. N., & Nasca, C. (2015). Mechanisms of stress in the brain. *Nature neuroscience*, 18(10), 1353–1363. <https://doi-org.bibliotecadigital.uv.cl/10.1038/nn.4086>
122. McKittrick, C. R., Magariños, A. M., Blanchard, D. C., Blanchard, R. J., McEwen, B. S., & Sakai, R. R. (2000). Chronic social stress reduces dendritic arbors in CA3 of hippocampus and decreases binding to serotonin transporter sites. *Synapse (New York, N.Y.)*, 36(2), 85–94. [https://doi-org.bibliotecadigital.uv.cl/10.1002/\(SICI\)1098-2396\(200005\)36:2<85::AID-SYN1>3.0.CO;2-Y](https://doi-org.bibliotecadigital.uv.cl/10.1002/(SICI)1098-2396(200005)36:2<85::AID-SYN1>3.0.CO;2-Y)

123. McLaughlin, K. J., Gomez, J. L., Baran, S. E., & Conrad, C. D. (2007). The effects of chronic stress on hippocampal morphology and function: an evaluation of chronic restraint paradigms. *Brain research*, 1161, 56–64. <https://doi-org.bibliotecadigital.uv.cl/10.1016/j.brainres.2007.05.042>
124. Mednick, S. C. (2003). The Nap and Memory Consolidation. *Science*, 302(5646), 1900-1902.
125. Miller E. K. (2000). The prefrontal cortex and cognitive control. *Nature reviews. Neuroscience*, 1(1), 59–65. <https://doi-org.bibliotecadigital.uv.cl/10.1038/35036228>
126. Miller, E. K., and J. D. Cohen. (2001). "An Integrative Theory of Prefrontal Cortex Function." *Annual Review of Neuroscience* 24: 167–202. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.24.1.167>.
127. Nakazawa, K., McHugh, T. J., Wilson, M. A., & Tonegawa, S. (2004). "NMDA receptors, place cells and hippocampal spatial memory." *Nature Reviews Neuroscience*, 5(5), 361-372.
128. Negrón-Oyarzo, I., Aboitiz, F., & Fuentealba, P. (2016). Impaired Functional Connectivity in the Prefrontal Cortex: A Mechanism for Chronic Stress-Induced Neuropsychiatric Disorders. *Neural plasticity*, 2016, 7539065. <https://doi.org/10.1155/2016/7539065>
129. Negrón-Oyarzo, I., Dagnino-Subiabre, A., & Muñoz Carvajal, P. (2015). Synaptic Impairment in Layer 1 of the Prefrontal Cortex Induced by Repeated Stress During Adolescence is Reversed in Adulthood. *Frontiers in cellular neuroscience*, 9, 442. <https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00442>
130. Negrón-Oyarzo, I., Espinosa, N., Aguilar-Rivera, M., Fuenzalida, M., Aboitiz, F., & Fuentealba, P. (2018). Coordinated prefrontal-hippocampal activity and navigation strategy-related prefrontal firing during spatial memory formation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(27), 7123–7128. <https://doi.org/10.1073/pnas.1720117115>
131. Negrón-Oyarzo, I., Espinosa, N., Frydman, A., & Inostroza, M. (2018). Medial prefrontal cortex interneurons play a key role in inter-hemispheric functional connectivity in response to long-term monocular enucleation. *Scientific Reports*, 8(1), 1-13.
132. Negrón-Oyarzo, I., Neira, D., Espinosa, N., Fuentealba, P., & Aboitiz, F. (2015). Prenatal Stress Produces Persistence of Remote Memory and Disrupts Functional Connectivity in the Hippocampal-Prefrontal Cortex Axis. *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)*, 25(9), 3132–3143. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhu108>
133. Negrón-Oyarzo, I., Pérez, M. Á., Terreros, G., Muñoz, P., & Dagnino-Subiabre, A. (2014). Effects of chronic stress in adolescence on learned fear, anxiety, and synaptic transmission in the rat prelimbic cortex. *Behavioural brain research*, 259, 342–353. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2013.11.001>
134. Novitskaya, Y., Sara, S. J., Logothetis, N. K., & Eschenko, O. (2016). Ripple-triggered stimulation of the locus coeruleus during post-learning sleep disrupts ripple/spindle coupling and impairs memory consolidation. *Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, 23(5), 238–248. <https://doi.org/10.1101/lm.040923.115>
135. O'Keefe, J., & Dostrovsky, J. (1971). The hippocampus as a spatial map: Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. *Brain Research*, 34(1), 171-175.
136. Oliveira, J. F., Dias, N. S., Correia, M., Gama-Pereira, F., Sardinha, V. M., Lima, A., Oliveira, A. F., Jacinto, L. R., Ferreira, D. S., Silva, A. M., Reis, J. S., Cerqueira, J. J., & Sousa, N. (2013). Chronic stress disrupts neural coherence between cortico-limbic structures. *Frontiers in neural circuits*, 7, 10. <https://doi.org/10.3389/fncir.2013.00010>
137. Oyanedel, C. N., Binder, S., Kelemen, E., Petersen, K., Born, J., & Inostroza, M. (2020). Role of hippocampal sharp wave ripples in memory reconsolidation: Rehearsal of episodic memories during slow-wave sleep. *Learning & Memory*, 27(4), 140-147.
138. Oyanedel, Carlos N., Ernesto Durán, Niels Niethard, Marion Inostroza, and Jan Born. (2020). "Temporal Associations between Sleep Slow Oscillations, Spindles and Ripples." *European Journal of Neuroscience* 52 (12): 4762–78. <https://doi.org/10.1111/ejn.14906>

