



Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Instituto de Ciências Básicas da Saúde
Departamento de Bioquímica
Programa de Pós-Graduação em Bioquímica

Um modelo teórico para a amnésia transitória

Tese de doutorado

Olavo Bohrer Amaral

Orientador: Prof. Dr. Iván Izquierdo

Porto Alegre, 2007



Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Instituto de Ciências Básicas da Saúde
Departamento de Bioquímica
Programa de Pós-Graduação em Bioquímica

Um modelo teórico para a amnésia transitória

Olavo Bohrer Amaral

Orientador: Prof. Dr. Iván Izquierdo

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas-
Bioquímica, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em
Bioquímica.

Porto Alegre, Setembro de 2007

*”É a mesma lição
De novo ecoando,
Da qual sempre me escapa
O enunciado.*

*E, dele esquecido,
Me vejo obrigado
A refazer novamente o inventário
Do que pensava já haver aprendido.”
(Pedro Amaral)*

AGRADECIMENTOS

À minha família, por tudo, já que agradecer por qualquer coisa em particular seria deixar de fora o resto, e qualquer criança sabe que “infinito menos um” é uma conta sem resposta.

À Vanessa, minha lembrança linda e constante de que as histórias que realmente importam são as que não são escritas, e que às vezes nem são lembradas, milagres tão naturais que acabam perdidos sob as cobertas, levados pelo sono que cabe entre dois toques do despertador no modo soneca.

Aos meus amigos e pessoas queridas em geral, que felizmente são numerosos demais pra citar aqui.

Aos meus colegas de Centro de Memória durante os últimos dez anos, que de uma maneira ou de outra são responsáveis pelo cientista e por uns pedaços do ser humano de hoje.

Aos meus colegas dos últimos tempos nos laboratórios 26 e 28, por serem os construtores diários do melhor ambiente de trabalho que eu conheço.

À Gisele e ao Rafa, em especial, por terem embarcado na viagem com tanta dedicação e confiança.

Aos meus colaboradores científicos nesta tese e em incontáveis outros projetos ao longo do caminho, espalhados por todos os cantos, pela disponibilidade em ajudarem e serem ajudados, e por concederem o privilégio de terem compartilhado comigo não só os sucessos como (principalmente) os fracassos retumbantes.

Aos professores e funcionários do Departamento de Bioquímica, pelo crédito e respeito que tenho recebido aqui, não só como aluno mas principalmente como pesquisador e colaborador.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul, pelos dez anos de formação em todos os sentidos, tão fundamentais pra que a minha vida tenha tomado os caminhos que tomou.

Ao Prof. Rafael Roesler, por ter iniciado a história dessa tese, me incluído nela numa mesa de bar em uma manhã qualquer e depositado em mim a confiança e o apoio sem os quais ela não teria acontecido.

Ao Adriano, um dos exemplos que ajudaram a me convencer que fazer ciência fazia sentido, e que de amigo íntimo que já era acabou se transformando, meio por acidente, num colaborador cada vez mais presente.

Ao Prof. Roger Walz, por ter, nas palavras carinhosas dele mesmo, criado esse monstro.

Ao Prof. Diogo Souza, pelo espantoso exemplo de entusiasmo e amor de todos os dias, que faz com que o apoio incondicional e constante ao meu trabalho nos últimos dois anos pareça um detalhe irrisório em comparação.

Ao Prof. Iván Izquierdo, meu orientador no percurso do início ao fim, pelo carinho e pela presença constante em tudo que aconteceu até agora na minha vida acadêmica, manifesta não só através da sua pessoa como da de todos os que ele influenciou, neste departamento e fora dele, através do seu exemplo de cientista e ser humano.

À vida e à sorte, que pelo menos até agora têm sido tão boas comigo.

ÍNDICE

PARTE I

Resumo	2
Abstract	3
Lista de abreviaturas	4
I.1. Introdução	
I.1.a. Memórias e sua consolidação	5
I.1.b. Aspectos temporais da consolidação	7
I.1.c. Amnésia transitória – a consolidação questionada	10
I.1.d. Reconsolidação da memória	13
I.1.e. Em busca de um modelo	17
I.2. Notas metodológicas	
I.2.a. Modelos comportamentais no estudo da consolidação e reconsolidação	20
I.2.b. Modelos computacionais no estudo do aprendizado e memória	22
I.3. Objetivos e estrutura da tese	
I.3.a. Objetivos gerais e específicos	25
I.3.b. Estrutura da tese	26

PARTE II

II.1. Resultados experimentais	
<i>Temporary inactivation of the dorsal hippocampus induces a transient impairment in retrieval of aversive memory</i>	29
II.2. Análise teórica e resultados computacionais	
<i>Memory reconsolidation and transient amnesia: a model integrating systems consolidation, synaptic reinforcement and multiple memory traces</i>	36

PARTE III

III.1 Discussão dos resultados	
III.1.a. Resultados experimentais	95
III.1.b. Resultados teóricos e computacionais	100
III.2. Perspectivas	
III.2.a. Perspectivas experimentais	114
III.2.b. Perspectivas computacionais	118
III.3. Conclusões	121
Referências	123
Apêndice – Produção científica durante o doutoramento (2003-2007)	139

PARTE I

Introdução e objetivos

RESUMO

(OLAVO B. AMARAL – *Um modelo teórico para a amnésia transitória*)

A observação de recuperação da memória após intervenções amnésicas pós-treino em modelos experimentais de aprendizado tem historicamente causado controvérsias a respeito do significado de tal achado, levando alguns autores a questionarem o paradigma de um período de consolidação para as memórias. Similarmente, demonstrações recentes de amnésia transitória causada por intervenções realizadas após a reativação das memórias têm sido usadas para questionar a existência de processos de reconsolidação da memória desencadeados por sua evocação. O presente trabalho visa abordar o fenômeno da amnésia transitória através da construção de um modelo teórico que explique sua ocorrência dentro dos paradigmas atualmente aceitos de consolidação e reconsolidação da memória. Para isso, são inicialmente apresentados resultados experimentais que demonstram a ocorrência de amnésia transitória após a inativação temporária do hipocampo durante o suposto período de reconsolidação da memória na tarefa de esquivia inibitória, mostrando adicionalmente que a recuperação da memória neste paradigma ocorre espontaneamente. Após isso, a partir de uma ampla revisão da literatura a respeito da amnésia transitória, são propostos possíveis mecanismos para o fenômeno, que nos levam à formulação da hipótese de que a recuperação da memória pode dever-se a processos tardios de consolidação, e que sua ocorrência dependeria do grau da perturbação ao traço mnemônico e do tempo em que esta ocorre. A plausibilidade de tal modelo teórico é posteriormente testada em um modelo computacional de aprendizado e consolidação da memória em duas estruturas baseado no conceito de reforço sináptico por realimentação. Por fim, os resultados experimentais, teóricos e computacionais são discutidos, e algumas previsões experimentais testáveis e perspectivas futuras de pesquisa são geradas.

ABSTRACT

(OLAVO B. AMARAL – *A theoretical model for transient amnesia*)

The observation of memory recovery following post-training amnesic interventions in experimental models of learning has historically caused controversy over the meaning of this finding, leading some authors to question the paradigm of a consolidation period for memories. Similarly, recent demonstrations of transient amnesia caused by interventions following memory reactivation have been used to question the existence of a retrieval-driven reconsolidation process. The present work aims to approach the phenomenon of transient amnesia by building a theoretical model which can explain its occurrence within the currently accepted paradigms of memory consolidation and reconsolidation. We initially present experimental results which demonstrate the occurrence of transient amnesia after temporary hippocampal inactivation during the putative reconsolidation period in an inhibitory avoidance task, also showing that memory recovery in this paradigm occurs spontaneously. Subsequently, based on an extensive review of the literature concerning transient amnesia, we propose possible mechanisms for this phenomenon, which lead us to formulate the hypothesis that memory recovery can be explained by late consolidation processes, and that its occurrence depends on the degree of trace disruption and on the time at which it occurs. The feasibility of such a framework model is then tested in a computational two-structure model of learning based on the concept of synaptic reentry reinforcement. Finally, the experimental, theoretical and computational results presented are discussed, and some testable predictions and future research perspectives are outlined.

LISTA DE ABREVIATURAS

AMP – Adenosina monofosfato

AMPc – AMP cíclico

AP5 – Ácido D-2-amino-5-fosfopentanóico (*D-2-amino-5-phosphonopentanoic acid*)

CREB – Proteína de ligação a elementos responsivos a AMPc (*cAMP-responsive element binding protein*)

GABA – Ácido gama-aminobutírico (*gamma-aminobutyric acid*)

GRP – Peptídeo liberador de gastrina (*gastrin releasing peptide*)

ICV – Intracerebroventricular

LTF – Facilitação de longa duração (*long term facilitation*)

LTP – Potenciação de longa duração (*long term potentiation*)

MEK – Quinase da proteína quinase dependente de mitógenos (*mitogen activated protein kinase kinase*)

NMDA – N-metil-D-aspartato

PKA – Proteína quinase dependente de AMPc (*cAMP-dependent protein kinase*)

PKM ζ - Proteína quinase M zeta

REM – Movimento rápido dos olhos (*rapid eye movement*)

RNA – Ácido ribonucléico (*ribonucleic acid*)

mRNA – RNA mensageiro

SRR – Reforço sináptico por realimentação (*synaptic reentry reinforcement*)

I.1. INTRODUÇÃO

I.1.a. Memórias e sua consolidação

Um dos princípios centrais que guiaram o estudo do aprendizado e da memória ao longo do último século foi a noção de que as memórias não são armazenadas instantaneamente no sistema nervoso, e portanto necessitam passar por um período de estabilização progressiva, com a ativação de diversos mecanismos bioquímicos que possibilitam o seu armazenamento duradouro (Dudai, 2004; McGaugh, 2000). Apesar da hipótese de um período de “consolidação” da informação aprendida ter sido postulada inicialmente há quase dois mil anos (Quintilianus, Século I, D.C.), a mesma foi formalizada experimentalmente em 1900 por Muller e Pilzecker (1900), e ganhou a maior parte de seu suporte empírico em meados do século XX, geralmente a partir de trabalhos que mostravam o efeito retrógrado de intervenções como choque eletroconvulsivo (Duncan, 1949), injeções de agentes farmacológicos (Agranoff et al., 1966) e estímulos comportamentais interferentes (Izquierdo et al., 1999b; Muller e Pilzecker, 1900) sobre memórias adquiridas minutos ou horas antes. Como os mesmos tratamentos não apresentavam o mesmo efeito se aplicados mais tempo após o aprendizado, depreendeu-se daí a noção de que as memórias se “consolidam”, ou seja, adquirem uma forma mais estável com a passagem do tempo (McGaugh, 1966).

A noção de consolidação da memória foi progressivamente refinada ao longo dos anos, com o delineamento progressivo dos mecanismos bioquímicos envolvidos neste

processo, realizado através da demonstração do efeito amnésico de inibidores específicos destes mecanismos, bem como da ocorrência de modificações bioquímicas em estruturas cerebrais após o aprendizado em diversas tarefas (Izquierdo et al., 2006; McGaugh, 2000). Um evento chave neste processo foi a postulação de que modificações plásticas na sinapse poderiam estar subjacentes à formação de memórias (Hebb, 1949), com a posterior comprovação da existência de formas de plasticidade sináptica como a facilitação de longa duração (LTF) na *Aplysia* (Castellucci et al., 1970) e a potenciação de longa duração (LTP) no hipocampo de mamíferos (Bliss e Lomo, 1973). A progressiva demonstração de que os mecanismos moleculares envolvidos em tais formas de plasticidade são muito semelhantes aos envolvidos na consolidação da memória *in vivo* (Izquierdo e Medina, 1995) formou a base da ampla aceitação da idéia de que tais formas de plasticidade são fundamentais na formação das memórias (Izquierdo et al., 2006; Martin et al., 2000). Tal hipótese tem sido recentemente corroborada por novos dados, como a demonstração da ocorrência *in vivo* de LTP após o aprendizado em tarefas de memória (Gruart et al., 2006; Whitlock et al., 2006).

Os mecanismos relacionados à consolidação das memórias durante as primeiras horas após o aprendizado têm sido amplamente estudados nas últimas décadas, especialmente no hipocampo e em outras estruturas do lobo temporal medial, que possuem papel fundamental na formação e consolidação das memórias declarativas (i.e. acessíveis à evocação consciente) (Squire et al., 2004). As vias bioquímicas necessárias para tais processos de consolidação no lobo temporal vêm sendo progressivamente delineadas, especialmente através de estudos farmacológicos, e geralmente correlacionam-se de maneira bastante estreita com aquelas envolvidas na LTP (Izquierdo et al., 2006). Acredita-se que a ativação de receptores glutamatérgicos do tipo N-metil-D-aspartato (NMDA) seja um evento chave em ambos os processos, permitindo a entrada de cálcio no terminal pós-

sináptico e desencadeando uma cascata complexa de ativação de enzimas intracelulares que culmina na potenciação da sinapse (Bliss e Collingridge, 1993; Izquierdo et al., 2006). A curto prazo, tal potenciação é geralmente estabelecida através da modificação pós-tradução (ex: fosforilação/defosforilação) de proteínas já existentes (Soderling e Derkach, 2000) e da síntese protéica dendrítica a partir de RNAs mensageiros (mRNAs) pré-existentes no terminal pós-sináptico (Schuman et al., 2006), levando a processos como a inserção de receptores na membrana pós-sináptica (Liao et al., 1995) e o aumento da liberação de neurotransmissores na pré-sinapse (Reid et al., 2004), os quais possibilitam uma potenciação específica do terminal sináptico em questão. Ao mesmo tempo, este estímulo inicial também desencadeia a ativação de fatores de transcrição tais como a proteína de ligação de elementos responsivos a AMP cíclico (CREB) (Silva et al., 1998), que modificam a expressão gênica na célula (Igaz et al., 2004) e levam à síntese de novas proteínas que supostamente seriam responsáveis pela manutenção da memória a longo prazo (Dudai, 2002).

I.1.b. Aspectos temporais da consolidação

A distinção entre sistemas de memória de curta e longa duração – o primeiro de instituição rápida e lábil, e o segundo de instituição mais lenta e permanente –, apesar de postulada desde William James (1890), também foi formalizada por Hebb (1949), que postulou que a memória de curta duração dependeria da reverberação dos sistemas neuronais e a de longa duração de alterações nas conexões sinápticas. Várias décadas depois, a descoberta de que a LTP também incluía uma fase precoce, dependente de modificações de proteínas já existentes, e uma fase tardia dependente de expressão gênica e

síntese protéica (Bliss e Collingridge, 1993) fez com que tal dualidade fosse proposta como um dos mecanismos capazes de explicar tal distinção (Dudai, 2004). Em concordância com esta hipótese, estudos envolvendo a manipulação das memórias após o aprendizado têm demonstrado que as memórias de curta duração (ex: até 3-6 horas) e as de longa duração podem responder de maneira distinta a uma mesma intervenção farmacológica, e portanto parecem depender de sistemas independentes entre si (Izquierdo et al., 1998; Izquierdo et al., 1999a).

O processo que inicialmente leva ao estabelecimento de uma memória de longa duração capaz de perdurar por mais do que algumas horas é genericamente descrito como consolidação “sináptica” ou “celular” (Dudai, 2004; Morris, 2006). Os mecanismos envolvidos neste processo, que culminam com a ativação da síntese de novas proteínas e, supostamente, de alterações duradouras na eficiência das sinapses envolvidas, já foram mencionados brevemente na seção anterior e têm sido extensivamente estudados nas últimas décadas, especialmente nas estruturas do lobo temporal. Em contrapartida, os mecanismos subjacentes à persistência da memória por períodos de tempo mais longos são menos conhecidos (Dudai, 2002). Assume-se que modificações morfológicas nas sinapses sejam responsáveis por armazenar as memórias a longo prazo; entretanto, pouco se sabe sobre a natureza dessas modificações, ou mesmo sobre as áreas cerebrais específicas em que elas ocorrem. Além disso, várias evidências demonstram que o traço mnemônico não se torna completamente estático após o final do período de consolidação sináptica, e sugerem que a persistência a longo prazo deste traço não depende necessariamente das mesmas sinapses e áreas cerebrais inicialmente envolvidas (Dudai, 2004; Frankland e Bontempi, 2005; Morris, 2006).

Dentre os acontecimentos tardios na existência das memórias declarativas, o mais estudado tem sido a progressiva redução da importância do hipocampo para a evocação da memória. Tal fato é demonstrado principalmente pelo achado de que a amnésia retrógrada após lesões hipocâmpais frequentemente possui um “gradiente temporal” – ou seja, afeta as memórias recentes mas preserva as mais remotas (Rempel-Clower et al., 1996; Squire e Alvarez, 1995) – e levou à postulação de que a “consolidação sináptica” é seguida de um segundo fenômeno denominado de “consolidação de sistemas”, que leva à formação de uma representação cortical permanente do traço mnemônico, a qual dispensaria a participação do hipocampo para a evocação (Frankland e Bontempi, 2005; Wiltgen et al., 2004). Apesar de algumas controvérsias persistirem a respeito do envolvimento do hipocampo na evocação de algumas memórias remotas (Nadel e Moscovitch, 1997), o fato de que a expressão de pelo menos algumas formas de memória declarativa possa ocorrer independentemente do hipocampo a longo prazo é relativamente bem aceito na literatura, e encontra suporte tanto em trabalhos envolvendo lesões hipocâmpais como em estudos utilizando técnicas de imagem funcional (Bontempi et al., 1999) e medidas de expressão gênica em diversas áreas cerebrais (Ross e Eichenbaum, 2006).

A razão da existência de um sistema “duplo” de memórias envolvendo representações hipocâmpais e neocorticais tem sido objeto de freqüente especulação, com os modelos mais aceitos argumentando que tal sistema possibilita a ocorrência de aprendizado rápido (dependente do hipocampo) sem que haja interferência com o conhecimento estruturado existente no cérebro, que seria lentamente extraído pelo neocórtex a partir de uma comunicação prolongada entre este e o hipocampo (Alvarez e Squire, 1994; McClelland et al., 1995; O'Reilly e Rudy, 2000). Tal comunicação poderia ser dar tanto através da evocação consciente do traço (Dudai, 2004; McClelland et al.,

1995) quanto pela repetição espontânea dos padrões de ativação do hipocampo, a qual tem sido demonstrada logo após o aprendizado durante a vigília (Foster e Wilson, 2006; Lin et al., 2005) e especialmente durante o sono de ondas lentas e o sono REM após um episódio de aprendizado (Louie e Wilson, 2001; Pavlides e Winson, 1989; Ribeiro et al., 2004; Ribeiro e Nicolelis, 2004; Wilson e McNaughton, 1994).

A importância destes processos tardios na consolidação da memória a longo prazo tem sido demonstrada pela observação de que intervenções farmacológicas e genéticas tardias direcionadas ao hipocampo, especialmente quando prolongadas, podem interferir nas memórias mesmo muito tempo após o fim do período de consolidação sináptica (Pastalkova et al., 2006; Riedel et al., 1999; Shimizu et al., 2000; Taubenfeld et al., 2001; Wang et al., 2003). Além disso, as demonstrações recentes de que a administração de um inibidor da proteína quinase M zeta (PKM ζ) no córtex insular (Shema et al., 2007) e o *knockout* temporário de uma subunidade do receptor NMDA (Cui et al., 2004) são capazes de “apagar” uma memória associativa aprendida várias semanas antes corroboram a idéia de que processos ativos no neocórtex também são necessários para a manutenção a longo prazo do traço mnemônico. Tais achados levaram à formulação, por Wittenberg and Tsien (2002), do conceito de “reforço sináptico por realimentação” (*synaptic reentry reinforcement, SRR*), que postula que a reativação periódica do traço mnemônico em redes neuronais, tal como parece ocorrer através da evocação ou da repetição espontânea de padrões de ativação, poderia ser responsável tanto pela manutenção do traço numa área específica (hipocampo ou neocórtex) como por sua “transferência” para outras áreas. Tal conceito, como veremos mais tarde, será útil em nossa abordagem teórica em relação ao problema da amnésia transitória.

1.1.c. Amnésia transitória – a consolidação questionada

Um achado experimental relativamente freqüente que há décadas vem sendo utilizado como uma crítica à noção clássica de consolidação da memória é o fato de que alguns déficits de memória induzidos por intervenções após o aprendizado podem ser reversíveis ou transitórios. Os experimentos clássicos nesse sentido demonstram que a amnésia produzida por intervenções pós-treino como choque eletroconvulsivo (Lewis et al., 1968; Quartermain et al., 1970; Zinkin e Miller, 1967) ou injeção de fármacos como inibidores de síntese protéica (Quartermain e McEwen, 1970; Squire e Barondes, 1972) pode ser reversível. Tal reversão geralmente é obtida com algum tipo de reforço, como uma dica (“*reminder*”) relacionada ao contexto do aprendizado (Miller e Kraus, 1977; Quartermain et al., 1970), um treino prévio de baixa intensidade (Gold et al., 1973; Quevedo et al., 1999), a injeção de agentes farmacológicos promnésicos antes do treino (Gold e Sternberg, 1978) ou do teste (Squire, 1979), ou mesmo a administração pré-teste do agente amnésico (Bradley e Galal, 1988; Netto et al., 1987); entretanto, a recuperação da memória também é por vezes observada espontaneamente (Quartermain e McEwen, 1970; Serota, 1971; Squire e Barondes, 1972).

Tais achados criaram uma discussão algo polarizada em relação à natureza da amnésia experimental, que atingiu seu ápice entre o final da década de 60 e o início da década de 80 (Squire, 2006). Diversos autores utilizaram a reversibilidade da amnésia para argumentar contra a idéia de que intervenções pós-treino interfiram na consolidação da memória – ou seja, no armazenamento da memória a longo prazo. Para estes autores, tal reversibilidade é uma evidência de que a representação da memória permanece armazenada

após essas intervenções, talvez por já ter sido completamente formada de maneira rápida (Miller e Matzel, 2006), mas se torna inacessível à evocação. Diversas explicações foram invocadas para explicar esta inacessibilidade: efeitos inespecíficos de longa duração dos fármacos (Serota, 1971), bloqueio na formação de vias de evocação (“*retrieval links*”) que permitiriam o acesso à memória (Miller e Springer, 1973) ou efeitos modulatórios relacionados à dependência de estado (i.e. a idéia de que a evocação é dependente de um estado hormonal ou farmacológico similar ao do treino) (Hinderliter et al., 1975; Netto et al., 1987; Riccio et al., 2006). Outros autores, no entanto, argumentaram que o achado de reversibilidade da amnésia não contradiz necessariamente a noção de consolidação, pois o efeito de dicas comportamentais e de fármacos promnésicos poderia dever-se a potenciação de traços de memória residuais após uma intervenção amnésica, assim como ocorre após um treino fraco ou insuficiente (Gold et al., 1973; Gold e King, 1974; Squire, 2006). Além disso, em uma grande parte dos estudos utilizando intervenções amnésicas pós-treino, tal reversibilidade não é observada e, ainda que tal achado negativo não possa ser invocado como uma evidência definitiva de que uma memória não foi formada, ele é um achado consistente que ao menos sugere que este possa ser o caso (Dudai, 2004).

Tal controvérsia nunca foi completamente resolvida, fundamentalmente devido ao fato de que, pelo menos a nível comportamental, o “não-armazenamento” da memória não pode ser provado definitivamente pela ausência de sua expressão, ao mesmo tempo que a hipótese de “armazenamento adequado com impossibilidade de evocação” nunca pode ser completamente refutada (Nader e Wang, 2006). Além disso, os próprios conceitos polarizados de “déficit de armazenamento” e “déficit de evocação” parecem insuficientes para abordar a complexidade do problema: afinal, o bloqueio de formação de vias de evocação (Miller e Matzel, 2006) pode também ser interpretado como um problema de

“armazenamento”, já que a capacidade de evocação é inegavelmente um componente inerente de qualquer memória (Dudai, 2004); ao mesmo tempo, uma situação em que o traço mnemônico tem sua formação parcialmente afetada e só pode se expressar com a presença de dicas ou modulação farmacológica positiva também pode ser vista como um déficit de “evocação” (Squire, 2006).

Com o tempo, no entanto, o *establishment* da área, motivado pelas amplas evidências em prol de um processo de consolidação da memória, acabou favorecendo a visão de que a amnésia por intervenções pós-treino resulta, pelo menos em uma grande parte dos casos, de uma falha no armazenamento da informação, e não de sua inacessibilidade (Dudai, 2004; Squire, 2006). Com isso, a discussão acabou saindo de voga por algum tempo, mesmo que o fenômeno da transitoriedade da amnésia nunca tenha sido totalmente explicado¹. Desde então, observam-se alguns ressurgimentos ocasionais do tema na literatura, tanto nas palavras dos antigos detratores da consolidação (Miller e Matzel, 2000; Millin et al., 2001) como através de alguns achados experimentais novos (de Hoz et al., 2004). No entanto, a questão da amnésia transitória acabou ganhando força uma vez mais justamente devido a uma nova “insurgência” que questionava o dogma consolidacionista: o conceito de reconsolidação da memória.

1.1.d. Reconsolidação da memória

Assim como a idéia de amnésia transitória, o conceito básico que veio a ser chamado de “teoria da reconsolidação” da memória – a idéia de que, após o período

¹ Para uma discussão atual sobre a natureza da amnésia e o fenômeno da amnésia transitória, sugere-se a leitura dos diversos artigos em uma edição recente (outubro de 2006) do periódico *Learning and Memory* dedicada ao tema.

clássico de consolidação, a evocação das memórias as torna novamente sensíveis à ação de intervenções amnésicas – não é uma hipótese nova. Tal idéia foi inicialmente proposta no final dos anos 60 (Misanin et al., 1968; Schneider e Sherman, 1968) mas, assim como a amnésia transitória, acabou deixada de lado em nome da visão dominante da consolidação da memória (Dudai, 2004), e só veio a ganhar atenção novamente décadas depois, quando novos estudos de grupos renomados voltaram a estudar o fenômeno através da demonstração do efeito amnésico de diversos fármacos – especialmente inibidores de síntese proteica – quando administrados em estruturas cerebrais ou por via sistêmica após a evocação da memória (Nader et al., 2000b; Przybylski et al., 1999; Taubenfeld et al., 2001). A esse “ressurgimento” seguiu-se um intenso debate ao longo da última década, com a publicação de diversos novos estudos experimentais e opiniões apoiando (Nader et al., 2000a) ou colocando em questão (Cahill et al., 2001) a idéia então formulada de que a evocação da memória possa levar à necessidade de um processo de “reconsolidação” da mesma. Dentre os estudos apoiando tal hipótese, a quase totalidade tem lidado com reproduções do mesmo fenômeno básico – o efeito amnésico de intervenções realizadas após a reexposição de um animal a uma memória previamente aprendida – utilizando diversos agentes farmacológicos e tarefas comportamentais. Já a evidência contrária advém tanto de estudos que não encontraram tais efeitos (Biedenkapp e Rudy, 2004; Cammarota et al., 2004) como de trabalhos demonstrando efeitos opostos da injeção pós-treino dos mesmos agentes, geralmente relacionados à inibição da extinção da memória (Berman e Dudai, 2001; Vianna et al., 2001).

No atual momento, em torno de sete anos após o ressurgimento da idéia de reconsolidação da memória, a literatura da área começa a exibir sinais de um certo consenso de que, pelo menos sob algumas circunstâncias ou condições limitantes

(“*boundary conditions*”) (Dudai, 2006; Tronson e Taylor, 2007), alguma forma de labilização do traço de fato pode ocorrer. Entre estas condições, pode-se citar a duração da reexposição ao contexto da memória originalmente aprendida (Eisenberg et al., 2003; Pedreira e Maldonado, 2003; Suzuki et al., 2004), a ausência de extinção significativa durante a reexposição (Eisenberg et al., 2003) e a presença de novas informações a serem aprendidas no momento da reativação da memória (Morris et al., 2006; Pedreira et al., 2004; Rossato et al., 2006; Rossato et al., 2007). Além disso, o estudo dos mecanismos moleculares específicos envolvidos no processo de reconsolidação tem sido realizado, mostrando que tais mecanismos são similares, mas não idênticos aos do processo inicial de consolidação (Alberini, 2005; Lee et al., 2004; Taubenfeld et al., 2001; Tronson e Taylor, 2007). Por fim, trabalhos mostrando que a reconsolidação ocorre em uma janela limitada de tempo após o treino (Boccia et al., 2006; Eisenberg e Dudai, 2004; Frankland et al., 2006; Milekic e Alberini, 2002; Suzuki et al., 2004), cuja duração é de certa forma similar à proposta para a consolidação de sistemas, têm levado alguns autores a propor que ela pode ser um fenômeno inerente às fases mais tardias da consolidação (Dudai, 2004; Dudai, 2006; Dudai e Eisenberg, 2004). Desta forma, o conceito de reconsolidação tem sido gradualmente reconciliado com alguns aspectos da visão mais clássica de consolidação da memória.

Uma controvérsia ainda não resolvida em relação à reconsolidação, no entanto, é o fato de que uma parte significativa dos estudos utilizando intervenções amnésicas pós-reexposição tem mostrado que o déficit de memória que resulta das mesmas é transitório ou reversível (Anokhin et al., 2002; Eisenberg e Dudai, 2004; Fischer et al., 2004; Judge e Quartermain, 1982; Lattal e Abel, 2004; Litvin e Anokhin, 2000; Mactutus et al., 1979; Power et al., 2006; Prado-Alcalá et al., 2006; Salinska et al., 2004; Szapiro et al., 2003;

Vianna et al., 2001). Tal fenômeno, no entanto, não foi replicado por um número igualmente grande de estudos que, mesmo realizando testes mais tardios ou após dicas facilitatórias, não observaram a recuperação da memória (Boccia et al., 2004; Boccia et al., 2005; Boccia et al., 2006; Bustos et al., 2006; Child et al., 2003; Debiec e LeDoux, 2004; Duvarci e Nader, 2004; Lee et al., 2004; Pedreira e Maldonado, 2003; Rossato et al., 2006; Suzuki et al., 2004; Tronel e Alberini, 2007; Tronel et al., 2005). Semelhantemente ao ocorrido em relação à consolidação, tal controvérsia tem levado alguns autores a argumentarem que o efeito de intervenções pós-reexposição não se deve ao bloqueio de um fenômeno de “reconsolidação” – ou seja, de um prejuízo no (re)armazenamento da memória – e sim de alguma forma de bloqueio transitório na acessibilidade da mesma à evocação (Cahill et al., 2001; Power et al., 2006).

Curiosamente, isso causou uma inversão de posições no debate (Nader, 2007; Nader e Wang, 2006), já que alguns defensores da visão clássica de consolidação, que costumavam refutar as explicações baseadas na inacessibilidade da evocação, agora passaram a invocá-las de maneira a criticar a idéia de reconsolidação, que também se mostrava “transgressora” da visão tradicional, ao seu modo. Outros autores, por sua vez, têm considerado a ocorrência de amnésia transitória em intervenções pós-evocação como não sendo relacionada ao bloqueio de um processo de reconsolidação, mas sim a outros fenômenos tais como a facilitação da extinção da memória (Alberini, 2007; Cai et al., 2006; Fischer et al., 2004). Poucos são, no entanto, os que têm considerado a amnésia transitória após o bloqueio da reconsolidação como um fenômeno real, significativo e merecedor de estudo. Com isso, a controvérsia a respeito deste achado permanece não resolvida, em grande parte devido às limitações intrínsecas das visões polarizadas da amnésia como um “déficit de armazenamento” ou um “déficit de evocação”.

I.1.e. Em busca de um modelo

Um dos grandes problemas no estudo da amnésia transitória, seja ela causada por intervenções após o treino (durante o período de consolidação clássica) ou por intervenções após a evocação (durante a “reconsolidação” da memória), é que a reversibilidade da amnésia têm sido considerada por muitos como um artefato experimental, ou alternativamente como uma demonstração de que o bloqueio da consolidação ou da reconsolidação não ocorreu de fato (levando alguns inclusive a sugerirem a não existência destes fenômenos). Ao mesmo tempo, a ocorrência de amnésia persistente após intervenções pós-treino (ou pós-evocação) num enorme número de estudos é considerada por alguns críticos da idéia de consolidação como uma prova insuficiente de que a consolidação (ou reconsolidação) da memória de fato foi bloqueada. Assim, a literatura atual carece de um modelo que seja capaz de conciliar os dados aparentemente contraditórios a respeito da permanência ou transitoriedade da amnésia após intervenções experimentais durante os períodos de consolidação e reconsolidação.

Entretanto, a quantidade de estudos ao longo do tempo que têm mostrado tanto déficits persistentes quanto déficits transitórios de memória após intervenções amnésicas é grande o suficiente para sugerir que as duas alternativas são de fato resultados possíveis destas intervenções. Além disso, as evidências farmacológicas, bioquímicas e comportamentais da existência de um processo de consolidação são inúmeras (Dudai, 2004; Izquierdo et al., 2006; McGaugh, 2000), e provavelmente suficientes para que a transitoriedade da amnésia não deva ser tomada como uma prova de sua não-existência. O mesmo provavelmente se aplica à possibilidade de que haja “reconsolidação” do traço

mnemônico ou de partes do mesmo durante a evocação da memória; afinal, apesar de que este fenômeno não deva ser idêntico ao processo de consolidação inicial da memória (Dudai, 2006; Nader, 2007), a postulação de explicações totalmente diversas para a amnésia induzida por um mesmo tratamento nas duas circunstâncias não é particularmente parcimoniosa. Assim, o desenvolvimento de um modelo teórico que possa contemplar as possibilidades de amnésia permanente e transitória dentro das teorias comumente aceitas de consolidação e reconsolidação da memória pode constituir-se numa ferramenta importante para compreender dados aparentemente contraditórios e resolver controvérsias que até o momento têm se mostrado de difícil solução.

Alguns pressupostos serão assumidos na tentativa de desenvolver um modelo neste sentido. O primeiro, já mencionado acima e sugerido por uma vasta gama de evidências experimentais, é a real existência de processos de consolidação e reconsolidação, bem como das possibilidades de amnésia transitória ou permanente devido a perturbações dos mesmos. Um segundo pressuposto deriva de um achado relativamente consistente entre os estudos que têm demonstrado a indução de amnésia transitória por intervenções farmacológicas após o teste (i.e. durante o período de reconsolidação): o de que as mesmas intervenções, quando realizadas durante o período de consolidação, tendem a causar amnésia persistente (Anokhin et al., 2002; Lattal e Abel, 2004; Power et al., 2006; Prado-Alcalá et al., 2006; Szapiro et al., 2003; Vianna et al., 2001). Tal achado nos levará a assumir, pelo menos inicialmente, que a possibilidade de recuperação da memória seja maior após intervenções amnésicas realizadas no período de reconsolidação do que após aquelas realizadas durante o período de consolidação clássica. Um terceiro pressuposto é o de que, em diversos estudos, a recuperação da memória após a amnésia induzida pelo bloqueio da consolidação ou da reconsolidação pode ocorrer de maneira espontânea (ou

seja, sem a utilização de dicas comportamentais ou intervenções farmacológicas) (Lattal e Abel, 2004; Squire e Barondes, 1972; Szapiro et al., 2003; Vianna et al., 2001); assim, uma explicação plausível para a recuperação deve ser obtida a partir de fenômenos ocorrendo espontaneamente durante o processamento das memórias no sistema nervoso. Por fim, um último pressuposto, baseado no princípio da parcimônia, é que diferenças de persistência entre intervenções amnésicas semelhantes realizadas em períodos diferentes (i.e. consolidação e reconsolidação) idealmente não deveriam nos levar a postular mecanismos completamente diversos para a amnésia em ambos os casos; ao contrário, um modelo será mais plausível se conseguir abarcar ambas as possibilidades dentro de uma visão única de amnésia.

As próximas seções, assim, apresentarão algumas abordagens experimentais, conceituais e computacionais para a construção de um modelo que possa explicar a transitoriedade da amnésia dentro das visões atualmente aceitas de consolidação e reconsolidação da memória. Antes disso, no entanto, procuraremos introduzir brevemente as metodologias utilizadas nos trabalhos a serem apresentados.

I.2. NOTAS METODOLÓGICAS

I.2.a. Modelos comportamentais no estudo da consolidação e da reconsolidação

Não surpreendentemente, a maior parte do conhecimento atual a respeito dos mecanismos de aprendizado e memória no sistema nervoso provém de estudos comportamentais. A utilização de paradigmas comportamentais em modelos animais ganhou notoriedade com Pavlov (1927), que estabeleceu no início do século XX os preceitos clássicos do chamado condicionamento associativo. Apesar do desenvolvimento de inúmeros paradigmas experimentais relacionados a outros tipos de memória desde então, tais como memórias espaciais (Morris, 1984), de reconhecimento (Dere et al., 2007) e de interação social (Winocur, 1990), os paradigmas de condicionamento, baseados tanto em recompensa como em estímulos aversivos, permanecem largamente utilizados no estudo do aprendizado, devido à sua simplicidade e ao amplo conhecimento a seu respeito.

Uma das principais vantagens de tais paradigmas de condicionamento, como o condicionamento aversivo contextual ou a esQUIVA inibitória, é a possibilidade de serem aprendidos num único treino de curta duração e terem sua evocação testada através de um único teste igualmente breve (ou, alternativamente, testada em diferentes tempos após o treino através da realização de vários testes) (Gold, 1986). Isto permite que intervenções possam ser realizadas em tempos específicos antes ou após o treino e o teste, de maneira a afetarem fases específicas do processamento da memória. Assim, intervenções pós-treino vão afetar a consolidação da memória, enquanto intervenções pré-teste podem ser utilizadas

para testar o efeito de um fármaco sobre a evocação, e intervenções pós-teste seguidas de testes subseqüentes nos informarão sobre os efeitos do mesmo em processos de extinção e/ou reconsolidação. Não por acaso, assim, a maioria dos estudos que estabeleceram a existência e os mecanismos bioquímicos dos processos de consolidação (Izquierdo e Medina, 1997; McGaugh, 1966) e reconsolidação (Alberini, 2007; Tronson e Taylor, 2007) têm utilizado este tipo de paradigma.

A esquiwa inibitória “*step down*” é uma forma específica de condicionamento associativo em que o animal, ao ser exposto a um novo contexto (a caixa de esquiwa inibitória), aprende a associar a descida de uma plataforma existente nesta caixa a um leve choque aplicado nas patas. A memória desta associação leva a uma inibição do comportamento natural de exploração do animal (dando o nome à tarefa), e pode ser medida através da latência de descida da plataforma em dias subseqüentes (Izquierdo e Medina, 1997). Tal tarefa e suas variações – como a versão “*step through*” (Power et al., 2006; Taubenfeld et al., 2001) e a versão associada a estímulos aversivos gustativos (Rose, 2000) – vem sendo amplamente estudada no estudo da consolidação da memória durante as últimas décadas, e possui como vantagens (a) o aprendizado em uma sessão única de treino; (b) a longa duração da memória adquirida e (c) a vasta gama de conhecimento em relação à farmacologia envolvida em sua modulação, tanto em nível sistêmico como em estruturas cerebrais específicas envolvidas na memória, tais como o hipocampo e a amígdala (Izquierdo et al., 2006). Por tais motivos, tal tarefa foi escolhida para ser utilizada nos estudos experimentais que serão apresentados na próxima seção.

I.2.b. Modelos computacionais no estudo do aprendizado e memória

Uma abordagem alternativa no estudo do processamento das memórias no sistema nervoso é o uso de modelos computacionais que simulam o aprendizado em redes neurais artificiais, através de mudanças nos pesos de conexões entre as unidades funcionais ou “neurônios” destas redes. Ainda que tais modelos de maneira geral estejam longe de corresponder ao real funcionamento dos neurônios no sistema nervoso central, eles possibilitam o estudo de um campo que os trabalhos experimentais têm geralmente ignorado devido a suas limitações metodológicas, que é a maneira através da qual redes de neurônios podem representar e armazenar informações complexas. Afinal, ao contrário dos mecanismos moleculares de plasticidade a nível da sinapse única, que são relativamente bem estudados tanto *in vivo* quanto *in vitro*, a maneira pela qual tais alterações sinápticas são capazes de formar uma representação mnemônica a nível sistêmico no sistema nervoso (ou seja, no conjunto da rede neuronal) permanece largamente desconhecida (Riedel e Micheau, 1999).

As redes neurais artificiais representam uma maneira de tentar abordar esta questão, e consistem em redes computacionais compostas de unidades que, como ocorre com os neurônios *in vivo*, são capazes de receber estímulos, integrá-los e transmiti-los para outras unidades da rede. Os modelos computacionais deste tipo utilizados no estudo da memória variam consideravelmente em seu grau de simplificação e/ou complexidade. Alguns modelos tentam simular (ainda que de maneira limitada) as conexões sinápticas anatomicamente demonstradas entre diversas regiões do hipocampo e neocórtex (Lisman e Otmakhova, 2001; Rolls e Kesner, 2006). Já outros modelos fazem simplificações maiores,

de maneira a tentar estudar não o fluxo de informações no sistema nervoso, mas a capacidade de uma rede neuronal armazenar informação através de determinados parâmetros e conexões (Alvarez e Squire, 1994; Hopfield, 1984; McClelland et al., 1995). Em relação aos mecanismos de aprendizagem dentro do sistema, a maior parte dos modelos segue a linha “conexionista” de que a informação (geralmente um padrão de ativação a ser atingido em conjunto pela rede) deve estar contida na força de conexão entre as diversas unidades (Cohen e Grossberg, 1983; Hopfield, 1982; Hopfield, 1984) . Dentre estes, a maioria segue o princípio Hebbiano clássico de que a ativação coincidente de dois neurônios reforça as conexões entre ambos (Hebb, 1949), gerando um aprendizado por meio de tal efeito (Hopfield, 1984; Marr, 1971). Outros modelos, entretanto, utilizam outras formas de aprendizado tais como o aprendizado baseado em erro e correção (em que as conexões sinápticas são ajustadas a partir da proximidade da resposta em relação a um resultado esperado) ou eventualmente usam combinações de ambas as formas (O'Reilly e Rudy, 2000). O uso de tais modelos computacionais tem servido de base para algumas teorias influentes sobre o funcionamento da memória a nível sistêmico, tais como a relação entre a anatomia das subregiões do hipocampo com sua possível função no armazenamento de informações (Marr, 1971) e a postulação de sistemas de aprendizado diferentes e complementares a nível do hipocampo e córtex (McClelland et al., 1995).

As redes conexionistas ou de Hopfield (Cohen e Grossberg, 1983; Hopfield, 1982; Hopfield, 1984), paradigma que será utilizado nos experimentos computacionais que se seguem, são um exemplo de uma abordagem simplificada para o estudo do aprendizado baseado em conexões sinápticas. Consistindo basicamente em um grupo de “neurônios” (unidades com um valor de ativação variável que depende da soma dos valores de ativação dos neurônios a ele conectados) que são capazes de mudar os pesos de suas conexões

através de regras simples de aprendizado Hebbiano, a configuração destas redes faz com que padrões inicialmente fornecidos à rede mudem sua conformação de pesos de forma a formarem “atratores” que, a partir de determinadas condições iniciais, podem levar ao restabelecimento do padrão inicial na rede (Hopfield, 1984). Este tipo de paradigma, apesar de não pretender ser realista em termos anatômicos ou neurofisiológicos, pode ser utilizado para avaliar como mudanças nos parâmetros de aprendizado ou alterações em partes da rede neuronal podem afetar a capacidade de uma rede em atingir o padrão desejado.

O modelo específico a ser utilizado na próxima seção foi adaptado do elaborado por Wittenberg et al. (2002) com base nos princípios das redes de Hopfield. Estes autores, ao incluírem uma constante de decaimento para as alterações nos pesos sinápticos geradas pelo aprendizado (análoga ao provável decaimento natural de alterações bioquímicas na sinapse devido à reciclagem constante de proteínas), utilizaram o modelo para demonstrar a importância de atualizações recorrentes nos pesos sinápticos – geradas a partir da repetida reativação do padrão inicialmente aprendido – para a persistência do aprendizado a longo prazo – princípio denominado por estes autores como reforço sináptico por realimentação (SRR) (Wittenberg e Tsien, 2002). Como será visto a seguir, a idéia de uma forma de consolidação reiterada e prolongada ao longo do tempo será útil para sugerir possíveis mecanismos capazes de explicar a recuperação da memória após intervenções amnésicas, bem como para explicar a importância do tempo destas intervenções na possibilidade de recuperação.