139. O'Keefe, John, and Lynn Nadel. (1978). *The Hippocampus as a Cognitive Map*. Oxford; New York: Clarendon Press ; Oxford University Press.
140. Paterno, Rosalia, Joseane Righes Marafiga, Harrison Ramsay, Tina Li, Kathryn A. Salvati, and Scott C. Baraban. (2021). "Hippocampal Gamma and Sharp-Wave Ripple Oscillations Are Altered in a Cntnap2 Mouse Model of Autism Spectrum Disorder." *Cell Reports* 37 (6): 109970. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.109970>.
141. Pevzner, A., Izadi, A., Lee, D. J., Shahlaie, K., & Gurkoff, G. G. (2016). Making Waves in the Brain: What Are Oscillations, and Why Modulating Them Makes Sense for Brain Injury. *Frontiers in systems neuroscience*, 10, 30. <https://doi-org.bibliotecadigital.uv.cl/10.3389/fnsys.2016.00030>
142. Peyrache, Adrien, Mehdi Khamassi, Karim Benchenane, Sidney I Wiener, and Francesco P Battaglia. (2009). "Replay of Rule-Learning Related Neural Patterns in the Prefrontal Cortex during Sleep." *Nature Neuroscience* 12 (7): 919–26. <https://doi.org/10.1038/nn.2337>.
143. Pitts M. W. (2018). Barnes Maze Procedure for Spatial Learning and Memory in Mice. *Bio-protocol*, 8(5), e2744. <https://doi.org/10.21769/bioprotoc.2744>
144. Popova, N. K., Ilchibaeva, T. V., & Naumenko, V. S. (2017). Neurotrophic factors (BDNF, GDNF) and the serotonergic system. *Biochemistry (Moscow)*, 82(3), 308-317. <https://doi.org/10.1134/S0006297917030023>
145. Poucet, B., & Hok, V. (2017). Remembering goal locations. *Current Opinion in Behavioral Sciences*, 17, 51-56.
146. Preston, A. R., & Eichenbaum, H. (2013). Interplay of hippocampus and prefrontal cortex in memory. *Current Biology*, 23(17), R764-R773.
147. Prior, H., van der Zee, E. A., & Eichenbaum, H. (1997). *Neurobiology of Learning and Memory*. Nature Reviews Neuroscience.
148. Prior, Helmut, Herbert Schwegler, and Gerti Dücker. (1997). "Dissociation of Spatial Reference Memory, Spatial Working Memory, and Hippocampal Mossy Fiber Distribution in Two Rat Strains Differing in Emotionality." *Behavioural Brain Research* 87 (2): 183–94. [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(97\)02282-1](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(97)02282-1).
149. Radley, J. J., Rocher, A. B., Rodriguez, A., Ehlenberger, D. B., Dammann, M., McEwen, B. S., Morrison, J. H., Wearne, S. L., & Hof, P. R. (2008). Repeated stress alters dendritic spine morphology in the rat medial prefrontal cortex. *The Journal of comparative neurology*, 507(1), 1141–1150. <https://doi-org.bibliotecadigital.uv.cl/10.1002/cne.21588>
150. Radley, J. J., Sisti, H. M., Hao, J., Rocher, A. B., McCall, T., Hof, P. R., McEwen, B. S., & Morrison, J. H. (2004). Chronic behavioral stress induces apical dendritic reorganization in pyramidal neurons of the medial prefrontal cortex. *Neuroscience*, 125(1), 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2004.01.006>
151. Ragozzino, M. E., Detrick, S., & Kesner, R. P. (1999). Involvement of the prelimbic-infralimbic areas of the rodent prefrontal cortex in behavioral flexibility for place and response learning. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 19(11), 4585–4594. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.19-11-04585.1999>
152. Rich, E. L., & Shapiro, M. L. (2007). Prelimbic/infralimbic inactivation impairs memory for multiple task switches, but not flexible selection of familiar tasks. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 27(17), 4747–4755. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0369-07.2007>
153. Richards, B. A., Xia, F., Santoro, A., Husse, J., Woodin, M. A., Josselyn, S. A., & Frankland, P. W. (2014). Patterns across multiple memories are identified over time. *Nature neuroscience*, 17(7), 981–986. <https://doi.org/10.1038/nn.3736>
154. Roth, R. H., & Ding, J. B. (2020). From Neurons to Cognition: Technologies for Precise Recording of Neural Activity Underlying Behavior. *BME frontiers*, 2020, 7190517. <https://doi.org/10.34133/2020/7190517>

155. Roumis, D. K., & Frank, L. M. (2015). Hippocampal sharp-wave ripples in waking and sleeping states. *Current opinion in neurobiology*, 35, 6–12. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2015.05.001>
156. Roux, L., Hu, B., Eichler, R., Stark, E., & Buzsáki, G. (2017). Sharp wave ripples during learning stabilize the hippocampal spatial map. *Nature neuroscience*, 20(6), 845–853. <https://doi.org/10.1038/nn.4543>
157. Rudy, J. W. (2009). "The Neurobiology of Learning and Memory." Sinauer Associates.
158. Ruediger, Sarah, Dominique Spirig, Flavio Donato, and Pico Caroni. (2012). "Goal-Oriented Searching Mediated by Ventral Hippocampus Early in Trial-and-Error Learning." *Nature Neuroscience* 15 (11): 1563–71. <https://doi.org/10.1038/nn.3224>.
159. Schlichting, M. L., & Preston, A. R. (2015). Memory integration: neural mechanisms and implications for behavior. *Current opinion in behavioral sciences*, 1, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.cobeha.2014.07.005>
160. Schlichting, M. L., & Preston, A. R. (2016). Hippocampal-medial prefrontal circuit supports memory updating during learning and post-encoding rest. *Neurobiology of learning and memory*, 134 Pt A(Pt A), 91–106. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2015.11.005>
161. Schlingloff, D., Káli, S., Freund, T. F., Hájos, N., & Gulyás, A. I. (2014). Mechanisms of sharp wave initiation and ripple generation. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 34(34), 11385–11398. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0867-14.2014>
162. Schultheiss, N. W., Schlecht, M., Jayachandran, M., Brooks, D. R., McGlothan, J. L., Guilarte, T. R., & Allen, T. A. (2020). Awake delta and theta-rhythmic hippocampal network modes during intermittent locomotor behaviors in the rat. *Behavioral neuroscience*, 134(6), 529–546. <https://doi.org/10.1037/bne0000409>
163. Shansky, R. M., & Lipps, J. (2013). Stress-induced cognitive dysfunction: hormone-neurotransmitter interactions in the prefrontal cortex. *Frontiers in human neuroscience*, 7, 123. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2013.00123>
164. Sigurdsson, T., & Duvarci, S. (2016). Hippocampal-prefrontal interactions in cognition, behavior and psychiatric disease. *Frontiers in Systems Neuroscience*, 9, 190.
165. Smith, S. M., & Vale, W. W. (2006). The role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in neuroendocrine responses to stress. *Dialogues in clinical neuroscience*, 8(4), 383–395. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2006.8.4/ssmith>
166. Sohal, V. S., Zhang, F., Yizhar, O., & Deisseroth, K. (2009). Parvalbumin neurons and gamma rhythms enhance cortical circuit performance. *Nature*, 459(7247), 698–702. <https://doi.org/10.1038/nature07991>
167. Spiers, H. J., & Gilbert, S. J. (2015). Solving the detour problem in navigation: a model of prefrontal and hippocampal interactions. *Frontiers in human neuroscience*, 9, 125. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2015.00125>
168. Squire, L. R. (1996). Memory systems of the brain: A brief history and current perspective. *Neurobiology of Learning and Memory*, 82(3), 171–177.
169. Squire, L. R. (2004). Memory systems of the brain: A brief history and current perspective. *Neurobiology of Learning and Memory*, 82(3), 171–177.
170. Squire, L. R., Genzel, L., Wixted, J. T., & Morris, R. G. (2015). Memory consolidation. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 7(8), a021766. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a021766>
171. Sweatt, J. D. (2016). Neural plasticity and behavior—sixty years of conceptual advances. *Journal of Neurochemistry*, 139(Suppl 2), 179–199. <https://doi.org/10.1111/jnc.13492>
172. Tang, W., & Jadhav, S. P. (2019). Sharp-wave ripples as a signature of hippocampal-prefrontal reactivation for memory during sleep and waking states. *Neurobiology of learning and memory*, 160, 11–20. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2018.01.002>