I.3. OBJETIVOS E ESTRUTURA DA TESE

I.3.a. Objetivos gerais e específicos

O objetivo geral desta tese é estudar o fenômeno da amnésia transitória induzida experimentalmente, de forma a sugerir um modelo mecanístico para este fenômeno, que permanece pouco explicado na literatura atual. Para isso serão utilizadas abordagens experimentais, teóricas e computacionais, de forma a contemplar os objetivos específicos listados abaixo:

1. Avaliar o efeito da inativação hipocampal nos períodos de consolidação e reconsolidação da tarefa de esQUIVA inibitória, com atenção especial à persistência ou transitoriedade da amnésia resultante.

2. Avaliar se a amnésia transitória induzida experimentalmente neste protocolo apresenta recuperação espontânea com a passagem do tempo.

3. Realizar uma revisão da literatura sobre a permanência ou transitoriedade da amnésia induzida por intervenções no período de reconsolidação, a fim de buscar fatores que possam explicar tais diferenças de persistência.

4. Propor mecanismos que possam explicar a recuperação da memória dentro dos paradigmas aceitos de consolidação da memória, de maneira a propor um modelo teórico para a amnésia transitória.

5. Testar a factibilidade do modelo teórico formulado em um modelo computacional de consolidação da memória em redes neurais artificiais que contemple os mecanismos de recuperação da memória propostos.

I.3.b. Estrutura da tese

O corpo de resultados da tese está dividido em dois capítulos, que correspondem a dois artigos científicos elaborados durante a construção da mesma. No capítulo II.1, são apresentados experimentos comportamentais em ratos utilizando a tarefa de esQUIVA inibitória, a fim de estudar o efeito da inativação temporária do hipocampo nos períodos de consolidação e reconsolidação sobre a memória desta tarefa através da injeção de um agonista dos receptores GABA-A. Tais experimentos têm como objetivo analisar diferenças existentes entre as intervenções nos dois períodos, bem como estudar se a recuperação da memória após a amnésia transitória neste paradigma depende de múltiplos testes ou pode ocorrer apenas em função da passagem do tempo. A partir desta demonstração experimental do fenômeno de amnésia transitória após a inativação do hipocampo durante um suposto processo de reconsolidação, são discutidas brevemente neste trabalho algumas hipóteses para explicar tal fenômeno. Com base nestes dados experimentais, e em outros existentes na literatura, o segundo trabalho (capítulo II.2) realiza uma revisão mais extensa das evidências referentes à reconsolidação e à amnésia transitória, e a partir dos conceitos de consolidação de sistemas e reforço sináptico por realimentação postula possíveis mecanismos pelos quais a recuperação espontânea da memória possa ocorrer após intervenções amnésicas. A partir destes mecanismos, é formulado um modelo conceitual geral que contempla a possibilidade de amnésia permanente e transitória após intervenções

amnésicas, dependendo de duas variáveis principais (grau de perturbação do traço e tempo após o treino em que esta perturbação ocorre). Tomando por base alguns dos mecanismos postulados e utilizando uma adaptação do modelo computacional de Wittenberg et al. (2002), é realizada então uma demonstração de que, em uma rede neural computacional simples envolvendo duas estruturas conectadas (hipocampo e córtex), as variáveis propostas (grau de perturbação e tempo) são suficientes para explicar a possibilidade de amnésia permanente ou transitória após lesões do hipocampo, sem a necessidade de invocar mecanismos diferentes de amnésia para o bloqueio da consolidação e a reconsolidação. Na parte III, por fim, os resultados obtidos através das abordagens experimentais e teóricas são discutidos e correlacionados com a literatura existente de maneira mais extensa, e novas abordagens experimentais para a validação do modelo teórico proposto são sugeridas.

PARTE II

Resultados

II.1. Temporary inactivation of the dorsal hippocampus induces a transient impairment in retrieval of aversive memory

Publicado em *Behavioural Brain Research* 2007;**180**:113–118

Research report

Temporary inactivation of the dorsal hippocampus induces a transient impairment in retrieval of aversive memory

Olavo B. Amaral^{a,b,*}, Tatiana Luft^{a,b,c}, Martín Cammarota^b,
Ivan Izquierdo^b, Rafael Roesler^c

^a *Depto. de Bioquímica, ICBS, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil*

^b *Centro de Memória, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil*

^c *Cellular and Molecular Neuropharmacology Research Group, Departamento de Farmacologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil*

Received 4 January 2007; received in revised form 18 February 2007; accepted 23 February 2007

Available online 25 February 2007

Abstract

The reconsolidation hypothesis, which predicts that consolidated memories become labile and sensitive to amnesic agents upon reactivation, has been one of the most debated topics in memory research over recent years. One of the main criticisms to this hypothesis is the fact that some studies have shown the effects of “reconsolidation blockade” to be transient. Here we show that muscimol inactivation of the dorsal hippocampus following memory reactivation produces a reversible impairment of step-down inhibitory avoidance memory in rats. Moreover, we show that the reversal of this effect is dependent on the passage of time, and not on repeated testing. The implications of the findings to the interpretation of the phenomenon of transient retrieval impairment induced by post-reactivation pharmacological interventions on memory systems are discussed.

© 2007 Elsevier B.V. All rights reserved.

Keywords: Memory; Inhibitory avoidance; Reconsolidation; Muscimol; Hippocampus; Temporary retrieval impairment

1. Introduction

The reconsolidation hypothesis has been one of the most intensely debated topics in memory research over recent years [1,14]. In summary, its tenet states that, after the traditional period of “memory consolidation” has come to an end, memory retrieval (i.e. reexposure to the context in which a task was learned) can render the memory trace again labile to pharmacological or behavioral interventions [13]. A number of studies providing evidence for and against this hypothesis has appeared in the past few years: support for the theory stems mostly from works demonstrating the amnesic effect of protein synthesis blockers or other pharmacological agents when administered after memory reactivation [27,30], whereas other studies have failed to show those effects [5,7,10] or have

shown opposite effects related to blockade of memory extinction [39].

Although the reasons for the reported disparity are unclear, and are probably inherent to the behavioral tasks and reactivation conditions used, there is enough evidence at this point to allow one to conclude that some kind of “reconsolidation-like” phenomenon (i.e. memory impairment following post-reactivation interventions) does occur at least in certain circumstances [14]. However, perhaps a more important criticism than the lack of universal reproducibility of “reconsolidation blockade” is the fact that a sizeable number of studies have found the memory impairments produced by it to be transient and/or reversible. This was first described in early studies by Mactutus et al. [25] and Judge and Quartermain [21], and has been confirmed by a number of authors [2,16,23,24,34,35,38,39], although some studies did not observe reversibility [6,11,15,37]. This recovery effect has been alternatively attributed to the passage of time [23] or to repeated testing [35], although most studies did not control for this factor, as evidence of recovery was based on multiple tests performed in the same animals.

* Corresponding author at: Departamento de Bioquímica, ICBS, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rua Ramiro Barcelos, 2600 (Prédio Anexo), 90035-003 Porto Alegre, RS, Brazil. Tel.: +55 51 3308 5557; fax: +55 51 3308 5540.

E-mail address: olavoamaral@yahoo.com.br (O.B. Amaral).

Using a reversible hippocampal inactivation technique [18], we present evidence indicating that the recovery of performance following post-retrieval reversible inactivation of the hippocampus occurs in the absence of repeated testing and should therefore probably be considered a phenomenon which occurs spontaneously with the passage of time. In the light of this finding, we discuss possible interpretations which might account for the so far unexplained phenomenon of temporary impairment of memory retrieval after post-reactivation pharmacological interventions.

2. Materials and methods

2.1. Animals

Subjects were male Wistar rats aged 2–3 months, weighing 220–260 g. Animals were housed five to a cage in a temperature-controlled colony room with food and water available *ad libitum*, and maintained on a 12-h light/dark cycle (lights on at 7:00 A.M.). Behavioral procedures were conducted during the light phase of the cycle between 9:00 and 17:00. Experimental procedures were performed in accordance with the U.S. National Research Council's Guide for Care and Use of Laboratory Animals [31]. All efforts were made to minimize the number of animals used and their suffering.

2.2. Surgery

Previously to the behavioral experiments, rats were implanted under thionembutal anesthesia (30 mg/kg, ip) with bilateral 9 mm, 23 gauge guide cannulae aimed 1 mm above the CA1 area of the dorsal hippocampus. Coordinates (anteroposterior, -4.3 mm from bregma, mediolateral, ± 3.0 mm from bregma, ventral, -1.4 mm from dura) were obtained from the atlas of Paxinos and Watson [32]. Animals were allowed to recover for at least 5 days after surgery.

2.3. Inhibitory avoidance task

The step-down inhibitory avoidance apparatus consisted of a 50 cm \times 50 cm \times 25 cm acrylic box with a 2.5 cm high, 8 cm wide platform at its left side. The floor of the chamber was a series of parallel 0.2 cm bronze bars spaced 1 cm apart. In the training session, animals were gently placed on the platform facing its rear wall, and upon descending with their four paws on the grid floor received a 2 s, 0.6 mA scrambled footshock.

In test sessions, animals were placed again on the platform and the latency to step-down was measured and used as an estimate of memory retention, with a ceiling latency of 180 s, after which animals were gently led down to the grid by the examiner. No footshock was applied in any of the test sessions.

2.4. Infusion procedures

On different times after training or testing on the inhibitory avoidance task (as described in the Experimental Design session below), animals received bilateral intrahippocampal injections of either muscimol (Sigma-Aldrich Co., 1.0 μ g in 1 μ L saline/hemisphere) or saline (NaCl 0.9%, 1 μ L/hemisphere) through the guidance cannulae. Injections were performed using a 1 cm long, 27 gauge needle which was fitted into the cannulae and connected to a 5 μ L microsyringe by a flexible polyethylene tube. Injections were carried out over 30 s, with the needle kept in place for up to 1 min when possible to aid diffusion.

2.5. Experimental design

In experiment 1, designed to test the effect of muscimol on memory consolidation, animals were trained in the inhibitory avoidance task and immediately after training received intrahippocampal injections of muscimol or saline. The

same animals were tested for retention of the task at 24 h, 48 h and 72 h after the training session.

In experiment 2, designed to test the effect of muscimol on "reconsolidation" of the task, animals were trained as described above and then tested for retention 24 h later. Immediately after the retention test, all animals with test latencies ≥ 25 s received intrahippocampal injections of muscimol or saline. Animals were then tested for retention of the task at 48 h and 72 h after the training session. Animals with latencies < 25 s in the first test were considered non-learners and were excluded from the study.

In experiment 3, designed to test if the effect of muscimol at 24 h post-training was dependent on memory reactivation, animals were trained in the inhibitory avoidance task and 24 h later received intrahippocampal injections of muscimol or saline in the absence of testing. They were later tested at 48 h and 72 h post-training for memory retention.

In experiment 4, designed to test if memory recovery after "reconsolidation blockade" at 72 h post-training depends on testing at 48 h, we repeated the procedures described in experiment 2, except that the test at 48 h was omitted (i.e. animals were tested and injected at 24 h post-training and were tested again only at 72 h).

2.6. Histology

Placement of cannulae was checked histologically post mortem. Following the last test session, animals were sacrificed and brains were dissected and placed in 10% formaldehyde solution. They were later cut and macrostructurally analysed, and only those with cannula marks in adequate places were considered in the statistical analysis.

2.7. Statistical analysis

As test latencies do not follow a Gaussian distribution (particularly due to the ceiling of 180 s imposed in the test session), we used non-parametric statistics throughout the study. Data for all experiments is presented as median and interquartile values, and Mann–Whitney's *U*-test was used for comparisons between the control and treated groups. In all comparisons, *p*-values of less than 0.05 were considered to indicate statistical significance.

3. Results

3.1. Post-training hippocampal inactivation by muscimol blocks consolidation of inhibitory avoidance

As seen in Fig. 1, immediate post-training injections of muscimol following the training session completely blocked consolidation of the task ($p < 0.001$ versus respective control group for all test sessions) as previously described [19]. The memory deficit following consolidation in the muscimol-injected animals persisted throughout sessions, with median test latencies similar to that of the training session.

3.2. Post-reactivation muscimol injection in the hippocampus causes transient impairment of inhibitory avoidance retrieval

Fig. 2 shows the effect of intrahippocampal muscimol injections performed immediately after the first test session, 24 h after training. As seen in the figure, hippocampal blockade following the first test session significantly impaired performance in the second test session carried out 48 h after training ($p < 0.001$). However, in the subsequent test session (72 h post-training), performance in both groups was similar ($p = 0.49$), indicating recovery from the temporary retrieval impairment induced by

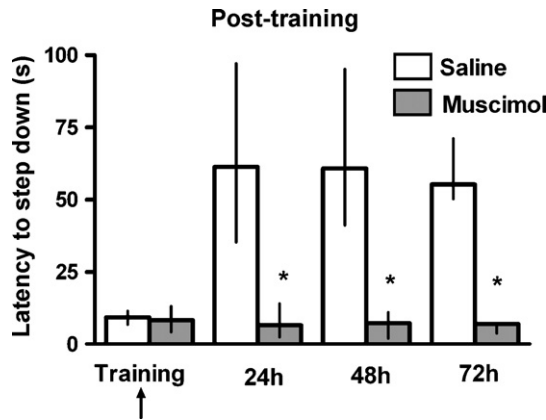


Fig. 1. Post-training intrahippocampal injection of muscimol impairs memory consolidation. Bars show median and interquartile range values for inhibitory avoidance latencies on the training session and on test sessions performed on the same animals 24 h, 48 h and 72 h later. Animals received bilateral intrahippocampal injections of either saline (1 μ L) (white bars, $n=11$) or muscimol (1.0 μ g in 1 μ L of saline) (grey bars, $n=9$) immediately after the first training session. Latencies were significantly different between groups in all 3 test sessions (Mann–Whitney’s U -test, $p < 0.001$).

muscimol. As shown in Fig. 3, this effect was dependent on retrieval of the task, since intrahippocampal injections of muscimol 24 h after training in the absence of a reactivation session had no effect on retrieval latencies at 48 and 72 h.

3.3. Temporary impairment of retrieval caused by post-reactivation muscimol injection in the hippocampus reverses with time in the absence of repeated testing

To verify if the reversal of the retrieval impairment induced by hippocampal blockade shown in Fig. 2 was due to the passage of time or to the effects of repeated testing, we repeated this experiment omitting the second test session at 48 h. Fig. 4

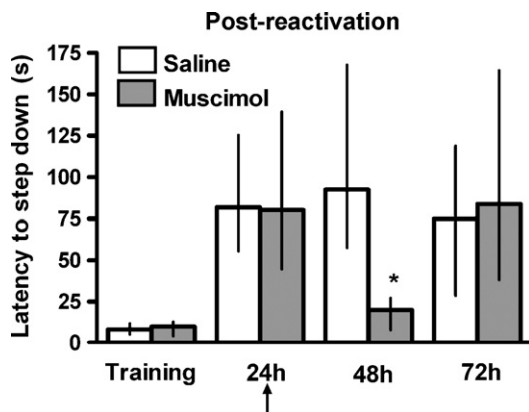


Fig. 2. Post-reactivation muscimol injection causes temporary impairment of inhibitory avoidance retrieval. Bars show median and interquartile range values for inhibitory avoidance latencies on the training session and on test sessions performed 24 h, 48 h and 72 h later. Animals received bilateral intrahippocampal injections of either saline (1 μ L) (white bars, $n=12$) or muscimol (1.0 μ g in 1 μ L of saline) (grey bars, $n=10$) immediately after the first test session. Latencies were significantly different between groups in the test session performed 48 h after training (Mann–Whitney’s U -test, $p < 0.001$), but not in the subsequent test session at 72 h ($p = 0.49$).

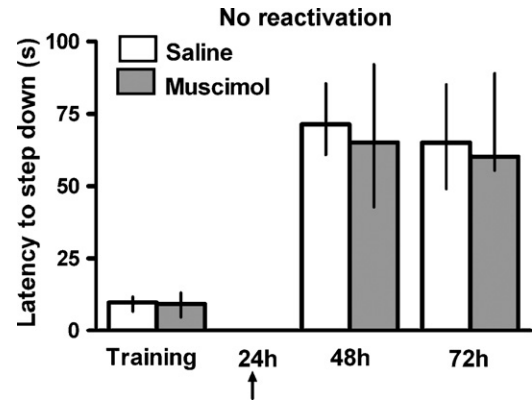


Fig. 3. Muscimol injection 24 h posttraining has no effect in the absence of reactivation. Bars show median and interquartile range values for inhibitory avoidance latencies on the training session and on test sessions performed 48 h and 72 h later. Animals received bilateral intrahippocampal injections of either saline (1 μ L) (white bars, $n=9$) or muscimol (1.0 μ g in 1 μ L of saline) (grey bars, $n=7$) 24 h after the training session with no test session preceding the injections. Subsequent test latencies were not significantly different at either 48 h (Mann–Whitney’s U -test, $p = 0.41$) or 72 h ($p = 1.0$) post-training.

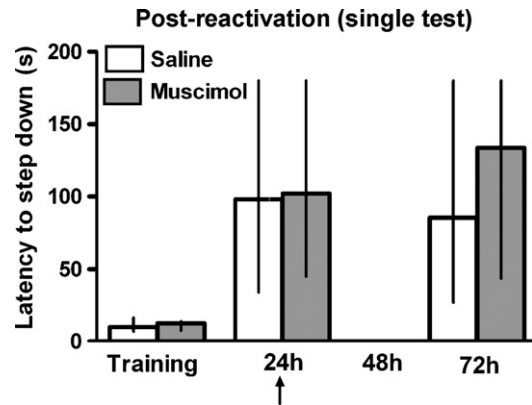


Fig. 4. Postreactivation muscimol-induced retrieval impairment reverses at 72 h in the absence of previous testing. Bars show median and interquartile range values for inhibitory avoidance latencies on the training session and on test sessions performed 24 h and 72 h later. Animals received bilateral intrahippocampal injections of either saline (1 μ L) (white bars, $n=10$) or muscimol (1.0 μ g in 1 μ L of saline) (grey bars, $n=10$) immediately after the first test session, and no tests were performed at 48 h. Test latencies were not significantly different at 72 h (Mann–Whitney’s U -test, $p = 0.74$).

shows that even in the absence of this session, there was no significant difference between groups in test 3 ($p = 0.73$). This indicates that the reversal of “reconsolidation blockade” occurs spontaneously with the passage of time, and does not depend on repeated testing.

4. Discussion

Together, our results replicate and extend the recent finding by Prado-Alcalá et al. [35] that temporary inactivation of the hippocampus by tetrodotoxin after memory retrieval induces a reversible form of “reconsolidation blockade”, although we performed this inactivation through overstimulation of GABAergic neurotransmission [18,19], which up to our knowledge had not yet been shown to affect reconsolidation. Our findings are also

similar to those reported with anisomycin by various groups [23,34,39]. Of note is the fact that the duration of transient retrieval impairment in our study is virtually the same as that observed with anisomycin by Vianna et al. [39] in a study of memory extinction using the same task.

The fact that other studies using this task have failed to show these effects is not necessarily paradoxical. To control for extinction, the study by Cammarota et al. [7] used “pure reactivation” sessions in which animals did not step down from the platform; however, recent data suggests that reconsolidation might be driven by memory “updating” due to mismatch between what is expected (i.e. footshock) and what actually happens (i.e. absence of shock) [28,33,37]. Therefore, stepping down from the platform in the absence of footshock could conceivably be a necessary condition for post-reactivation amnesia to occur.

In spite of these discrepancies, there is now a consistent body of evidence supporting the view that reconsolidation-like phenomena do occur in many tasks, including inhibitory avoidance [34,35], at least in some conditions. However, there is also enough evidence to suggest that “reconsolidation blockade” induced by post-reactivation administration of amnesic agents can be transient. In fact, among studies which performed repeated or delayed testing after an observed performance deficit, the ones in which spontaneous recovery was observed [2,21,23–25,34,35,38,39] actually seem to outnumber those in which it was not. [6,11,15,37]. Nevertheless, most of these studies seem to have used the transience of retrieval impairment to argue against reconsolidation (on the basis that its blockade does not produce the same effects as blocking consolidation), with virtually no discussion of its mechanisms. However, we believe the reproducibility of this phenomenon throughout a variety of tasks deserves study by itself. Besides, the reversibility of amnesia in these studies does not necessarily constitute evidence against the reconsolidation hypothesis, as all of the studies dealing with this effect have shown it to be dependent on memory reactivation.

The question of why the amnesia induced by reconsolidation blockade should be transient instead of permanent, therefore, remains unanswered by the current theories of reconsolidation. A theoretical framework for this phenomenon requires, among other things, the differentiation between spontaneous (i.e. time-dependent) and induced (i.e. multiple-test dependent) recovery of memory following post-reactivation interventions. In this sense, our study advances on the findings of others by showing that, at least in the step-down inhibitory avoidance task, recovery of memory fully occurs in the absence of repeated testing. To our knowledge, this variable was addressed only by the study of Lattal and Abel [23] (using systemic injections of anisomycin and contextual fear conditioning), although a similar effect was also cursorily observed by Vianna et al. [39] in their study of memory extinction.

By accepting our results as evidence that recovery of memory after “reconsolidation blockade” occurs spontaneously over time, we believe a few hypotheses can be brought forward to try to explain the mechanisms of memory recovery in these studies. Some of these explanations will be discussed below:

4.1. Facilitated extinction

The simplest explanation for our findings would be that muscimol (or, in other studies, anisomycin or tetrodotoxin) facilitates extinction. Since spontaneous recovery from extinction is well described [36], this explanation would solve the question within the existing framework of memory research; in fact, it has been used to explain a similar finding in at least one study using anisomycin [17]. However, we consider this hypothesis to be highly unlikely. First of all, extinction is a form of learning [3,8,40], and it would be rather odd that drugs which consistently block consolidation would all have the opposite effect on extinction. Moreover, there is evidence that both muscimol [9] and anisomycin [3,39] actually disrupt memory extinction when injected into the hippocampus. Therefore, explaining temporary retrieval impairment on the basis of facilitated extinction seems to be a case of trying to force the data into an existing model instead of building a reasonable model for the data.