173. Tang, W., Shin, J. D., & Jadhav, S. P. (2017). Multiple time-scales of decision-making in the hippocampus and prefrontal cortex. *eLife*, 6, e21658.
174. Tang, Wenbo, Justin D. Shin, Loren M. Frank, and Shantanu P. Jadhav. (2017). "Hippocampal-Prefrontal Reactivation during Learning Is Stronger in Awake Compared with Sleep States." *The Journal of Neuroscience* 37 (49): 11789–805. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2291-17.2017>
175. Tolman, E. C. (1948). Cognitive maps in rats and men. *Psychological Review*, 55(4), 189-208.
176. Tomar, A., & McHugh, T. J. (2022). Sharp wave ripples as a signature of hippocampal-prefrontal reactivation for memory during sleep and wakefulness. *Sleep Medicine Reviews*, 61, 101565.
177. Tomar, A., & McHugh, T. J. (2022). The impact of stress on the hippocampal spatial code. *Trends in neurosciences*, 45(2), 120–132. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2021.11.005>
178. Tomar, A., & McHugh, T. J. (2022). The role of sharp wave-ripples in memory reactivation and consolidation. *Nature Reviews Neuroscience*, 23, 123-134. <https://doi.org/10.1038/s41583-022-00547-5>
179. Tomar, A., Patel, M., & McHugh, T. J. (2021). Hippocampal sharp-wave ripples in learning and memory: A potential therapeutic target? *Trends in Cognitive Sciences*, 25, 661-674.
180. Tomar, A., Polygalov, D., Chattarji, S., & McHugh, T. J. (2021). Stress enhances hippocampal neuronal synchrony and alters ripple-spike interaction. *Neurobiology of stress*, 14, 100327. <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2021.100327>
181. VanMeter, F., & Cicchetti, D. (2020). Resilience. *Handbook of clinical neurology*, 173, 67–73. <https://doi-org.bibliotecadigital.uv.cl/10.1016/B978-0-444-64150-2.00008-3>
182. Varela, F., Lachaux, J. P., Rodriguez, E., & Martinerie, J. (2001). The brainweb: phase synchronization and large-scale integration. *Nature reviews. Neuroscience*, 2(4), 229–239. <https://doi.org/10.1038/35067550>
183. Vazdarjanova, A., & Guzowski, J. F. (2004). Differences in hippocampal neuronal population responses to modifications of environment context: evidence for distinct, yet complementary, functions of CA3 and CA1 ensembles. *Journal of Neuroscience*, 24(29), 6489-6496.
184. Vazquez-Marrufo, M. (2017). Event-Related Potentials for the Study of Cognition. InTech. doi: 10.5772/intechopen.69308
185. Vertes R. P. (2002). Analysis of projections from the medial prefrontal cortex to the thalamus in the rat, with emphasis on nucleus reuniens. *The Journal of comparative neurology*, 442(2), 163–187. <https://doi.org/10.1002/cne.10083>
186. Vertes, R. P. (2002). Analysis of projections from the hippocampal formation to the anterior thalamus in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 442(2), 163-187.
187. Vertes, Robert P. (2006). "Interactions among the Medial Prefrontal Cortex, Hippocampus and Midline Thalamus in Emotional and Cognitive Processing in the Rat." *Neuroscience* 142 (1): 1–20. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.06.027>.
188. Verwer, R. W., Meijer, R. J., Van Uum, H. F., & Witter, M. P. (1997). Collateral projections from the rat hippocampal formation to the lateral and medial prefrontal cortex. *Hippocampus*, 7(4), 397-402.
189. Vorhees, C. V., & Williams, M. T. (2006). Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. *Nature Protocols*, 1(2), 848-858.
190. Vorhees, Charles V., and Michael T. Williams. (2014). "Value of Water Mazes for Assessing Spatial and Egocentric Learning and Memory in Rodent Basic Research and Regulatory Studies." *Neurotoxicology and Teratology* 45 (October): 75–90. <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2014.07.003>.
191. Walker, M. P., & Stickgold, R. (2005). Sleep-dependent learning and memory consolidation. *Neuron*, 44(1), 121-133.
192. Walter, W.G., Cooper, R., Aldridge, V.J., McCallum, W.C., & Winter, A.L. (1964). Contingent Negative Variation: An Electric Sign of Sensori-Motor Association and Expectancy in the Human Brain. *Nature*, 203(4943), 380-384.

193. Wamsley, E. J., Tucker, M. A., Payne, J. D., & Stickgold, R. (2010). A brief nap is beneficial for human route-learning: The role of navigation experience and EEG spectral power. *Learning & Memory*, 17(7), 332-336.
194. Wamsley, Erin J. (2019). "Memory Consolidation during Waking Rest." *Trends in Cognitive Sciences* 23 (3): 171–73. <https://doi.org/10.1016/j.tics.2018.12.007>.
195. Wang, G. W., & Cai, J. X. (2006). Disconnection of the hippocampal-prefrontal cortical circuits impairs spatial working memory performance in rats. *Behavioural brain research*, 175(2), 329–336. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2006.09.002>
196. Wang, X. J., & Cai, X. (2006). Neural mechanisms of decision making in changing environments. *Current Opinion in Neurobiology*, 16(2), 172-178.
197. Watrous, A. J., Fried, I., & Ekstrom, A. D. (2013). Behavioral correlates of human hippocampal delta and theta oscillations during navigation. *Journal of Neurophysiology*, 109(5), 1094-1101.
198. Wenk, G. L. (2004). Assessment of spatial memory using the radial arm maze and Morris water maze. *Current Protocols in Neuroscience*, 26(1), 8-5.
199. Woodman GF. A brief introduction to the use of event-related potentials in studies of perception and attention. *Atten Percept Psychophys*. 2010 Nov;72(8):2031-46. doi: 10.3758/APP.72.8.2031. PMID: 21097848; PMCID: PMC3816929.
200. Wolbers, T., & Wiener, J. M. (2014). Challenges for identifying the neural mechanisms that support spatial navigation: the impact of spatial scale. *Frontiers in Human Neuroscience*, 8, 571.
201. Xu, P., Chen, A., Li, Y., Xing, X., & Lu, H. (2019). Medial prefrontal cortex in neurological diseases. *Physiological genomics*, 51(9), 432–442. <https://doi.org/biotecadigital.uv.cl/10.1152/physiolgenomics.00006.2019>
202. Yang, Y. L., & Lu, K. T. (2015). Role of amygdala and hippocampus in the consolidation of fear memory. *Neurobiology of Learning and Memory*, 123, 183-187.
203. Yu, J. Y., & Frank, L. M. (2015). Hippocampal-cortical interaction in decision making. *Neurobiology of Learning and Memory*, 117, 34-41. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2014.05.002>
204. Yu, J. Y., & Frank, L. M. (2020). Hippocampal-cortical interaction in decision making. *Neurobiology of Learning and Memory*, 171, 107213.
205. Yu, Jai Y., and Loren M. Frank. (2020). "Prefrontal Cortical Activity Predicts the Extra-Place Field Spiking of Hippocampal Place Cells." Preprint. *Neuroscience*. <https://doi.org/10.1101/2020.11.23.395012>.
206. de Lima, I. A. C. N., & Belchior, H. (2023). Hippocampal 4-Hz oscillations emerge during stationary running in a wheel and are resistant to medial septum inactivation. *PloS one*, 18(4), e0284514. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0284514>
207. Çalışkan, G., & Stork, O. (2018). Hippocampal network oscillations as mediators of behavioural metaplasticity: Insights from emotional learning. *Neurobiology of learning and memory*, 154, 37–53. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2018.02.022>