4.2. Transient silencing of the trace

Another possibility is that the memory trace could remain transiently silenced for some time after reconsolidation blockade, to be expressed again only in later times. Transient inhibition of retrieval is not unheard of: in fact, it has been widely observed in the study of memory extinction, one of the hallmarks of which is spontaneous recovery [4,36]. This has been brought forward as evidence that the original memory trace is not erased during extinction, and has been attributed to various factors, including ‘temporal weighing’ between conflicting memories [12] and recovery of incompletely extinguished traces through reconsolidation [37]. Irrespective of its cause, however, it exemplifies a situation in which a memory trace is made transiently less accessible to retrieval, but eventually returns in the absence of extinction reinforcement (possibly because the original memory (i.e. aversive stimulus) is of higher survival value than the extinction memory).

It is feasible that spontaneous recovery following reconsolidation blockade could follow a similar pathway. However, it is somewhat hard to understand why the original memory would compete with the memory of the blocked reactivation trial. It is also doubtful that reconsolidation blockade could be reinforced: one could experiment with multiple reactivation sessions followed by the same pharmacological intervention, but the biological significance of this kind of reinforcement is not as clear as it is for extinction. Still, the possibility of a temporary “quarantine” of the trace should be kept in mind as a feasible hypothesis to explain our results.

4.3. Interfering conditioning

It is also possible that post-reactivation muscimol injections could induce some form of short-lasting conditioning to the inhibitory avoidance apparatus which would lead the animal to step down quickly (i.e. an association between the platform and unpleasant symptoms which would not be avoided by stepping down). Such a form of conditioning might conceivably fade

away over time and allow the original memory to return. It seems unlikely, however, that such an effect would occur with so many substances over a variety of tasks and species. Moreover, such a form of conditioning should also be sensitive to the amnesic effects of muscimol or anisomycin, and therefore would be unlikely to be learned at all.

4.4. Multiplicity of traces

A different framework to understand the transience of reconsolidation blockade is the possibility that a behavioral task is not consolidated as a single trace; therefore, the trace that is expressed and “blocked” at a given point might not be the one which will be permanently stored and expressed in later times. This kind of parallel processing has been shown to occur for short- and long-term memory [20], for example, and although a similar dissociation between recent and remote long-term memory has not been demonstrated clearly, there is enough evidence that memory processing does continue for a long period of time. The most accepted form of late memory processing is “systems consolidation”, in which memory retrieval becomes progressively independent of the hippocampus over days or weeks, possibly due to the assembly of long-lasting neocortical connections underlying remote memory storage [41]. However, other features also distinguish recent and remote memories, including context dependence [22], sensitivity to reconsolidation [16,27] and, in humans, progressive “semantization” of memory (i.e. loss of detail and sensory context, leaving only the gist of the memory intact) [29].

Therefore, as features of remote memories are not exactly the same as those of recent ones, it is at least feasible to imagine that “recent” (or “transient”) and “remote” (or “permanent”) memory traces could be processed in parallel, at least during some points in their existence. If this was the case, the establishment of more than one memory trace could occur during the classical consolidation period, leading to independent traces with different “life cycles” to coexist after this period. Initially, a transient version of the trace, dependent on the hippocampus for retrieval, might be predominant and susceptible to labilization and reconsolidation blockade by the inactivation of this structure; however, this blockade would leave intact the seeds of a more permanent cortical trace, whose consolidation process was initiated in the immediate post-training period, but which will only be available for retrieval when fully consolidated, possibly through the slow, gradual formation of neocortical assemblies [26,41].

This view would explain the fact that some [16,27] (but not all [11,37]) studies have shown that reconsolidation blockade can be induced in recent but not in remote memories. Another prediction of this model would be that, in experimental settings in which temporary retrieval impairment occurs after post-reactivation interventions, memory recovery should occur at a given interval after the training session, independently of the moment in which reconsolidation blockade is performed. The concept of independent traces is also in keeping with recent theories of consolidation such as the “multiple trace theory” [29], as well as with the view that the concept of “memory

consolidation” should be extended over time to account for reconsolidation and other phenomena [13]. This hypothesis to explain the transience of “reconsolidation blockade”, however, still awaits further experimental support.

5. Conclusion

Transient retrieval impairment caused by pharmacological interventions following memory reactivation has been used as evidence both in favor of and against the so-called reconsolidation theory. In this study, we have extended these findings by showing that (a) inactivation of the hippocampus by the GABA-A agonist muscimol produces a transient impairment in retrieval of inhibitory avoidance memory and (b) this impairment reverses spontaneously with time in the absence of multiple testing. Although the mechanisms for this effect are still unclear, and the hypotheses we have brought forward to explain it remain to be tested, we believe that any comprehensive theory dealing with memory consolidation and reconsolidation must be able to account for the transience of retrieval impairment following post-reactivation manipulation of memory systems.

Acknowledgements

This work was supported by grants from PRONEX and CNPq/FAPERGS.

References

- [1] Alberini CM. Mechanisms of memory stabilization: are consolidation and reconsolidation similar or distinct processes? *Trends Neurosci* 2005;28:51–6.
- [2] Anokhin KV, Tiunova AA, Rose SPR. Reminder effects—reconsolidation or retrieval deficit? Pharmacological dissection with protein synthesis inhibitors following reminder for a passive avoidance task in young chicks. *Eur J Neurosci* 2002;15:1759–65.
- [3] Berman DE, Dudai Y. Memory extinction, learning anew, and learning the new: dissociations in the molecular machinery of learning in cortex. *Science* 2001;291:2417–9.
- [4] Berman DE, Hazvi S, Stehberg J, Bahar A, Dudai Y. Conflicting processes in the extinction of conditioned taste aversion: behavioral and molecular aspects of latency, apparent stagnation, and spontaneous recovery. *Learn Mem* 2003;10:16–25.
- [5] Biedenkapp JC, Rudy JW. Context memories and reactivation: constraints on the reconsolidation hypothesis. *Behav Neurosci* 2004;118:56–64.
- [6] Boccia MM, Blake MG, Acosta GB, Baratti CM. Memory consolidation and reconsolidation of an inhibitory avoidance task in mice: effects of a new different learning task. *Neuroscience* 2005;135:19–29.
- [7] Cammarota M, Bevilacqua LR, Medina JH, Izquierdo I. Retrieval does not induce reconsolidation of inhibitory avoidance memory. *Learn Mem* 2004;11:572–8.
- [8] Cammarota M, Bevilacqua LR, Barros DM, Vianna MR, Izquierdo LA, Medina JH, Izquierdo I. Retrieval and the extinction of memory. *Cell Mol Neurobiol* 2005;25:465–74.
- [9] Corcoran KA, Desmond TJ, Frey KA, Maren S. Hippocampal inactivation disrupts the acquisition and contextual encoding of fear extinction. *J Neurosci* 2005;25:8978–87.
- [10] Dawson RG, McGaugh JL. Electroconvulsive shock effects on a reactivated memory trace: Further examination. *Science* 1969;166:525–7.
- [11] Debiec J, LeDoux JE. Disruption of reconsolidation but not consolidation of auditory fear conditioning by noradrenergic blockade in the amygdala. *Neuroscience* 2004;129:267–72.

- [12] Devenport LD. Spontaneous recovery without interference: Why remembering is adaptive. *Animal Learn Behav* 1998;26:172–81.
- [13] Dudai Y, Eisenberg M. Rites of passage of the engram: reconsolidation and the lingering consolidation hypothesis. *Neuron* 2004;44:93–100.
- [14] Dudai Y. Reconsolidation: the advantage of being refocused. *Curr Opin Neurobiol* 2006;16:174–8.
- [15] Duvarci S, Nader K. Characterization of fear memory reconsolidation. *J Neurosci* 2004;24:9269–75.
- [16] Eisenberg M, Dudai Y. Reconsolidation of fresh, remote, and extinguished fear memory in Medaka: old fears don't die. *Eur J Neurosci* 2004;20:3397–403.
- [17] Fischer A, Sananbenesi F, Schrick C, Spiess J, Radulovic J. Distinct roles of hippocampal de novo protein synthesis and actin rearrangement in extinction of contextual fear. *J Neurosci* 2004;24:1962–6.
- [18] Holt W, Maren S. Muscimol inactivation of the dorsal hippocampus impairs contextual retrieval of fear memory. *J Neurosci* 1999;19:9054–62.
- [19] Izquierdo I, Medina JH. GABAA receptor modulation of memory: the role of endogenous benzodiazepines. *Trends Pharmacol Sci* 1991;12:260–5.
- [20] Izquierdo I, Barros DM, Mello e Souza T, de Souza MM, Izquierdo LA, Medina JH. Mechanisms for memory types differ. *Nature* 1998;393:635–6.
- [21] Judge ME, Quartermain D. Characteristics of retrograde amnesia following reactivation of memory in mice. *Physiol Behav* 1982;28:585–90.
- [22] Kim JJ, Fanselow MS. Modality-specific retrograde amnesia of fear. *Science* 1992;256:675–7.
- [23] Lattal KM, Abel T. Behavioral impairments caused by injections of the protein synthesis inhibitor anisomycin after contextual retrieval reverse with time. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101:4667–72.
- [24] Litvin OO, Anokhin KV. Mechanisms of memory reorganization during retrieval of acquired behavioral experience in chicks: the effects of protein synthesis inhibition in the brain. *Neurosci Behav Physiol* 2000;30:671–8.
- [25] Mactutus CF, Riccio DC, Ferek JM. Retrograde amnesia for old (reactivated) memory: some anomalous characteristics. *Science* 1979;204:1319–20.
- [26] McClelland JL, McNaughton BL, O'Reilly RC. Why there are complementary learning systems in the hippocampus and neocortex: insights from the successes and failures of connectionist models of learning and memory. *Psychol Rev* 1995;102:419–57.
- [27] Milekic MH, Alberini CM. Temporally graded requirement for protein synthesis following memory reactivation. *Neuron* 2002;36:521–5.
- [28] Morris RG, Inglis J, Ainge JA, Olverman HJ, Tulloch J, Dudai Y, Kelly PA. Memory reconsolidation: sensitivity of spatial memory to inhibition of protein synthesis in dorsal hippocampus during encoding and retrieval. *Neuron* 2006;50:479–89.
- [29] Moscovitch M, Nadel L, Winocur G, Gilboa A, Rosenbaum RS. The cognitive neuroscience of remote episodic, semantic and spatial memory. *Curr Opin Neurobiol* 2006;16:179–90.
- [30] Nader K, Schafe GE, LeDoux JE. Fear memories require protein synthesis in the amygdala for reconsolidation after retrieval. *Nature* 2000;406:722–6.
- [31] National Research Council. Guide for the care and use of laboratory animals. Washington: National Academies Press; 1996.
- [32] Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 3rd ed. San Diego: Academic Press; 1997.
- [33] Pedreira ME, Perez-Cuesta LM, Maldonado H. Mismatch between what is expected and what actually occurs triggers memory reconsolidation or extinction. *Learn Mem* 2004;11:579–85.
- [34] Power AE, Berlau DJ, McGaugh JL, Steward O. Anisomycin infused into the hippocampus fails to block "reconsolidation" but impairs extinction: the role of re-exposure duration. *Learn Mem* 2006;13:27–34.
- [35] Prado-Alcalá RA, Diaz Del Guante MA, Garin-Aguilar ME, Diaz-Trujillo A, Quirarte GL, McGaugh JL. Amygdala or hippocampus inactivation after retrieval induces temporary memory deficit. *Neurobiol Learn Mem* 2006;86:144–9.
- [36] Rescorla R. Spontaneous recovery. *Learn Mem* 2004;11:501–9.
- [37] Rossato JI, Bevilaqua LR, Medina JH, Izquierdo I, Cammarota M. Retrieval induces hippocampal-dependent reconsolidation of spatial memory. *Learn Mem* 2006;13:431–40.
- [38] Salinska E, Bourne RC, Rose SP. Reminder effects: the molecular cascade following a reminder in young chicks does not recapitulate that following training on a passive avoidance task. *Eur J Neurosci* 2004;19:3042–7.
- [39] Vianna MR, Szapiro G, McGaugh JL, Medina JH, Izquierdo I. Retrieval of memory for fear-motivated training initiates extinction requiring protein synthesis in the rat hippocampus. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:12251–4.
- [40] Vianna MR, Coitinho AS, Izquierdo I. Role of the hippocampus and amygdala in the extinction of fear-motivated learning. *Curr Neurovasc Res* 2004;1:55–60.
- [41] Wiltgen BJ, Brown RA, Talton LE, Silva AJ. New circuits for old memories: the role of the neocortex in consolidation. *Neuron* 2004;44:101–8.

**II.2. Memory reconsolidation and transient amnesia: a model
integrating systems consolidation, synaptic reinforcement and
multiple memory traces**

Submetido ao periódico *Hippocampus* em setembro de 2007

Memory reconsolidation and transient amnesia: a model integrating
systems consolidation, synaptic reinforcement and multiple memory traces

Olavo B. Amaral¹, Remus Osan², Rafael Roesler³, Adriano B. L. Tort^{1,4}

¹ *Department of Biochemistry, Institute for Basic Health Sciences, Federal University of Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS, Brazil.*

² *Center for Systems Neurobiology, Department of Pharmacology, Boston University. Boston, MA, USA.*

³ *Department of Pharmacology, Institute for Basic Health Sciences, Federal University of Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS, Brazil.*

⁴ *Department of Mathematics and Center for Biodynamics, Boston University. Boston, MA, USA.*

Running Title: A model for transient amnesia

Text Pages: 48

Figures: 5

Tables: 2

Corresponding Author:

Olavo B. Amaral

Departamento de Bioquímica, ICBS

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Rua Ramiro Barcelos, 2600 (Prédio Anexo)

Porto Alegre, RS, Brazil

CEP 90035-003

Phone: (55-51) 3308-5557

Fax: (55-51) 3308-5540

E-mail: olavoamaral@yahoo.com.br

Keywords: Hippocampus, consolidation, memory recovery, synaptic reentry
reinforcement, connectionist network

Abstract

Memory reconsolidation has been perhaps the most debated topic in memory research over the past decade. Although much evidence has been brought forward to prove its existence and to analyze the conditions in which it occurs, some important controversies remain. Among the most significant of these is the fact that many studies have found the effects of reconsolidation blockade by post-reactivation injection of amnesic agents to be transient, a fact that has led the field back into a decades-old argument on whether experimental amnesia should be attributed to impairments of memory storage or of memory retrieval. By building on the view that reconsolidation is a process which is embedded into the more prolonged stages of consolidation, we discuss how transient amnesia following reconsolidation blockade can be viewed within a framework of systems consolidation, persistent synaptic reinforcement and multiple memory traces. Based on this, we suggest a model of how prolonged consolidation can account for memory recovery following amnesia, in a way that explains differences between consolidation and reconsolidation without the need to dwell into the discussion between storage- and retrieval-based explanations for memory impairment.

Introduction

The concept of memory reconsolidation – that is, the idea that retrieval of a memory increases its lability to a variety of amnestic agents – was initially proposed almost 40 years ago (Misanin et al., 1968; Schneider and Sherman, 1968). However, it was cooled off by the mainstream view of memory consolidation at the time, and did not return to the spotlight until the end of the 20th century, when a new wave of studies dealing with the effect of amnestic agents after reexposure to a learning context (Nader et al., 2000; Przybylski et al., 1999; Taubenfeld et al., 2001) set off a heated debate among researchers in the memory field, which has sparked considerable interest ever since (Dudai, 2006; Dudai and Eisenberg, 2004; Tronson and Taylor, 2007). An extensive body of evidence has since been brought forward either in favor of or against the so-called “reconsolidation hypothesis”: support for the hypothesis usually came from studies demonstrating the amnestic effects of post-reexposure interventions – especially injections of protein synthesis inhibitors (Milekic and Alberini, 2002; Nader et al., 2000) – while evidence against it arose from works showing either no such effects (Biedenkapp and Rudy, 2004; Cammarota et al., 2004) or opposite effects related to memory extinction (Berman and Dudai, 2001; Vianna et al., 2001).

At this point, the field seems to be somewhat more settled in the conclusion that, at least under some circumstances or “boundary conditions” (Dudai, 2006; Tronson and Taylor, 2007), some kind of post-reactivation labilization can indeed occur. Moreover, many of these conditions have begun to be described: the occurrence of reconsolidation after exposure to the original memory context has been shown to depend on duration of exposure to the original context (Eisenberg et al., 2003; Pedreira and Maldonado, 2003;

Suzuki et al., 2004), on the absence of significant extinction (Eisenberg et al., 2003) and on the encoding of new information at the time of retrieval (Morris et al., 2006; Pedreira et al., 2004; Rossato et al., 2006, 2007). The molecular requirements of such a reconsolidation process have also begun to emerge, and have been shown to be similar but not identical to those of the initial consolidation process (Alberini, 2005; Lee et al., 2004; Taubenfeld et al., 2001; Tronson and Taylor, 2007). Finally, temporal constraints on the susceptibility of memories to post-reactivation amnesic interventions (Bocchia et al., 2006; Eisenberg and Dudai, 2004; Frankland et al., 2006; Milekic and Alberini, 2002; Suzuki et al., 2004) have led some authors to propose that reconsolidation phenomena may be part of a prolonged phase of consolidation (Dudai, 2004, 2006; Dudai and Eisenberg, 2004), reconciling the phenomenon with some aspects of traditional consolidation theory.

Nevertheless, various controversies remain in the reconsolidation field. Perhaps the most significant of these controversies at this time is the fact that many studies have shown the effects of “reconsolidation blockade” to be transient or reversible (Amaral et al., 2007; Judge and Quartermain, 1982; Lattal and Abel, 2004; Mactutus et al., 1979; Power et al., 2006). This has led some authors (Cahill et al., 2001; Power et al., 2006) to suggest that the effect of post-reexposure interventions is not related to blockade of a putative reconsolidation process, but to some form of temporary retrieval impairment, reigniting a decades-old controversy on whether amnesia should be attributed to storage or retrieval impairments (Miller and Matzel, 2006; Nader and Wang, 2006; Riccio et al., 2006; Squire, 2006). On the other hand, other studies have failed to observe memory recovery following disruptions during the reconsolidation period (Bocchia et al., 2005; Bustos et al., 2006; Duvarci and Nader, 2004; Lee et al., 2004; Tronel and Alberini, 2007), and many authors have tended to view transient amnesia in this situation as being

unrelated to reconsolidation blockade, attributing it instead to spontaneous recovery after facilitated extinction (Alberini, 2007; Cai et al., 2006; Fischer et al., 2004) or other phenomena.

In this article, we propose a model which tries to explain the recovery of memories after amnesia in a way that reconciles the apparently conflicting data on the transience or permanency of reconsolidation blockade without the need to assume fundamental dissimilarities between the mechanisms of amnesia in both cases. With this objective in mind, we will begin by briefly reviewing some issues on transient amnesia, as well as concepts concerning systems consolidation and synaptic reinforcement, which will be relevant for understanding the model.

Transient amnesia and memory recovery

Evidence for transient amnesia bothering a seemingly peaceful turf in the memory field is nothing new. In fact, before causing controversy in the reconsolidation field, it was used to argue against consolidation theory back from as early as the 1960s (Lewis et al., 1968; Zinkin and Miller, 1967). From then up to the 1980s, various reports showed that amnesia induced by post-training interventions such as electroconvulsive shock (ECS) (Lewis et al., 1968; Quartermain et al., 1970; Zinkin and Miller, 1967) or protein synthesis inhibitors (Quartermain and McEwen, 1970; Squire and Barondes, 1972) was reversible. This reversal was usually demonstrated by means of some kind of reinforcement, such as a reminder stimulus (Miller and Kraus, 1977; Quartermain et al., 1970) or a pharmacological injection either before training (Gold and Sternberg, 1978) or before testing (Bradley and Galal, 1988); nevertheless, in some cases memory recovery was also shown to occur spontaneously (Quartermain and

McEwen, 1970; Serota, 1971; Squire and Barondes, 1972). Evidence for transient amnesia has also been described in humans following transient insults such as closed head injury (Russell and Nathan, 1946), ECS (Squire et al., 1975) and transient global amnesia (Kritchevsky and Squire, 1989). In these cases, temporally graded amnesia usually ensues but gradually “shrinks” due to the recovery of more remote memories, while a residual memory deficit for recent memory usually persists over time (Squire, 2006).

Findings of transient or reversible amnesia were used by some authors to argue that memory deficits caused by post-training interventions were not due to blockade of a consolidation process, but rather due to other factors such as nonspecific, long-lasting effects (Serota, 1971), inhibition of the formation of retrieval links despite storage of the memory representation (Miller and Springer, 1973), or modulatory effects related to state dependence (Hinderliter et al., 1975). Nevertheless, others argued that reversibility of amnesia with reminders reflected potentiation of residual memory traces after storage disruption to a point at which they were behaviorally expressed (Gold et al., 1973; Gold and King, 1974). The zeitgeist ended up favoring the consolidation theorists (Dudai, 2004; Squire, 2006), and the discussion eventually quieted down even though full agreement on the issue was never reached (Miller and Matzel, 2006; Millin et al., 2001).

The possibility of some form of retrieval impairment underlying amnesia has occasionally returned in the literature since then (de Hoz et al., 2004; Miller and Matzel, 2000; Millin et al., 2001); however, it regained force recently after a reasonable number of studies confirmed older findings (Judge and Quartermain, 1982; Mactutus et al., 1979) that amnesia following so-called “reconsolidation blockade” (post-retrieval intervention of amnestic agents) was transient or reversible (Amaral et al., 2007; Anokhin et al., 2002; Eisenberg and Dudai, 2004; Fischer et al., 2004; Lattal and Abel,

2004; Litvin and Anokhin, 2000; Power et al., 2006; Prado-Alcalá et al., 2006; Salinska et al., 2004; Szapiro et al., 2003; Vianna et al., 2001) (Table 1). On the other hand, a similarly large number of studies which did test for amnesia persistence after variable periods did not observe such recovery effects (Boccia et al., 2004; Boccia et al., 2005; Boccia et al., 2006; Bustos et al., 2006; Child et al., 2003; Debiec and LeDoux, 2004; Duvarci and Nader, 2004; Lee et al., 2004; Pedreira and Maldonado, 2003; Rossato et al., 2006; Suzuki et al., 2004; Tronel and Alberini, 2007; Tronel et al., 2005) (Table 2).

Characterization of what causes this disparity has been lacking. Duration of protein synthesis inhibition has been shown to correlate with amnesia persistence in a recent study showing that a single injection of cycloheximide following reactivation of a morphine place preference caused transient amnesia, while two injections 5 h apart had a persistent amnesic effect (Milekic et al., 2006). In another study, a systemic injection of anisomycin during reconsolidation caused persistent amnesia, while an injection of corticosterone using a similar protocol had a transient effect, although the authors attributed the latter to facilitated extinction (Cai et al., 2006). Finally, differences among behavioral protocols are also likely to play a role, as even though both transience and permanency have been reported by different groups for similar drugs in the same kind of tasks, such as inhibitory avoidance (Power et al., 2006; Tronel et al., 2005) and contextual fear conditioning (Lattal and Abel, 2004; Suzuki et al., 2004), results from specific laboratories using a fixed behavioral protocol have tended to yield consistent results of either persistent (Tronel and Alberini, 2007; Tronel et al., 2005) or transient (Amaral et al., 2007; Szapiro et al., 2003; Vianna et al., 2001) amnesia using a variety of treatments.

Nevertheless, the fact that there is ample evidence showing that either transient or persistent amnesia can result from both post-training and post-reexposure

interventions suggests the need for a model which can encompass both possibilities, as parsimony suggests that the reversibility or permanency of memory impairments should not lead one to invoke more than one mechanism for amnesia (Nader, 2007). Importantly, however, in many studies in which transient amnesia was observed (Amaral et al., 2007; Anokhin et al., 2002; Lattal and Abel, 2004; Power et al., 2006; Prado-Alcalá et al., 2006; Szapiro et al., 2003; Vianna et al., 2001), the same treatments which caused transient effects on reconsolidation caused persistent amnesia when applied in the consolidation period. Therefore, even though both transient and persistent amnesia have been described to occur following blockade of either consolidation or reconsolidation, the possibility of spontaneous recovery following reconsolidation blockade appears to be significantly greater in a variety of protocols.

Moreover, while some studies showed memory recovery after amnesia to occur only in the presence of reminders (Eisenberg and Dudai, 2004; Fischer et al., 2004), in many others it was shown to occur spontaneously (Amaral et al., 2007; Lattal and Abel, 2004; Szapiro et al., 2003; Vianna et al., 2001). This fact (i.e. that memories can recover with no stimulus other than the passage of time) suggests that late, dynamic processes occurring endogenously in the absence of behavioral manipulations are likely to be involved in the mechanisms underlying memory recovery. Since such long-term processes have also been proposed to be linked to reconsolidation (Alberini, 2007; Dudai and Eisenberg, 2004), we will now move on to review some data concerning late events which happen to memory traces after the initial consolidation period.

Systems consolidation, synaptic reinforcement and late events on the life of memories

Although extensive research has yielded a large body of knowledge concerning the initial few hours of memory consolidation (McGaugh, 2000), significantly less is known about what happens to memories afterwards. And, although traditional memory research has sometimes tended to view memory as “consolidated” after a few hours (the timeframe in which so-called “synaptic” or “cellular” consolidation is thought to occur), it is well demonstrated that mnemonic traces undergo changes long after this period is over (Dudai, 2004). By far the most studied of these late phenomena in memory consolidation is “systems consolidation”, the process which leads the retrieval of declarative memories to become independent of the hippocampus, putatively as a result of the establishment of a permanent neocortical representation. (Frankland and Bontempi, 2005; Wiltgen et al., 2004). This is supported mostly by the finding of temporally graded retrograde amnesia in hippocampal lesion studies (Rempel-Clower et al., 1996; Squire and Alvarez, 1995), as well as by some functional imaging (Bontempi et al., 1999) and gene expression (Ross and Eichenbaum, 2006) studies showing different patterns of brain activation for recent and remote memories.

Other things also happen to memories on the long run, however. Memory traces become less dependent on context, for example (Kim and Fanselow, 1992; Winocur et al., 2007), which is probably analogous to the “semantization” of memory we experience in everyday life (in which semantic memory for facts persists while the contextual, episodic information used for building it is frequently lost). Differential sensitivity of recent and remote long-term memories to specific interventions, such as late protein synthesis inhibition, has also been shown to exist (Bekinschtein et al., 2007). Finally, a number of recent studies has suggested that older memories become less sensitive to the amnestic effects of reconsolidation blockade (Boccia et al., 2006; Eisenberg and Dudai, 2004; Frankland et al., 2006; Milekic and Alberini, 2002; Suzuki

et al., 2004). While this finding has not been universally replicated (Debiec and LeDoux, 2004; Debiec et al., 2002), it has brought important support to the view that memory reconsolidation occurs predominantly during the timeframe in which systems consolidation is occurring, suggesting that the two processes could be interrelated (Alberini, 2007; Dudai and Eisenberg, 2004).

Intrinsic to the nature of systems consolidation is the idea that declarative memories are supported by multiple systems during their long-term existence, initially relying on the hippocampal formation for storage and retrieval and later on neocortical connections which allow retrieval independently of the hippocampus. Theoretical models (Alvarez and Squire, 1994; McClelland et al., 1995) have argued that the existence of this “dual” system allows fast learning to occur in the hippocampus without interfering with existing structured knowledge, which is slowly extracted by the cortex based on replay of hippocampal traces. There are different views to explain this duality: the hippocampal trace has been proposed to be an index to cortical areas underlying the representation of a memory (Teyler and DiScenna, 1986; Morris, 2006), or alternately as containing a compressed version of the memory which will eventually be consolidated in the cortex (McClelland et al., 1995). Controversies over the role of the hippocampus on the retrieval of episodic memory have also led some to propose changes in this model, such as the “multiple trace theory” (Moscovitch et al., 2006; Nadel and Moscovitch, 1997), which argues that long-term memory stability should be supported by proliferation of multiple memory traces within the medial temporal lobe (along with their respective neocortical connections). Nevertheless, there is usually agreement on the fact that long-term consolidation of memory is brought about by the gradual formation of a more distributed memory trace.

Independently of the explanation, the concept that at least some memories eventually become independent of the hippocampus for retrieval leads to the natural assumption that some form of prolonged communication between the hippocampus and the neocortex is necessary to achieve a cortical representation (Dudai, 2004; Wang et al., 2006). The most obvious of these forms of communication is conscious retrieval of the memory (Dudai, 2004; McClelland et al., 1995), a fact which is supported by the enhancing effect of context reexposure on memory persistence (Parvez et al., 2006). Another frequently invoked form of communication, however, is the spontaneous replay of hippocampal firing patterns, which has been shown to occur both shortly after learning in the awake state (Foster and Wilson, 2006; Lin et al., 2005) and during slow-wave and rapid eye movement (REM) sleep after a learning episode (Louie and Wilson, 2001; Pavlides and Winson, 1989; Ribeiro et al., 2004; Wilson and McNaughton, 1994).

Experimental evidence suggesting that late hippocampal activity is necessary for permanent memory storage has been brought forward in recent years. Late disruptions of the hippocampus targeting glutamatergic receptors (Riedel, 1999; Shimizu et al., 2000), protein kinases (Pastalkova et al., 2006; Wang et al., 2003) and transcription factors (Taubenfeld et al., 2001) have been shown to impair memory even when started later than 24 h after training. This data suggests that some form of late replay of synaptic activity initially involved in learning is crucial to the maintenance of long-term memory, and led Wittenberg and Tsien (2002) to formulate the concept of “synaptic reentry reinforcement” (SRR). Using computational models, they have suggested that synaptic reactivation in neuronal ensembles could underlie not only maintenance of a memory trace within a network itself (e.g. within the hippocampus) but also lead to the consolidation of the trace in areas connected to the network (such as the neocortex) (Wittenberg et al., 2002) (for a schematic representation of this principle, see Fig. 1).

More recently, the same group has also provided evidence arguing that the same kind of N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor induced reinforcement could also underlie long-term maintenance of the trace in the cortex (Cui et al., 2004), a fact which is also supported by the recent demonstration that injection of a protein kinase M zeta inhibitor in the insular cortex can apparently erase a memory acquired many weeks before (Shema et al., 2007). Such a long-term, endogenous reinforcement process might conceivably be related to memory recovery in models of transient amnesia, as the spontaneous nature of recovery in many of these models (Amaral et al., 2007; Lattal and Abel, 2004; Squire and Barondes, 1972; Vianna et al., 2001) suggests that an endogenous process would be required to account for such an effect.

Can the slow synaptic changes of system consolidation account for memory recovery from transient amnesia?

The extensive data on transient amnesia after disruptions of consolidation and reconsolidation suggests that a plausible model to explain memory recovery should account for the following features:

1. Either transient or permanent amnesia can result both from interventions in the initial consolidation period (i.e. consolidation blockade) and from interventions during episodes of memory reactivation (i.e. reconsolidation blockade), depending on the experimental protocol used.

2. Transient amnesia seems to occur more frequently after interventions following memory reactivation (i.e. during reconsolidation) than after interventions occurring in the initial consolidation period, which usually result in permanent effects.

3. Memory recovery, when it occurs, can be driven by experimental manipulations (i.e. reminders, cues, context reexposure), but can also happen spontaneously, particularly after post-reactivation interventions.

The finding that transient amnesia can be induced by pharmacological manipulations leads to the natural assumption that the memory trace is being partially disrupted by these interventions, in the sense that memory expression is initially impaired, but a part of the trace is left intact and is able to drive retrieval later on. This could be due either to partial disruption of a single memory trace or to disruption of one “version” of the trace if memory traces are assumed to be dual or multiple. The fact that recovery from amnesia can occur spontaneously, meanwhile, strongly suggests that endogenous, long-term processes occurring to memory traces might be responsible for this phenomenon. By assuming that partial disruption of the trace might occur due to the coexistence of different, distributed representations of a memory, and by attributing the spontaneous recovery of memories to the slow, systemic consolidation phenomena underlying the formation of a permanent trace, such as synaptic reentry reinforcement, we will now discuss at least three possible mechanisms through which the experimental findings on transient amnesia might be accounted for:

a) Partial damaging of hippocampal traces, followed by local synaptic reinforcement

The simplest explanation for spontaneous memory recovery, which has been proposed in a limited extent by some authors (Dudai, 2004; Nader and Wang, 2006; Tronson and Taylor, 2007) is that reconsolidation blockade in the hippocampus could cause partial disruption of a memory trace, but that the hippocampus could somehow “rebuild” the original trace from its remaining parts in a later period (Fig. 2A). And,

although no mechanism has been clearly proposed for this rebuilding capacity, it is feasible that long-term consolidation processes such as SRR could lead to such an effect.

Evidence in favor of partial disruptions of the trace underlying transient amnesia comes from the recent demonstration that two post-reactivation injections of a protein synthesis inhibitor instead of one can tip the balance from a transient to a persistent effect (Milekic et al., 2006), suggesting that greater disruption of the trace is associated with permanency of amnesia. The finding that persistence of amnesia can depend on the amnesic agent used, using the same reconsolidation protocol (Cai et al., 2006) might also be explained by different degrees of disruption. Moreover, if the degree of trace damage determines the possibility of memory recovery, an interesting possibility to explain the greater persistence of the impairments induced by consolidation blockade, when compared to those induced by reconsolidation blockade, would be that only parts of the original trace might be made labile in reconsolidation, leading to more limited disruption and greater possibility of recovery (Riccio et al., 2006).

The main limitation of such a hypothesis is that it is unclear how a partially damaged network could “find” its missing parts by itself; if the trace is redundant enough to allow spontaneous rebuilding upon partial disruption, this disruption would arguably not be expected to cause significant amnesia initially. “Rebuilding” of the trace could be feasibly aided by cues or reminders, such as reexposure to the memory context; however, the possibility of spontaneous recovery is not as readily accounted for. Still, if we think of the hippocampus as an “index” to distributed cortical representations forming a memory trace (Alvarez and Squire, 1994; Morris, 2006), it is possible that reactivation of separate parts of the trace might eventually lead to a new representation of the ensemble. Alternately, if parts of the trace are weakened but not

completely erased, SRR acting on those synapses might also lead to memory recovery. However, the possibility of SRR-induced recovery, especially after post-reactivation amnesia, could also be explained by the presence of a partially consolidated cortical trace, as will be discussed in more detail below.

b) Complete or partial damaging of the hippocampal trace, with persistence of a partially consolidated cortical representation

Another interpretation which has been used to account for transient amnesia findings, albeit usually in other timeframes and settings, is the postulation of dual memory systems. Transience of amnesia has been used as evidence, for example, that short-term and long-term memory are mechanistically separate, on the basis that it is possible to block formation of short-term memory (lasting only a few hours) while leaving long-term memory intact (Izquierdo et al., 1998, 1999). Transient impairments of retrieval of this type are usually attributed to the fact that different systems – a short-term one depending on post-translational modifications and a long-term one depending on protein synthesis, for example – are responsible for memory expression in each time point. It seems feasible, therefore, to invoke a similar view to explain transient amnesia occurring on a longer time scale, by assuming the existence of a more transient, rapidly consolidating trace (probably dependent on the hippocampus) and a permanent, slowly consolidating one (probably dependent on the neocortex).

Such an explanation has indeed been postulated, although somewhat infrequently, to explain findings of transient amnesia induced by blockade of consolidation (Squire and Barondes, 1972) and reconsolidation (Amaral et al., 2007; Dash et al., 2004). In this case, transient amnesia could occur due to interventions which disrupt the hippocampal trace (which is initially required for memory retrieval) but

leave intact a cortical trace which is able to consolidate on its own and eventually reach a point which allows memory retrieval independently of the hippocampus (Fig. 2B). This view accounts well for the evidence indicating that interfering with reconsolidation is more likely to cause a transient memory deficit than blocking the initial period of consolidation, as cortical consolidation could have to reach a threshold point for this effect to happen; therefore, the later the intervention occurs, the more likely it is that memory recovery can occur. It is also compatible with findings showing that biochemical and gene expression changes in the cortex start to occur shortly (i.e. minutes to hours) after a memory is acquired (Izquierdo et al., 1997; Vazdarjanova et al., 2002), and with the view that local SRR occurs in the cortex and is important for memory maintenance (Cui et al., 2004). Finally, it is noteworthy that almost all studies showing transient memory deficits after reconsolidation – with a single exception up to our knowledge (Prado-Alcalá et al., 2006) – have used either hippocampal injections or systemic injections (which could be thought of as preferentially affecting the hippocampus); therefore, a central role of hippocampal disruption in transient amnesia seems to be supported by the literature.

One important point arguing against this hypothesis is the fact that memory recovery usually occurs in a few days, or even hours, in most studies showing transient reconsolidation blockade (Amaral et al., 2007; Anokhin et al., 2002; Litvin and Anokhin, 2000; Power et al., 2006). This is substantially shorter than the length of time systems consolidation is usually thought to require; it may be unlikely, therefore, that the cortical trace should be fully consolidated so quickly, although the fact that the duration of systems consolidation varies considerably among tasks and studies (McClelland et al., 1995) and the finding that it can be sped up to a single day by the existence of preexisting knowledge or “schema” (Tse et al., 2007) make this

inconsistency a relative one. Additionally, one might argue that the notion of independent cortical consolidation also goes against the evidence showing that late hippocampal activity (Riedel, 1999; Shimizu et al., 2000; Tse et al., 2007; Wang et al., 2003) and communication between the hippocampus and neocortex (Remondes and Schuman, 2004) are vital to long-term consolidation.

Nevertheless, this mechanism can be reconciled with current views of systems consolidation if one assumes that completion of cortical consolidation can be helped by remaining parts of the hippocampal trace; therefore, partial disruption of the hippocampus could make memory recovery in the cortex more likely and/or faster. This hypothesis, therefore, can extend the previously described one (partial hippocampal disruption) by providing a means for the trace to be reformed; namely, that the cortical trace already exists in a partially consolidated version, and that its interaction with a partially damaged hippocampal trace provides the basis for consolidation of a fully independent cortical memory. Such a view accommodates the possibility of permanent or transient amnesia following injection of amnesic agents, depending on the extent of trace damage and on the timepoint in which disruption occurs. This temporal dependence, on its turn, accounts for the distinction between the usually permanent amnesia induced by consolidation blockade and the frequently transient amnesia induced by reconsolidation blockade without having to resort to mechanistic distinctions between the two phenomena.

c) Transient hippocampal disruption leading to abnormal hippocampo-cortical communication and disruption of the cortical trace

If we judge it possible that memory recovery in transient amnesia occurs through consolidation of a cortical trace after disruption of the hippocampus, it is natural that the

opposite hypothesis – namely, that the cortical trace could be disrupted and rebuilt on the basis of an intact hippocampal trace – should also be examined. At first glance, this may seem less likely, as much of the evidence of transient amnesia deals with pharmacological manipulation of the hippocampus. However, if reconsolidation occurs while systems consolidation is taking place, it is possible that, even though interventions are directed at the hippocampus, what is disrupted is not the hippocampal trace *per se*, but the updating of the cortical trace which occurs when the hippocampus encodes new aspects of a memory.

A view of this kind has been expressed in a recent editorial by Eichenbaum (2006), who proposed that reconsolidation blockade might disturb interleaving of new information within a previously established cortical trace, leaving the cortical network susceptible to “catastrophic interference” (McClelland et al., 1995) and corruption of the trace. Although the phenomenon of transient amnesia was not considered in this case, it seems feasible that corruption of the cortical trace could occur with partial or complete sparing of the hippocampal trace, which could eventually lead to memory recovery. For instance, injection of an amnesic agent in the hippocampus when it is engaged in updating a memory could lead it to send erroneous output to the neocortical network underlying the memory, thus disturbing the cortical trace and inhibiting retrieval. Alternately, amnesia could occur due to interference with the cortical representation as it tries to integrate the original (intact) memory trace with the new (corrupted) memory encoded at the time of the amnesic intervention. Finally, updating of the trace could occur in the hippocampus without this information adequately reaching the cortex due to the action of the pharmacological agent; this would create mismatch between the representations in the hippocampus and cortex and might also lead to corruption of the cortical trace (Fig. 2C). In any of these cases, the original

hippocampal trace might remain intact and could start the process of systems consolidation anew over time, eventually leading to memory recovery.

Although feasible, this account of transient amnesia seems harder to explain from a cellular point of view, as it is not clear how amnesic agents such as protein synthesis inhibitors would interfere with hippocampo-cortical communication at a cellular level without disrupting the hippocampal trace significantly. Another thing to consider is that, for such a view to account for the possibility of permanent amnesia following blockade of consolidation or reconsolidation, one would probably have to assume that the hippocampal trace itself is disrupted in these cases, but not in those of transient amnesia, which does not represent a particularly parsimonious explanation (especially when one considers that the pharmacological agents can be the same in both cases). Nevertheless, the possibility of cortical trace corruption during interleaving of information should be taken into account as a possible mechanism involved in reconsolidation blockade, as it can also help to explain other data in the reconsolidation field, such as the requirement of memory updating for reconsolidation blockade to occur (Eichenbaum, 2006; Morris et al., 2006) and the possibility of reconsolidation of remote memories in some studies (Debiec and LeDoux, 2004; Debiec et al., 2002).

A general model for transient amnesia

Independently of which of the mechanisms above is judged more likely to account for transient amnesia, a model in which memory recovery is based on the reinforcement processes underlying systems consolidation basically predicts that the *extent* of memory disruption and the *time* in which it occurs during the course of memory consolidation (taken here to include both synaptic and systems consolidation)

should be central factors in determining the probability of recovery of an impaired memory trace. Therefore, the specific predictions of such a model for interventions in different time points during the life of a memory trace would be the following:

1. Early disruptions of the hippocampus – such as those occurring during the initial consolidation period – will usually cause permanent damage, either because (a) the whole hippocampal trace, and not parts of it, is labile at that time or because (b) a cortical representation of the trace will also be prevented from forming at such an early time period. Nevertheless, the possibility of partial disruption with residual memory traces leading to recovery is not excluded; therefore, results suggesting that amnesia after consolidation blockade can be transient, especially in the presence of reminders, can still be accounted for.

2. Disruptions of the hippocampus at an intermediate period (i.e. within the duration confines of systems consolidation) require the trace to be reactivated and made labile to have an effect, as shown by virtually all reconsolidation studies. Once this effect is achieved, both permanent and transient amnesia are possible: the probability of memory recovery in this case will depend both on the extent of trace disruption (with greater damage leading to a greater probability of permanency) and on the extent of consolidation of a long-term memory trace at the time of disruption (with more advanced consolidation leading to a greater probability of recovery). This accounts for the apparently contradictory data on the transience or permanency of amnesia following reconsolidation blockade. Moreover, differences between the results of interventions during consolidation and reconsolidation concerning the persistence of amnesia are explained by the greater extent of trace consolidation at the time points in which reconsolidation blockade is performed.

3. Late disruptions of the hippocampus (i.e. after systems consolidation is complete) will cause no effect, as a cortical representation of the trace is consolidated and sufficient for retrieval at this time. This has indeed been the case in most studies which evaluated the effect of memory age on reconsolidation sensitivity (Bocchia et al., 2006; Eisenberg and Dudai, 2004; Frankland et al., 2006; Milekic and Alberini, 2002; Suzuki et al., 2004), although it is worth noting that post-reactivation interventions as late as 45 days after training (Debiec et al., 2002) have occasionally been shown to have an effect. The possibility of such remote effects can conceivably be due to the variation in the timeframe of systems consolidation across different tasks, species and training conditions (Dudai, 2004; McClelland et al., 1995) – with the latter, at least, having already been shown to influence such a “reconsolidation gradient” (Frankland et al., 2006; Suzuki et al., 2004). Alternately, the possibility of disrupting more remote memories could also be related to the degree to which encoding of new information makes the cortical trace labile and prone to corruption, as suggested previously (Debiec et al., 2002; Eichenbaum, 2006) and discussed in mechanism (c) above.