ÉTICA, BIOÉTICA Y SEGURIDAD

El trabajo experimental realizado por la estudiante de doctorado Lorena Chacana contó con la aprobación del Comité Institucional de Bioética para la investigación con Animales de la Universidad de Valparaíso (CIBICA). (código de protocolo: BEA098-2016). Se adjunta Enmienda con las modificaciones al protocolo experimental. (Ver anexos)

Esta tesis no trabajó directamente con animales, sino que tiene por fin el análisis de registros previamente obtenidos.

ANEXOS.

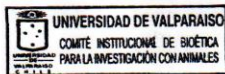
9.1 Acta de evaluación bioética




CIBICA
Comité Institucional de Bioética para
la Investigación con Animales

**ACTA DE EVALUACIÓN BIOÉTICA
BA098-2016**

- I. El Comité Institucional de Bioética para la investigación con Animales de la Universidad de Valparaíso, en su sesión del 16 de diciembre de 2016, declara haber evaluado el protocolo experimental del proyecto BEA098-2016 titulado "Optogenetic Stimulation in the Prefrontal Cortex to Reverse Behavioral Impairment Induced by Prenatal Stress", del investigador responsable Dr. Ignacio Negrón O., de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Valparaíso y que se presentó a concurso Fondecyt de Inicio 2016
- II. Para su evaluación el Comité de Bioética revisó los antecedentes presentados en el formulario "SOLICITUD PARA LA APROBACIÓN DE INVESTIGACIÓN QUE INVOLUCRE A ANIMALES COMO SUJETOS DE INVESTIGACIÓN".
- III. En la valoración bioética del proyecto, el Comité consideró adecuado los aspectos bioéticos indicados en el segundo punto Valoración de Aspectos Éticos del formulario "SOLICITUD PARA LA APROBACIÓN DE INVESTIGACIÓN QUE INVOLUCRE A ANIMALES COMO SUJETOS DE INVESTIGACIÓN" y que se señalan en las páginas anexas a esta acta.
- IV. Por lo anterior, el Comité Institucional de Bioética aprueba el protocolo experimental.