As a proof of principle that our general model fits into currently accepted views of systems consolidation, we have used a variant of the SRR computational model originally described by Wittenberg et al. (2002) to test whether the two proposed variables (extent of trace disruption and time of intervention) can affect the transience or permanency of amnesia resulting from disruption of the hippocampal trace in this model. Briefly, the model consists of two interconnected connectionist networks (Cohen and Grossberg, 1983; Hopfield, 1982, 1984) representing hippocampal and cortical neurons (Fig. 3A). A memory trace is “burned” into the hippocampal network by presentation of an activation pattern, which strengthens the connections between simultaneously activated neurons. This change in connection weights attracts the

hippocampal network to the learned pattern at each subsequent initialization of the network, with reinstatement of the pattern in the hippocampus also attracting the cortical network to the same pattern. Retrieval of the pattern at each initialization cause further strengthening of synaptic weights in both networks, and therefore allows retrieved patterns in both structures to get closer to the original one after each subsequent reactivation (Fig. 3B). This strengthening process happens rapidly in the hippocampus, but takes much longer in the cortex; therefore, the model allows for a period of “systems consolidation” in which the hippocampus is needed to drive retrieval of the trace in the cortical network (consequently strengthening the cortical trace) (Fig. 3C). Hippocampal “lesions” in the model are simulated by cutting off a part of the hippocampal neurons from the rest of the network at various time points, and retrieval is measured after each initialization by comparing the pattern reached by the cortical network with the original pattern. For further methodological details on the workings of the model, we refer the reader to the appendix.

Data originating from computer simulations are presented on Fig. 4. As can be seen in the figure, our results largely confirm the predictions made above concerning the effects of hippocampal trace disruption in different time points. Early interventions occurring during or shortly after the hippocampal consolidation period (e.g. after 5 reactivations) cause retrieval impairments which show little recovery, except for a limited range of initial conditions in small disruptions (e.g. 20%). Hippocampal disruptions occurring at the time when “systems consolidation” in the model is nearing completion (e.g. after 40 reactivations), on the other hand, have little effect on retrieval, irrespective of their magnitude. Finally, interventions at intermediate time points (e.g. after 15 reactivations), consistent with the timeframe in which reconsolidation blockade is usually performed experimentally (i.e. between the end of the hippocampal – or

“synaptic” – consolidation period and the end of the cortical – “or systems” – consolidation period), can cause either transient or permanent amnesia, depending on the extent and time of disruption, with larger and earlier disruptions leading to a greater probability of permanent effects.

Moreover, the simulations performed yield at least one additional prediction, which is that the degree of retrieval impairment and the time for memory to recover following reconsolidation blockade (in the cases in which it is transient) should decrease as the time between training and the amnesic intervention increases (for an example, compare similar lesions at 15 and 25 reactivations in Fig. 4). To our knowledge, only one study in which transient amnesia was observed after reconsolidation blockade has tested the effect of performing this intervention at different times after training (Litvin and Anokhin, 2000). Remarkably, its findings (reproduced in Fig. 5A) are quite consistent with the prediction generated by our simulations (shown for comparison in Fig. 5B): blocking reconsolidation 2 h after training led to amnesia which recovered partially after 2 days, whereas the same intervention performed 24 h or 48 h after training led to recovery in 1 day or 3 h, respectively. The degree of amnesia in this study was smaller with increasing memory age at the time of reconsolidation blockade, a fact which is also consistent with our results. Finally, memory recovery, irrespective of the time that reconsolidation blockade was performed, occurred at a relatively constant time interval from the original training session, a trend which is also compatible with our simulations, in which recovery occurs at a relatively constant number of network reactivations.

Other predictions of our model, such as the possibility of permanent and transient amnesia with similar interventions at different time points, remain to be tested experimentally. For this to happen, however, the development of experimental models

of reconsolidation blockade in which both permanent and transient amnesia can be observed depending on protocol variations – which up to now have been scarce (Cai et al., 2006; Milekic et al., 2006) – is likely to be necessary.

Conclusions

In this article, we have proposed a model which can encompass the possibility of permanent or transient amnesia after disruptions of consolidation and reconsolidation, based on the assumption that memory recovery is intrinsically linked to the mechanisms underlying systems consolidation. Although a more detailed explanation of the mechanisms of recovery is still under debate, and is likely to depend on greater knowledge about memory encoding on a systems level, the general framework of our model – namely, that the extent of trace disruption and the time in which it occurs are central factors in determining the possibility of memory recovery – seems to account well for much of the apparently contradictory data in the reconsolidation field concerning (a) the possibility of transient or permanent amnesia after reconsolidation blockade; (b) the greater possibility of memory recovery after reconsolidation blockade when compared to consolidation blockade and (c) the effect of memory age on sensitivity to reconsolidation.

We believe that such a model has two significant advantages in that it (a) circumvents the “storage vs. retrieval” debate, by viewing memory loss and recovery within the framework of distributed traces and endogenous reinforcement and (b) avoids the need to invoke different mechanisms for amnesia after consolidation and reconsolidation, therefore conforming to the principle of parsimony. We also believe that it reiterates the view that memory reconsolidation and consolidation should not be

viewed as separate entities, as they are likely to represent different aspects or parts of the long-term processes underlying memory storage at the systems level. Therefore, studying reconsolidation and the possibility of recovery from its disruption, not as an artifact or caveat but as a real phenomenon, could provide a unique window to study these processes and further our understanding of long-term memory consolidation and storage.

Appendix

Computational model description

The model we employed is very similar to the SRR model described by Wittenberg et al. (2002), with small adaptations. We refer the reader to this reference for further details about the model.

In this model, the process of memory consolidation happens as in the classical attractor memory model (Cohen and Grossberg, 1983; Hopfield, 1982, 1984), with some adaptations included to incorporate features of synaptic reinforcement processes. Thus, NMDA-dependent plasticity extending beyond initial memory acquisition is taken into account, as is the destabilizing effect on stored memory of the dynamic turnover of synaptic proteins (Wittenberg et al., 2002). The model architecture consists of a cortical and a hippocampal network, as shown schematically in Figure 3A, with each network consisting of 100 neurons.

In all simulations, each network evolves according to the following system of differential equations:

$$\tau \frac{du_{x,i}}{dt} = -u_{x,i} + \sum_j w_{x,ij} V_{x,j} + I_{x,i} \quad (1)$$

$$\Delta w_{x,ij} = -\gamma_x w_{x,ij} + \eta_x V_{x,i} V_{x,j} + \xi \quad (2)$$

where $x = C$ or H labels cortical or hippocampal variables, $u_{x,i}$ represents the membrane potential of neuron i in network x , $V_{x,i} = \tanh(\beta u_{x,i})$ represents its firing rate and τ represents a time constant defining the rate of changes in membrane potentials. According to the classical interpretation of this model, $V_{x,i}$ can be thought as a moving time average of the instantaneous firing rate, which is expressed as deviations from the basal firing rate, assuming both negative and positive values. The first term in equation (1) ($-u_{x,i}$) causes the membrane potential to decay to its resting state (0 mV in this formulation). The second term, $\sum_j w_{x,ij} V_{x,j}$, represents the changes in the membrane potential due to the firing rate of presynaptic neurons, weighed by the strength of the synaptic connection ($w_{x,ij}$). Each network is modeled as being fully connected. The last term, $I_{x,i}$, represents synaptic inputs coming from the other network or from a sensory input. For simplicity, we used a one-to-one mapping between the hippocampus and the cortex, and this term in the cortical network has therefore the following expression:

$$I_{C,i} = \alpha V_{H,i} \quad (3)$$

The synaptic weight matrix in both networks is updated discretely after an attractor state has been reached, and this update is made according to equation (2). The first term in equation (2) ($-\gamma_x w_{x,ij}$) represents synaptic turnover, which acts towards erasing the memory traces, whereas the second term ($\eta_x V_{x,i} V_{x,j}$) models the extended NMDA receptor plasticity related to SRR. The last term (ξ) is a white noise process. Therefore,

γ determines the rate at which changes in synaptic weights decay over time, while η represents the learning rate (i.e. the rate at which activity changes the synaptic weights).

In this formulation, there are two stages of hippocampal memory formation: initial memory acquisition and memory reactivation. Memory acquisition can be modeled by presenting inputs to the hippocampal network (i.e, by setting $I_{H,i}$ properly), which is intended to model the presence of sensory inputs. This learning period causes initial changes in the hippocampal synaptic weight matrix ($w_{H,ij}$). After the initial learning period, all hippocampal inputs ($I_{H,i}$) are set to zero, and the growth of the memory trace is dependent on its continuous reactivation through SRR process. We note, however, that the learning period can be equivalently modeled by initializing the hippocampal network with the memory trace stored weakly as $w_{H,ij} = \epsilon I_{H,i} I_{H,j}$, $I_{H,i} = -1$ or 1, which was the approach used in the present work. The cortical synaptic weight matrix was initialized with uniform random entries between $-\epsilon$ and ϵ . After each SRR event, neural firing rates in the networks are randomly reinitialized, with $u_{x,i}$ chosen from a uniform distribution on the interval $[-0.5, 0.5]$.

Retrieval of the memory trace by the model is evaluated by a retrieval index (RI), which is defined by the following formulas:

$$\Psi(V_C) = \frac{1}{2N} \sum_{i=1}^N \|V_{C,i} - I_{H,i}\|$$

$$RI(V_C) = 100 + 400\Psi(V_C)(\Psi(V_C) - 1) \quad (4)$$

where N is the cortical network size ($=100$), $I_{H,i}$ ($= -1$ or 1) is the pattern to be stored, and $V_C = (V_{C,1}, \dots, V_{C,N})$ refers to the cortical network activity after achieving the steady state. This index approaches its maximum values when the term $V_{C,i} - I_{H,i}$ for each

cortical neuron has a value of either 0 (perfect similarity between the achieved and desired activation states) or 2 (complete dissimilarity between both states). This is meant to circumvent the problem of eventual encoding of “mirror patterns” due to the fact that $V_{x,i}$ can assume both positive and negative values. Using the retrieval function described above, both solutions will yield a perfect RI of 100, while for random activation patterns the average of the terms $V_{C,i} - I_{H,i}$ for the various neurons will tend to approach 1, leading to a RI of 0. Therefore, successful retrieval in our model is defined as the cortical network being able to reach either the right attractor or its perfect mirror pattern.

In order to simulate the effect of hippocampal lesions on memory retrieval by the cortical network, we have set $u_{H,i} = 0$ (instead of using equation (1)) after the lesion time under study for a number of indexes i depending on the size of the lesion. To obtain independent retrieval indexes for the cortical network, as shown in Fig. 3C, we have set $I_{C,i} = 0$ for all i at each time point studied. Retrieval indexes for the hippocampal network in the same figure were obtained by applying the RI function shown in (4) to the hippocampal activity (V_H).

Model parameters in the simulations were the following: $\tau = 1$, $\gamma_H = 0.02$, $\gamma_C = 0.008$, $\eta_H = 0.02$, $\eta_C = 0.0007$, $Var(\xi) = 0.0001$, $\beta = 1$, $\alpha = 2$, $\varepsilon = 0.0104$. As one can see, therefore, the cortical and hippocampal networks differ in two important aspects: (a) decay is faster in the hippocampus than in the neocortex due to the differences in γ , and (b) the learning rate in the hippocampal network is much faster than in the cortex, in which synaptic weights are updated much more slowly. This kind of approach to differences between hippocampal and cortical learning has been used in previous models of two-structure learning (Alvarez and Squire, 2004; McClelland et al. 1995), as it allows the model to incorporate the main features of

systems consolidation. More specifically, this causes memory retrieval in the model to be initially dependant on the attractor being reached by the hippocampal network, leading to retrieval in the cortex and strengthening of the cortical trace. After a number of reactivations, changes in cortical synaptic weights reach a point in which they can drive retrieval by themselves, leading the period of “systems consolidation” to a closure.

All simulations included in the article were performed using MATLAB 7.0 software by MathWorks, Inc.

References

- Alberini C. 2007. Reconsolidation: the samsara of memory consolidation. *Debates Neurosci* 1:17-24.
- Alberini CM. 2005. Mechanisms of memory stabilization: are consolidation and reconsolidation similar or distinct processes? *Trends Neurosci* 28:51-56.
- Alvarez P, Squire LR. 1994. Memory consolidation and the medial temporal lobe: a simple network model. *Proc Natl Acad Sci USA* 91:7041-7045.
- Amaral OB, Luft T, Cammarota M, Izquierdo I, Roesler R. 2007. Temporary inactivation of the dorsal hippocampus induces a transient impairment in retrieval of aversive memory. *Behav Brain Res* 180:113-118.
- Anokhin KV, Tiunova AA, Rose SP. 2002. Reminder effects - reconsolidation or retrieval deficit? Pharmacological dissection with protein synthesis inhibitors following reminder for a passive-avoidance task in young chicks. *Eur J Neurosci* 15:1759-1765.
- Bekinschtein P, Cammarota M, Igaz LM, Bevilaqua LRM, Izquierdo I, Medina JH. 2007. Persistence of long-term memory storage requires a late protein synthesis- and bdnf- dependent phase in the hippocampus. *Neuron* 53:261-277.
- Berman DE, Dudai Y. 2001. Memory extinction, learning anew, and learning the new: dissociations in the molecular machinery of learning in cortex. *Science* 291:2417-2419.
- Biedenkapp JC, Rudy JW. 2004. Context memories and reactivation: constraints on the reconsolidation hypothesis. *Behav Neurosci* 118:956-964.

- Boccia MM, Acosta GB, Blake MG, Baratti CM. 2004. Memory consolidation and reconsolidation of an inhibitory avoidance response in mice: effects of i.c.v. injections of hemicholinium-3. *Neuroscience* 124:735-741.
- Boccia MM, Blake MG, Acosta GB, Baratti CM. 2005. Memory consolidation and reconsolidation of an inhibitory avoidance task in mice: effects of a new different learning task. *Neuroscience* 135:19-29.
- Boccia MM, Blake MG, Acosta GB, Baratti CM. 2006. Post-retrieval effects of icv infusions of hemicholinium in mice are dependent on the age of the original memory. *Learn Mem* 13:376-381.
- Bontempi B, Laurent-Demir C, Destrade C, Jaffard R. 1999. Time-dependent reorganization of brain circuitry underlying long-term memory storage. *Nature* 400:671-675.
- Bradley PM, Galal KM. 1988. State-dependent recall can be induced by protein synthesis inhibition: behavioural and morphological observations. *Brain Res* 468:243-251.
- Bustos SG, Maldonado H, Molina VA. 2006. Midazolam disrupts fear memory reconsolidation. *Neuroscience* 139:831-842.
- Cahill L, McGaugh JL, Weinberger NM. 2001. The neurobiology of learning and memory: some reminders to remember. *Trends Neurosci* 24:578-581.
- Cai WH, Blundell J, Han J, Greene RW, Powell CM. 2006. Postreactivation glucocorticoids impair recall of established fear memory. *J Neurosci* 26:9560-9566.
- Cammarota M, Bevilaqua LR, Medina JH, Izquierdo I. 2004. Retrieval does not induce reconsolidation of inhibitory avoidance memory. *Learn Mem* 11:572-578.

- Child FM, Epstein HT, Kuzirian AM, Alkon DL. 2003. Memory reconsolidation in Hermisenda. *Biol Bull* 205:218-219.
- Cohen M, Grossberg S. 1983. Absolute stability of global pattern-formation and parallel memory storage by competitive neural networks. *IEEE Trans Syst Man and Cyber* 13:815–826.
- Cui Z, Wang H, Tan Y, Zaia KA, Zhang S, Tsien JZ. 2004. Inducible and reversible NR1 knockout reveals crucial role of the NMDA receptor in preserving remote memories in the brain. *Neuron* 41:781-793.
- Dash PK, Hebert AE, Runyan JD. 2004. A unified theory for systems and cellular memory consolidation. *Brain Res Brain Res Rev* 45: 30-37.
- de Hoz L, Martin SJ, Morris RGM. 2004. Forgetting, reminding, and remembering: the retrieval of lost spatial memory. *PLoS Biol* 2(8):e225.
- Debiec J, LeDoux JE. 2004. Disruption of reconsolidation but not consolidation of auditory fear conditioning by noradrenergic blockade in the amygdala. *Neuroscience* 129:267-272.
- Debiec J, LeDoux JE, Nader K. 2002. Cellular and systems reconsolidation in the hippocampus. *Neuron* 36:527-538.
- Dudai Y. 2004. The neurobiology of consolidations, or, how stable is the engram? *Annu Rev Psychol* 55:51-86.
- Dudai Y. 2006. Reconsolidation: the advantage of being refocused. *Curr Opin Neurobiol* 16:174-178.
- Dudai Y, Eisenberg M. 2004. Rites of passage of the engram: reconsolidation and the lingering consolidation hypothesis. *Neuron* 44:93-100.
- Duvarci S, Nader K. 2004. Characterization of fear memory reconsolidation. *J Neurosci* 24:9269-9275.

- Eichenbaum H. 2006. The secret life of memories. *Neuron* 50:350-352.
- Eisenberg M, Dudai Y. 2004. Reconsolidation of fresh, remote, and extinguished fear memory in Medaka: old fears don't die. *Eur J Neurosci* 20:3397-3403.
- Eisenberg M, Kobil T, Berman DE, Dudai Y. 2003. Stability of retrieved memory: inverse correlation with trace dominance. *Science* 301:1102-1104.
- Fischer A, Sananbenesi F, Schrick C, Spiess J, Radulovic J. 2004. Distinct roles of hippocampal de novo protein synthesis and actin rearrangement in extinction of contextual fear. *J Neurosci* 24:1962-1966.
- Foster DJ, Wilson MA. 2006. Reverse replay of behavioural sequences in hippocampal place cells during the awake state. *Nature* 440:680-683.
- Frankland PW, Ding HK, Takahashi E, Suzuki A, Kida S, Silva AJ. 2006. Stability of recent and remote contextual fear memory. *Learn Mem* 13:451-457.
- Frankland PW, Bontempi B. 2005. The organization of recent and remote memories. *Nat Rev Neurosci* 6:119-130.
- Gold PE, Haycock JW, Macri J, McGaugh JL. 1973. Retrograde amnesia and the "reminder effect": an alternative interpretation. *Science* 180:1199-1201.
- Gold PE, King RA. 1974. Retrograde amnesia: storage failure versus retrieval failure. *Psychol Rev* 81:465-469.
- Gold PE, Sternberg DB. 1978. Retrograde amnesia produced by several treatments: evidence for a common neurobiological mechanism. *Science* 201:367-369.
- Hinderliter CF, Webster T, Riccio DC. 1975. Amnesia induced by hypothermia as a function of treatment-test interval and recooling in rats. *Anim Learn Behav* 3:257-263.
- Hopfield JJ. 1982. Neural networks and physical systems with emergent collective computational abilities. *Proc Natl Acad Sci USA* 79:2554-2558.

- Hopfield JJ. 1984. Neurons with graded response have collective computational properties like those of two-state neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 81:3088-3092.
- Izquierdo I, Barros DM, Mello e Souza T, de Souza MM, Izquierdo LA, Medina JH. 1998. Mechanisms for memory types differ. *Nature* 393:635-636.
- Izquierdo I, Medina JH, Vianna MRM, Izquierdo LA, Barros DM. 1999. Separate mechanisms for short- and long-term memory. *Behav Brain Res* 103:1-11.
- Izquierdo I, Quillfeldt JA, Zanatta MS, Quevedo J, Schaeffer E, Schmitz PK, Medina JH. 1997. Sequential role of hippocampus and amygdala, entorhinal cortex and parietal cortex in formation and retrieval of memory for inhibitory avoidance in rats. *Eur J Neurosci* 9:786-793.
- Judge ME, Quartermain D. 1982. Characteristics of retrograde amnesia following reactivation of memory in mice. *Physiol Behav* 28:585-590.
- Kim JJ, Fanselow MS. 1992. Modality-specific retrograde amnesia of fear. *Science* 256:675-677.
- Kritchevsky M, Squire LR. 1989. Transient global amnesia: evidence for extensive, temporally-graded retrograde amnesia. *Neurology* 39:213-218.
- Lattal KM, Abel T. 2004. Behavioral impairments caused by injections of the protein synthesis inhibitor anisomycin after contextual retrieval reverse with time. *Proc Natl Acad Sci USA* 101:4667-4672.
- Lee JL, Everitt BJ, Thomas KL. 2004. Independent cellular processes for hippocampal memory consolidation and reconsolidation. *Science* 304:839-843.
- Lewis DJ, Misanin JR, Miller RR. 1968. The recovery of memory following amnestic treatment. *Nature* 220:704-705.

- Lin L, Osan R, Shoham S, Jin W, Zuo W, Tsien JZ. 2005. Identification of network-level coding units for real-time representation of episodic experiences in the hippocampus. *Proc Natl Acad Sci USA* 102:6125-6130.
- Litvin OO, Anokhin KV. 2000. Mechanisms of memory reorganization during retrieval of acquired behavioral experience in chicks: the effects of protein synthesis inhibition in the brain. *Neurosci Behav Physiol* 30:671-678.
- Louie K, Wilson MA. 2001. Temporally structured replay of awake hippocampal ensemble activity during rapid eye movement sleep. *Neuron* 29:145-156.
- Mactutus CF, Riccio DC, Ferek JM. 1979. Retrograde amnesia for old (reactivated) memory: some anomalous characteristics. *Science* 204:1319-1320.
- McClelland JL, McNaughton BL, O'Reilly RC. 1995. Why there are complementary learning systems in the hippocampus and neocortex: insights from the successes and failures of connectionist models of learning and memory. *Psychol Rev* 102:419-457.
- McGaugh JL. 2000. Memory – a century of consolidation. *Science* 287:248-251.
- Milekic MH, Alberini CM. 2002. Temporally graded requirement for protein synthesis following memory reactivation. *Neuron* 36:521-525.
- Milekic MH, Brown SD, Castellini C, Alberini CM. 2006. Persistent disruption of an established morphine conditioned place preference. *J Neurosci* 26:3010-3020.
- Miller RR, Kraus JN. 1977. Somatic and autonomic indexes of recovery from electroconvulsive shock-induced amnesia in rats. *J Comp Physiol Psychol* 91:432-434.
- Miller RR, Matzel LD. 2000. Memory involves far more than consolidation. *Nat Rev Neurosci* 1:214-216.

- Miller RR, Matzel LD. 2006. Retrieval failure versus memory loss in experimental amnesia: Definitions and processes. *Learn Mem* 13:491-497.
- Miller RR, Springer AD. 1973. Amnesia, consolidation and retrieval. *Psychol Rev* 80:69-79.
- Millin PM, Moody EW, Riccio DC. 2001. Interpretations of retrograde amnesia: old problems redux. *Nat Rev Neurosci* 2:68-70.
- Misanin JR, Miller RR, Lewis DJ. 1968. Retrograde amnesia produced by electroconvulsive shock after reactivation of a consolidated memory trace. *Science* 160:554-555.
- Morris RGM. 2006. Elements of a neurobiological theory of hippocampal function: the role of synaptic plasticity, synaptic tagging and schemas. *Eur J Neurosci* 23:2829-2846.
- Morris RGM, Inglis J, Ainge JA, Olverman HJ, Tulloch J, Dudai Y, Kelly PAT. 2006. Memory reconsolidation: sensitivity of spatial memory to inhibition of protein synthesis in dorsal hippocampus during encoding and retrieval. *Neuron* 50:479-489.
- Moscovitch M, Nadel L, Winocur G, Gilboa A, Rosenbaum RS. 2006. The cognitive neuroscience of remote episodic, semantic and spatial memory. *Curr Opin Neurobiol* 16:179-190.
- Nadel L, Moscovitch M. 1997. Memory consolidation, retrograde amnesia and the hippocampal complex. *Curr Opin Neurobiol* 7:217-227.
- Nader K. 2007. A single standard for memory; the case for reconsolidation. *Debates Neurosci* 1:2-16.
- Nader K, Schafe GE, Le Doux JE. 2000. Fear memories require protein synthesis in the amygdala for reconsolidation after retrieval. *Nature* 406:722-726.

- Nader K, Wang SH. 2006. Fading in. *Learn Mem* 13:530-535.
- Parvez K, Moisseev V, Lukowiak K. 2006. A context-specific single contingent-reinforcing stimulus boosts intermediate-term memory into long-term memory. *Eur J Neurosci* 24:606-616.
- Pastalkova E, Serrano P, Pinkhasova D, Wallace E, Fenton AA, Sacktor TC. 2006. Storage of spatial information by the maintenance mechanism of LTP. *Science* 313:1141-1144.
- Pavrides C, Winson J. 1989. Influences of hippocampal place cell firing in the awake state on the activity of these cells during subsequent sleep episodes. *J Neurosci* 9:2907-2918.
- Pedreira ME, Maldonado H. 2003. Protein synthesis subserves reconsolidation or extinction depending on reminder duration. *Neuron* 38:863-869.
- Pedreira ME, Perez-Cuesta LM, Maldonado H. 2004. Mismatch between what is expected and what actually occurs triggers memory reconsolidation or extinction. *Learn Mem* 11:579-585.
- Power AE, Berlau DJ, McGaugh JL, Steward O. 2006. Anisomycin infused into the hippocampus fails to block 'reconsolidation' but impairs extinction: the role of re-exposure duration. *Learn Mem* 13:27-34.
- Prado-Alcalá RA, Díaz del Guante MA, Garín-Aguilar ME, Díaz-Trujillo A, Quirarte GL, McGaugh JL. 2006. Amygdala or hippocampus inactivation after retrieval induces temporary memory deficit. *Neurobiol Learn Mem* 86:144-149.
- Przybylski J, Roulet P, Sara SJ. 1999. Attenuation of emotional and nonemotional memories after their reactivation: role of beta adrenergic receptors. *J Neurosci* 19:6623-6628.

- Quartermain D, McEwen BS. 1970. Temporal characteristics of amnesia induced by protein synthesis inhibitor: determination by shock level. *Nature* 228:677-678.
- Quartermain D, McEwen BS, Azmitia EC. 1970. Amnesia produced by electroconvulsive shock or cycloheximide: conditions for recovery. *Science* 169:683-686.
- Remondes M, Schuman EM. 2004. Role for a cortical input to hippocampal area CA1 in the consolidation of a long-term memory. *Nature* 431:699-703.
- Rempel-Clower NL, Zola SM, Squire LR, Amaral DG. 1996. Three cases of enduring memory impairment after bilateral damage limited to the hippocampal formation. *J Neurosci* 16:5233-5255.
- Ribeiro S, Gervasoni D, Soares ES, Zhou Y, Lin SC, Pantoja J, Lavine M, Nicolelis MAL. 2004. Long-lasting novelty-induced neuronal reverberation during slow-wave sleep in multiple forebrain areas. *PLoS Biol* 2:e24.
- Riccio DC, Millin PM, Bogart AR. 2006. Reconsolidation: a brief history, a retrieval view, and some recent issues. *Learn Mem* 13:536-544.
- Riedel G, Micheau J, Lam AGM, Roloff EL, Martin SJ, Bridge H, de Hoz L, Poeschel B, McCulloch J, Morris RGM. 1999. Reversible neural inactivation reveals hippocampal participation in several memory processes. *Nat Neurosci* 2:898-905.
- Ross RS, Eichenbaum H. 2006. Dynamics of hippocampal and cortical activation during consolidation of a nonspatial memory. *J Neurosci* 26:4852-4859.
- Rossato JJ. 2007, Bevilaqua LR, Myskiw JC, Medina JH, Izquierdo I, Cammarota M. On the role of hippocampal protein synthesis in the consolidation and reconsolidation of object recognition memory. *Learn Mem* 14:36-46.

- Rossato JI, Bevilacqua LR, Medina JH, Izquierdo I, Cammarota M. 2006. Retrieval induces hippocampal-dependent reconsolidation of spatial memory. *Learn Mem* 13:431-440.
- Russell WR, Nathan PW. 1946. Traumatic amnesia. *Brain* 69:280-300.
- Salinska E, Bourne RC, Rose SPR. 2004. Reminder effects: the molecular cascade following a reminder in young chicks does not recapitulate that following training on a passive avoidance task. *Eur J Neurosci* 19:3042-3047.
- Schneider AM, Sherman W. 1968. Amnesia: a function of the temporal relation of footshock to electroconvulsive shock. *Science* 159:219-221.
- Serota RG. 1971. Acetoxycycloheximide and transient amnesia in the rat. *Proc Natl Acad Sci USA* 68:1249-1250.
- Shema R, Sacktor TC, Dudai Y. 2007. Rapid Erasure of Long-Term Memory Associations in the Cortex by an Inhibitor of PKM ζ . *Science* 317:951-953.
- Shimizu E, Tang YP, Rampon C, Tsien JZ. 2000. NMDA receptor-dependent synaptic reinforcement as a crucial process for memory consolidation. *Science* 290:1170-1174.
- Squire LR. 2006. Lost forever or temporarily misplaced? The long debate about the nature of memory impairment. *Learn Mem* 13:522-529.
- Squire LR, Alvarez P. 1995. Retrograde amnesia and memory consolidation: a neurobiological perspective. *Curr Opin Neurobiol* 5:169-177.
- Squire LR, Barondes SH. 1972. Variable decay of memory and its recovery in cycloheximide-treated mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 69:1416-1420.
- Squire LR, Slater PC, Chace PM. 1975. Retrograde amnesia: temporal gradient in very long term memory following electroconvulsive therapy. *Science* 187:77-79.

- Suzuki A, Josselyn SA, Frankland PW, Masushige S, Silva AJ, Kida S. 2004. Memory reconsolidation and extinction have distinct temporal and biochemical signatures. *J Neurosci* 24(20):4787-4795.
- Szapiro GV, Vianna MRM, McGaugh JL, Medina JH, Izquierdo I. 2003. The role of NMDA glutamate receptors, PKA, MAPK, and CAMKII in the hippocampus in extinction of conditioned fear. *Hippocampus* 13:53-58.
- Taubenfeld SM, Milekic MH, Monti B, Alberini CM. 2001. The consolidation of new but not reactivated memory requires hippocampal C/EBP β . *Nat Neurosci* 4(8):813-818.
- Teyler TJ, DiScenna P. 1986. The hippocampal memory indexing theory. *Behav Neurosci* 100: 147-154.
- Tronel S, Alberini CM. 2007. Persistent disruption of a traumatic memory by postretrieval inactivation of glucocorticoid receptors in the amygdala. *Biol Psychiatry* 62:33-39.
- Tronel S, Milekic MH, Alberini CM. 2005. Linking new information to a reactivated memory requires consolidation and not reconsolidation mechanisms. *PLoS Biol* 3:e293.
- Tronson NC, Taylor JR. 2007. Molecular mechanisms of memory reconsolidation. *Nat Rev Neurosci* 8:262-275.
- Tse D, Langston RF, Kakeyama M, Bethus I, Spooner PA, Wood ER, Witter MP, Morris RGM. 2007. Schemas and memory consolidation. *Science* 316:76-82.
- Vazdarjanova A, McNaughton BL, Barnes CA, Worley PF, Guzowski JF. 2002. Experience-dependent coincident expression of the effector immediate-early genes *arc* and *Homer 1a* in hippocampal and neocortical neuronal networks. *J Neurosci* 22:10067-10071.

- Vianna MRM, Szapiro G, McGaugh JL, Medina JH, Izquierdo I. 2001. Retrieval of memory for fear-motivated training initiates extinction requiring protein synthesis in the rat hippocampus. *Proc Natl Acad Sci USA* 98:12251-12254.
- Wang H. 2003, Shimizu E, Tang YP, Cho M, Kyin M, Zuo W, Robinson DA, Alaimo PJ, Zhang C, Morimoto H, Zhuo M, Feng R, Shokat KM, Tsien JZ. Inducible protein knockout reveals temporal requirement of CaMKII reactivation for memory consolidation in the brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 100:4287-4292.
- Wang H, Hu Y, Tsien JZ. 2006. Molecular and systems mechanisms of memory consolidation and storage. *Prog Neurobiol* 79:123-135.
- Wilson MA, McNaughton BL. 1994. Reactivation of hippocampal ensemble memories during sleep. *Science* 265:676-679.
- Wiltgen BJ, Brown RAM, Talton LE, Silva AJ. 2004. New circuits for old memories: the role of the neocortex in consolidation. *Neuron* 44:101-108.
- Winocur G, Moscovitch M, Sekeres M. 2007. Memory consolidation or transformation: context manipulation and hippocampal representations of memory. *Nat Neurosci* 10:555-557.
- Wittenberg GM, Sullivan MR, Tsien JZ. 2002. Synaptic reentry reinforcement based network model for long-term memory consolidation. *Hippocampus* 12:637-647.
- Wittenberg GM, Tsien JZ. 2002. An emerging molecular and cellular framework for memory processing by the hippocampus. *Trends Neurosci* 25:501-505.
- Zinkin S, Miller AJ. 1967. Recovery of memory after amnesia induced by electroconvulsive shock. *Science* 155:102-104.

Acknowledgements

The authors are indebted to Iván Izquierdo (O.B.A.), Diogo Souza (O.B.A. and A.B.L.T.), Nancy Kopell (A.B.L.T.) and Joe Tsien (R.O.) for continuous support to their work during the preparation of this article. Dr. Izquierdo also provided thoughtful comments and discussions on initial versions of the manuscript. Financial support was obtained from CNPq (R.R.), CAPES (A.B.L.T.) and Burroughs Welcome Fund (A.B.L.T.).

Figure Legends

Figure 1. Schematic representation of learning in the SRR model as proposed by Wittenberg and Tsien (2002). Diagrams represent interconnected networks of hippocampal and cortical neurons (connected circles) and their respective connection strengths (black lines, with line thickness representing connection strength). Memory formation initially occurs through strengthening of specific connections (left column) in the hippocampus and cortex. Each reactivation of the memory (subsequent columns) leads to strengthening of the trace in both structures. Strengthening of the trace occurs rapidly in the hippocampus, but is much slower in the cortex, as proposed in previous models (Alvarez and Squire, 1994; McClelland et al., 1995). Therefore, for a period of time, both memory retrieval and trace strengthening in the cortex depend on hippocampal reactivation of the trace (middle columns). After a sufficient number of cortical reactivations, the cortical trace consolidates to full strength (right column) and can retrieve the trace independently of the hippocampus, bringing systems consolidation to an end.

Figure 2. Schematic representation of possible mechanisms for transient amnesia. **(A)** Partial damaging of hippocampal traces, followed by local synaptic reinforcement. Represented in the figure is a schematic network of hippocampal neurons (connected circles) encoding a memory trace through a specific pattern of strengthened connection weights (black lines, with line thickness representing connection strength). Capability of the network to retrieve the trace is represented by circles containing “+” (adequate retrieval), “±” (partial retrieval) or “-” (absent retrieval) signs. The pattern is initially

encoded in the left column and rapidly strengthened through local SRR. Disruption of the trace occurs in the third column (large arrow), leading to weakening of part of the pattern (crosses) and impaired retrieval (fourth column). However, local SRR in the network gradually restores the missing connections and leads to memory recovery (sixth column). **(B)** Disruption of the hippocampal trace, with persistence of a partially consolidated cortical representation. Represented are two connected neuronal networks, representing hippocampal (bottom line) and neocortical neurons (top line) encoding a memory trace in their connection weights. The pattern representing the trace is initially encoded in both structures, but while strengthening of the pattern through SRR is rapid in the hippocampus, it progresses much more slowly in the neocortex (see Figure 1). Disruption of the hippocampal trace (third column) causes amnesia – however, a partially consolidated trace persists in the cortex. This trace is initially incapable of driving adequate retrieval due to its weak connection strengths (fourth column); however, through local SRR, it slowly strengthens itself to the point where memory recovery occurs (sixth column). **(C)** Transient hippocampal disruption leading to abnormal hippocampo-cortical communication and disruption of the cortical trace. Hippocampal and cortical networks are represented, and initial learning occurs as in (B). In the third column, transient disruption of the hippocampus during memory updating impairs adequate transfer of updated information to the neocortex (discontinuous arrows), creating mismatch between the two traces, which leads to decay of the cortical trace and impaired retrieval (fourth column). The hippocampal trace itself remains intact, however, and is able to start consolidation of a new cortical trace through SRR after the drug effect is over (fifth column), eventually leading to recovery of retrieval capability in the cortex (sixth column).

Figure 3. An outlook of the computational model used in the study. **(A)** General view of the model, adapted from the original SRR model by Wittenberg et al. (2002). The network consists of two interconnected connectionist networks of 100 neurons, representing the hippocampus and neocortex, respectively, which encode a memory trace in their connection weights. After initial memory acquisition, SRR occurring in each subsequent reactivation of the network is responsible for progressive strengthening of the trace in both structures. Hippocampal neurons are initially responsible for retrieval due to their faster learning rate, and gradually help to strengthen the trace onto the cortex through reactivation. **(B)** Learning in the model. An activation pattern, representing the activation states of a 10 x 10 neuron matrix (left of the black line) is initially presented to the network at its initial, resting state (first column to the right of the black line), changing the connection weights among neurons (bottom line). On each subsequent random initialization of the network (subsequent columns to the right), altered connection weights tend to bring the network to an activation state approaching the one initially presented. Each reactivation strengthens subsequent retrieval of the trace (top line) by causing further strengthening in the connection weights of activated neurons (bottom line). After a certain number of reactivations, the retrieved pattern is very similar to the one initially presented (right column). **(C)** Learning rates in the model. X-axis represents the number of reactivations of the network, while Y-axis represents independent retrieval of the pattern in the hippocampal and cortical networks, as measured by a retrieval index (described in the appendix). Circles and error bars represent mean \pm standard deviation for 20 simulations with random initial conditions. Due to differential learning rates, connection strengths in the hippocampal network evolve faster and reach optimal retrieval at about 5 reactivations. Strengthening of the

trace in the cortical network is much slower, meanwhile, taking about 50-60 reactivations to evolve to full strength; therefore, during an initial period, the cortical network is dependent on hippocampal activity for retrieval of the pattern and SRR to occur.

Figure 4. Results of learning simulations in the computational model using different time points and extents of hippocampal trace disruption. Learning in the model occurs as described in Fig. 3, with successful retrieval indicated by the cortical network reaching the pattern shown in Fig. 3B. Lines indicate lesions (disconnection of part of the hippocampal neurons from the rest of the network) at different times after initial learning, as measured by number of SRR events before the lesion, while columns indicate the percentage of hippocampal neurons disconnected for each simulation. X-axis in each graph represents time as measured by number or reactivations, while Y-axis represents the retrieval index of the cortical network (see Appendix). Dots represent mean \pm standard deviation of retrieval indexes at each time point obtained from 20 simulations with random initial conditions. Black lines represent the time point in which hippocampal disruption occurs in each case. Also shown within each graph is the retrieved pattern after 60 reactivations for a representative simulation in that condition. Results indicate that, for early disruptions, occurring near the end of the hippocampal consolidation period (after 5 reactivations, top line), little recovery occurs, except for a small improvement in some (but not all) cases after very small lesions (20%). On the other hand, at a late time point (after 40 reactivations, bottom line) hippocampal disruptions of all magnitudes have little effect, as cortical consolidation is already at an advanced stage. Intermediate disruptions after 15 reactivations can cause reversible or

irreversible impairments in retrieval, depending on the extent of disruption, while retrieval impairments caused by disruptions after 25 reactivations are always reversible, with smaller lesions leading to smaller dips in retrieval and faster recovery.

Figure 5. Effect of the interval between training and post-reactivation interventions on the time course of transient amnesia. **(A)** Effect of post-reactivation injections of cycloheximide in the intermediate medial ventral hyperstriatum (IMVH) of day-old chicks on performance in a passive avoidance task (shown in the Y-axis as percent of animals presenting avoidance behavior) at various times after the injection (shown in the X-axis as hours). The three graphs show task performance in animals receiving post-reactivation cycloheximide (black squares), post-reactivation saline (white circles) or cycloheximide with no reactivation (white triangles) at 2 h (left graph), 24 h (middle graph) and 48 h (right graph) after training. Impairments induced by early reconsolidation blockade (2 h) in the post-reactivation cycloheximide group show partial recovery 48 h after the intervention, while those induced by intermediate blockade (24 h) recover in 24 h and those induced by late blockade (48 h) are mild and short-lasting, recovering fully after 3 h (reproduced from Litvin and Anokhin, 2000, with kind permission from the authors and from Springer Science and Business Media). These results correlate well with the general trend observed in our computational results, shown below for comparison. **(B)** Computer simulations showing the effect of disconnecting 50% of hippocampal neurons (as was performed in figure 4) after 10, 20 or 30 reactivations, respectively. Partial recovery from amnesia is observed in the earliest lesion, nearly complete recovery is observed in the second case and full recovery occurs in the third case. As in the experimental results, both the degree of

amnesia and the time for memory to recover are inversely proportional to the interval between training and the amnestic intervention.

Table 1

Reference	System	Intervention	Time of disruption (from training)	Time of amnesia (from disruption)	Time of recovery (from disruption)	Reminder?
Mactutus et al., 1979	Step-through inhibitory avoidance, rats	Hypothermia	1 day	1 day	2 days	No
Judge and Quartermain, 1982	Approach avoidance, mice	Anisomycin, systemic	3 hours	3 hours	4 days	No
Litvin and Anokhin, 2000	Passive avoidance, day-old chicks	Cycloheximide, IMHV	2 hours / 1 day / 3 days	1 hour	3 hours – 2 days (depending on time of disruption) [#]	No
Vianna et al., 2001	Step-down inhibitory avoidance, rats	Anisomycin, intrahippocampal	1 day	1 day	2 days	Optional
Anokhin et al., 2002	Passive avoidance, day-old chicks	Anisomycin / 2-deoxygalactose, IMHV	2 hours	1 hour	3 hours – 1 day	No
Szapiro et al., 2003	Step-down inhibitory avoidance, rats	AP5 / Rp-cAMPs / PD098059, intrahippocampal	1 day	1 day	2 days	No
Eisenberg and Dudai, 2004	Fear conditioning, <i>Medaka</i> fish	MS222, systemic	1 day	2 days	2 days (w/reminder only)	Required
Fischer et al., 2004*	Contextual fear conditioning, mice	Anisomycin, intrahippocampal	1 day	1 day	6 days (w/reminder only)	Required
Lattal & Abel, 2004	Contextual fear conditioning, mice	Anisomycin, systemic	1 day	1 day	21 days	No
Salinska et al., 2004	Passive avoidance, day-old chicks	Anisomycin, IMHV	1 day	6 hours	1 day	No
Power et al., 2006	Step-through inhibitory avoidance, rats	Anisomycin, intrahippocampal	6 hours	2 days	6 days	Optional
Prado-Alcalá et al., 2006	Step-through inhibitory avoidance, rats	Tetrodotoxin, intrahippocampal or intraamygdala	2 days	2 days	6 days	No
Amaral et al., 2007	Step-down inhibitory avoidance, rats	Muscimol, intrahippocampal	1 day	1 day	2 days	No
Cai et al., 2004*	Classical fear conditioning, mice	Corticosterone, systemic	2 days	1 day	3 days (1 day w/reminder)	Optional

Table 1. Studies showing transient amnesia due to interventions following memory reactivation. Indicated in the first three columns are the study, behavioral task, species, drug (or other intervention) and form of administration used. “Time of disruption” column refers to the interval between training and the time at which memory is reactivated and disrupted. “Time of amnesia” refers to the interval between memory disruption and the time at which behavioral testing first indicates amnesia. “Time of recovery” refers to the interval between memory disruption and the first behavioral test indicating recovery from amnesia. “Reminder” column indicates if reminders were tested in the study, and if they were required or optional for recovery to occur (“no” indicates that reminders were not tested in the study). The last two studies show evidence of both transient and permanent effects of different interventions (see text), and are therefore also included in Table 2. Mechanisms of action of drugs: anisomycin and cycloheximide, protein synthesis inhibitors; 2-deoxygalactose, glycoprotein fucosylation inhibitor; AP5, NMDA receptor antagonist, Rp-cAMPs, protein kinase A inhibitor; PD098059, mitogen-activated kinase kinase inhibitor; MS222 and tetrodotoxin, Na⁺-channel blockers; muscimol, GABA-A agonist. IMHV, intermediate medial ventral hyperstriatum *, Results attributed to accelerated extinction; #, for further discussion of this result, see text and Fig. 5.