Chita Guisado Aránguiz
Presidente
Comité Institucional de Bioética para Investigación la Investigación con Animales de Experimentación (CIBICA)

Valparaíso 20 de diciembre de 2016

9.2 Enmienda, Acta de evaluación bioética.



Vicerrectoría de Investigación e Innovación
Comité Institucional para el Cuidado
y Uso de Animales de Laboratorio
CICUAL-UV

ENMIENDA ACTA DE EVALUACIÓN BIOÉTICA BEA098/2016

El Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio de la Universidad de Valparaíso (CICUAL-UV), en su sesión del 29 de agosto de 2019, declara haber evaluado las modificaciones presentadas por el Dr. Ignacio Negrón O. al proyecto BEA098-16 "Optogenetic Stimulation in the Prefrontal Cortex to Reverse Behavioral Impairment Induced by prenatal stress".

I. Las modificaciones aceptadas son:

a) Modificación del título del proyecto:

Original: Optogenetic Stimulation in the Prefrontal Cortex to Reverse Behavioral Impairment Induced by prenatal stress.

Modificado: Optogenetic Stimulation in the Prefrontal Cortex to Reverse Behavioral Impairment Induced by chronic stress.

b) Modificación de la Estrategia Experimental N°3:

Original: "Registro de actividad cerebral y estimulación optogenética en animales prenatalmente estresados vivos ejecutando tareas conductuales."
El objetivo de esta estrategia experimental es evaluar el efecto de la estimulación optogenética en las neuronas piramidales de la PFC sobre el aprendizaje y memoria espacial de referencia en animales prenatalmente estresados. Para ello, el día de gestación 14 las hembras de las cepas TG y WT serán sometidas a estrés por restricción de movimiento (descrito previamente por Negrón-Oyarzo et al, 2015). Brevemente, las hembras preñadas serán insertadas en restrictores cilíndricos de acrílico (medidas 5 cm de diámetro por 18 de largo) durante 7 días consecutivos, tres veces al día en períodos de 45 min en su jaula, en una sala distinta de donde los animales son mantenidos. Una vez que las hembras hayan parido, las crías nacidas de estas hembras serán dejadas con sus madres hasta el día del destete (día post-natal 21, ver mas atrás en esta misma sección), en donde serán agrupados en jaulas de a 3-5



individuos por jaula de acuerdo a su grupo experimental (WT estresados, y TG estresados). Estos animales estresados serán sometidos al mismo procedimiento de cirugía, implante de hiperdrive y test conductuales descritos en la estrategia experimental N°2.

Modificado: "Registro de actividad cerebral y estimulación optogenética en animales vivos estresados crónicamente, ejecutando tareas conductuales."

El objetivo de esta estrategia experimental es evaluar el efecto de la estimulación optogenética en las neuronas piramidales de la PFC sobre el aprendizaje y memoria espacial de referencia en animales estresados crónicamente. Para ello, se someterán animales adultos (60 días de edad) a cirugía de implante de hiperdrive. Una vez recuperados, los animales serán sometidos a estrés por restricción de movimiento por siete días consecutivos. Brevemente, los animales serán insertados en restrictores cilíndricos de acrílico (medidas 7 cm de diámetro por 18 de largo) durante 7 días consecutivos, tres veces al día en períodos de 45 min en su jaula, en una sala distinta de donde los animales son mantenidos. Los restrictores poseen agujeros que permiten a los animales respirar y eliminar sus desechos. Una vez finalizado el estrés, los animales estresados serán sometidos al mismo procedimiento de prueba conductual y registro d actividad cerebral descritos en la estrategia experimental N°2.

- II. El Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio de la Universidad de Valparaíso aprueba las modificaciones consignadas al proyecto BEA098-16.



Pablo Muñoz Carvajal
Presidente

Comité Institucional de Bioética para la Investigación con Animales