Table 2

Reference	System	Intervention	Time of disruption (from training)	Time of initial test (from disruption)	Time of last test (from disruption)	Reminder?
Child et al., 2003	Pavlovian conditioning, <i>Hermisenda</i>	Anisomycin, systemic	4 hours	4 hours	3 days	No
Pedreira and Maldonado, 2003	Contextual conditioning, <i>Chasmagnathus</i>	Cycloheximide, systemic	1 day	1 day	2 days	No
Suzuki et al., 2004	Contextual fear conditioning, mice	Anisomycin, systemic	1 day	1 day	1 week	No
Duvarci and Nader, 2004	Contextual fear conditioning, rats	Anisomycin, intra-amygdala	1 day	1 day	24 days	Yes
Debiec and LeDoux, 2004	Auditory fear conditioning, rats	Propranolol, systemic	1 day / 2 months	2 days	16 days / 1 month*	Yes
Lee et al., 2004	Contextual fear conditioning, rats	Zif-268 antisense ODN, intrahippocampal	1 day	1 day	6 days	No
Boccia et al., 2005	Step-through inhibitory avoidance, mice	Interfering task (hole-board habituation)	1 day	1 day	3 days	No
Tronel et al., 2005	Step-through inhibitory avoidance, rats	Anisomycin, systemic	2 days	1 week	1 week	No
Bustos et al., 2006	Contextual fear conditioning, rats	Midazolam, systemic	1 day	1 day	11 days	Yes
Rossato et al., 2006	Morris water maze, rats	Anisomycin, intrahippocampal	1 day / 5 days (from last session)	1 day	5 days	No
Boccia et al., 2006	Step-through inhibitory avoidance, mice	Hemicholinium, ICV	2 days / 7 days / 14 days	1 day	5 days / 19 days #	No
Tronel et al., 2007	Step-through inhibitory avoidance, rats	RU 38486, intra-amygdala	2 days	2 days	10 days	Yes
Cai et al., 2004	Classical fear conditioning, mice	Anisomycin, systemic	2 days	1 day	3 days	Yes
Milekic et al., 2006	Morphine conditioned place preference, rats	Cycloheximide, systemic (2 injections); anisomycin, intrahippocampal, intra-amygdala, intra-accumbens	1 week (from last session)	1 day	4 weeks (for cycloheximide / 1 week (for anisomycin)	For anisomycin only

Table 2. Studies showing amnesic effects persisting over multiple trials after post-reactivation interventions. Indicated in the first three columns are the study, behavioral task, species, drug (or other intervention) and form of administration used. “Time of disruption” column refers to the interval between training and the time at which memory is reactivated and disrupted. “Time of initial test” refers to the interval between memory disruption and the time at which behavioral testing first indicates amnesia. “Time of last test” refers to the interval between memory disruption and the last behavioral test performed. Note that the time of the last trial varies between 2 days and 1 month following disruption. “Reminder” column indicates if the effect of reminders after post-reactivation amnesia was tested in the study. The last two studies show evidence of both transient and permanent effects of different interventions (see text), and are therefore also included in Table 1. Mechanisms of action of drugs: anisomycin and cycloheximide, protein synthesis inhibitors; propranolol, β -adrenoreceptor antagonist; midazolam, benzodiazepine; hemicholinium, choline uptake inhibitor; RU 38486, glucocorticoid receptor antagonist. ODN, oligodeoxynucleotide; ICV, intracerebroventricular;*, group where disruption occurred at 2 days tested 16 days later, group where disruption occurred at 2 months tested 1 month later; #, test at 19 days performed only in the group where disruption was performed at 2 days (other groups tested only at 5 days).

Figure 1.

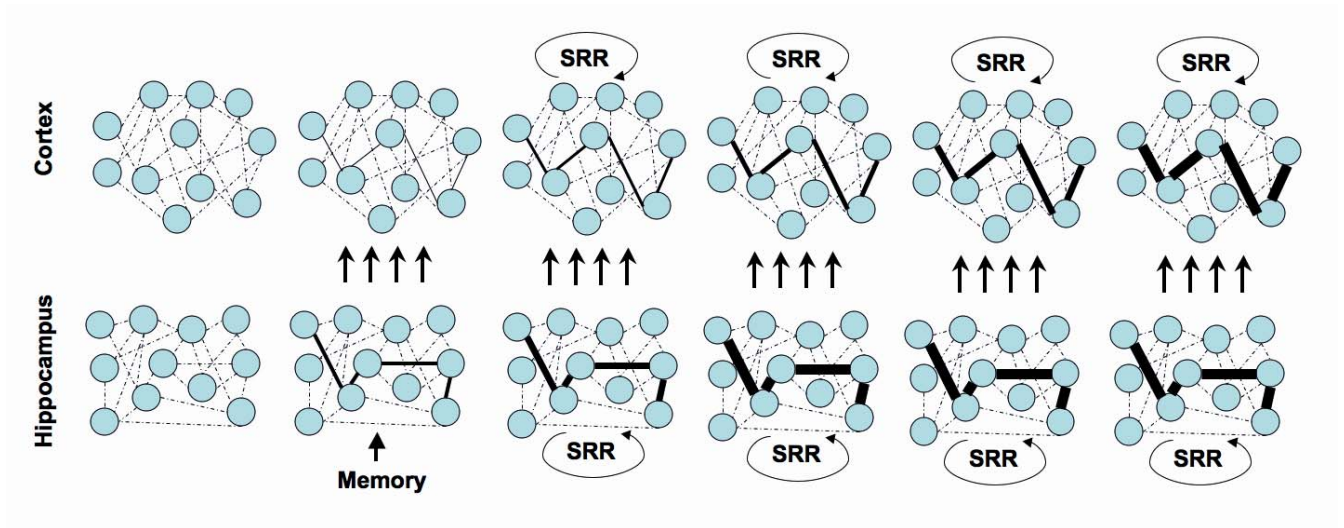


Figure 2.

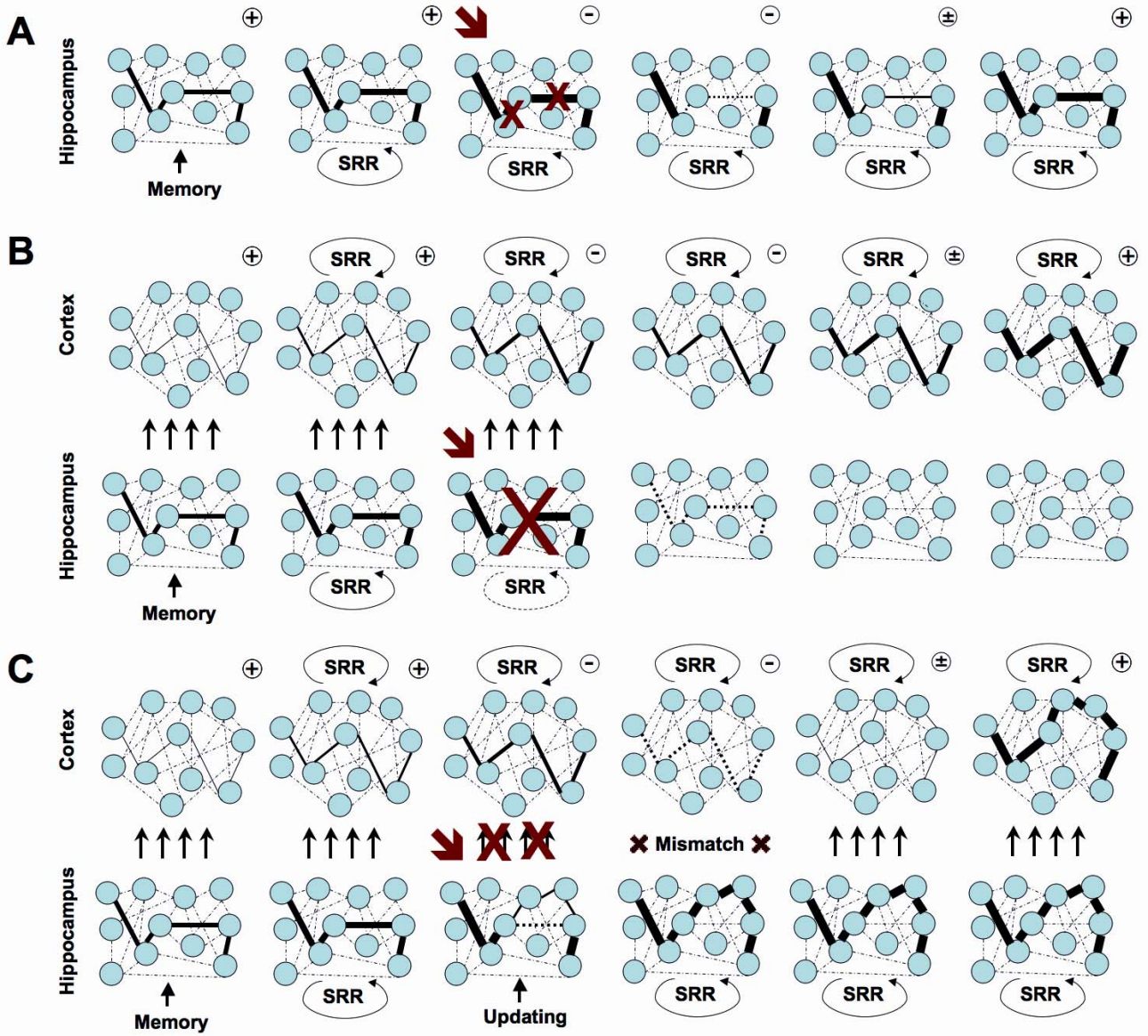


Figure 3.

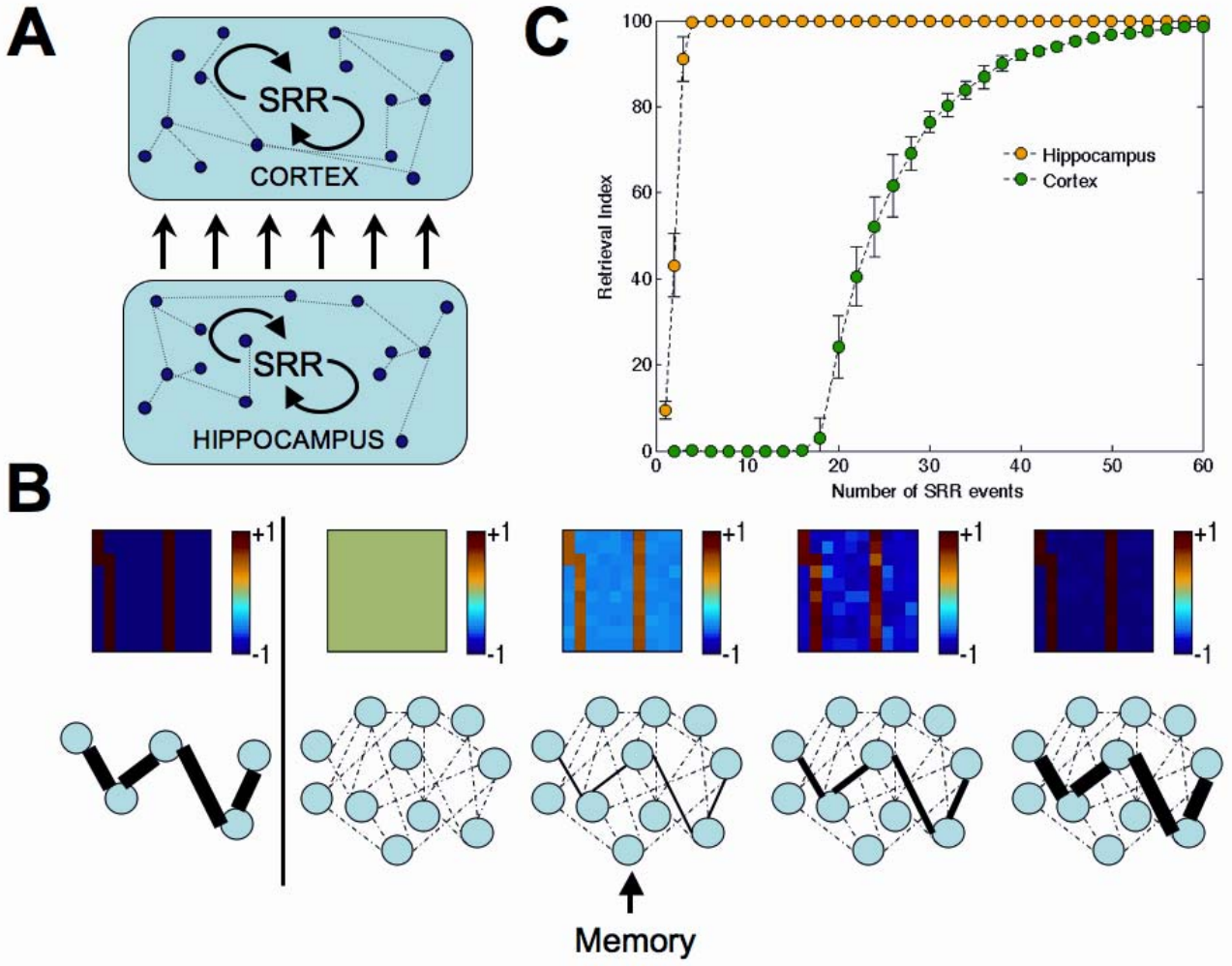


Figure 4.

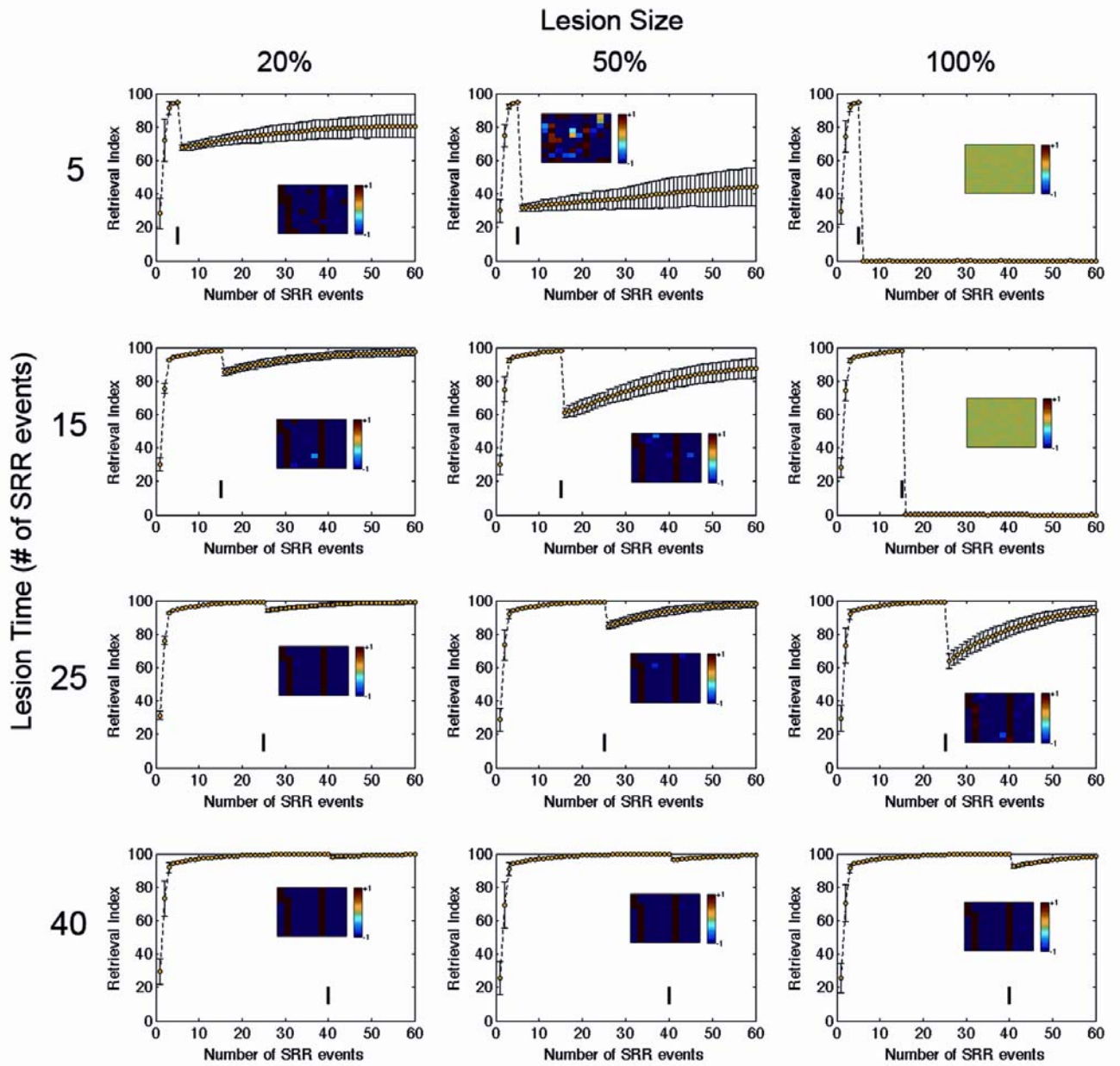
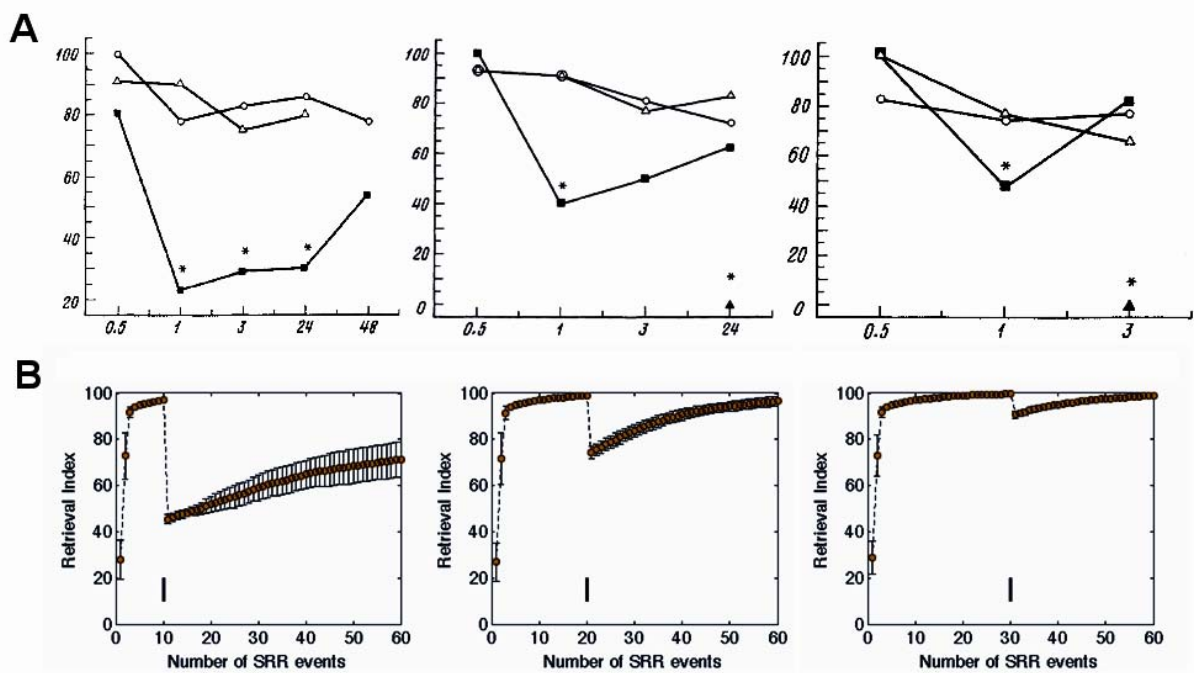


Figure 5.



PARTE III

Discussão

III.1. DISCUSSÃO

III.1.a. Resultados experimentais

Os resultados experimentais obtidos no capítulo II.1 são compatíveis com os diversos estudos anteriores que demonstram a possibilidade de amnésia transitória causada por intervenções realizadas após a reativação da memória (Anokhin et al., 2002; Eisenberg e Dudai, 2004; Fischer et al., 2004; Judge e Quartermain, 1982; Lattal e Abel, 2004; Litvin e Anokhin, 2000; Mactutus et al., 1979; Power et al., 2006; Prado-Alcalá et al., 2006; Salinska et al., 2004; Szapiro et al., 2003; Vianna et al., 2001). Em resumo, os experimentos realizados demonstram que (a) a administração do agonista GABA-A muscimol na região CA1 do hipocampo imediatamente após o treino na tarefa de esquiwa inibitória é capaz de inibir completamente a expressão da memória em treinos subseqüentes, provavelmente por impedir a consolidação da mesma; (b) a administração da mesma substância 24 h após o treino e imediatamente após a reativação de uma memória estabelecida causa um efeito amnésico transitório observado 24 h, mas não 48 h depois desta intervenção (ou seja, 48 h, mas não 72 h após o treino); (c) tal efeito amnésico é dependente da reativação da memória, pois não é observado com injeções 24 h após o treino na ausência da mesma e (d) a recuperação da memória ocorre 48 h após a injeção pós-teste de muscimol mesmo na ausência de múltiplos testes.

Tais resultados somam-se a dados já existentes na literatura em relação ao efeito da inativação temporária do hipocampo sobre a consolidação e a reconsolidação,

acrescentando duas informações importantes: (a) o fato de que a superativação de receptores GABAérgicos realizada no período pós-reativação tem efeito sobre o suposto processo de “reconsolidação”, paradigma no qual tal sistema de neurotransmissores ainda não havia sido estudado e (b) o achado de que a recuperação da memória após a inativação hipocampal pós-teste ocorre espontaneamente na ausência de múltiplos testes, contrariando a interpretação de alguns autores que realizaram estudos semelhantes sem controlarem tal variável e atribuíram a reversão da amnésia à testagem experimental (Prado-Alcalá et al., 2006). Tal achado é compatível com os poucos trabalhos anteriores que avaliaram a ocorrência de recuperação da memória na ausência do teste inicial após intervenções pós-treino (Lattal e Abel, 2004; Szapiro et al., 2003; Vianna et al., 2001) e representa um fator fundamental na discussão que se seguirá, pois sugere que tal recuperação deve depender de processos endógenos que ocorrem na ausência de manipulação comportamental ou de estímulos diretamente relacionados à tarefa. Tal observação foi o que nos levou a trabalhar no capítulo seguinte com os processos tardios de consolidação da memória como candidatos prováveis para explicar a recuperação da mesma.

Um aspecto interessante a ser levado em conta é que o curso temporal da amnésia em nosso trabalho é idêntico ao observado no mesmo paradigma experimental com a injeção pós-teste de outras drogas com mecanismos de ação muito diversos, tais como anisomicina (inibidor de síntese protéica) (Vianna et al., 2001), AP5 (bloqueador dos receptores NMDA), PD 098059 (inibidor da MEK), Rp-cAMPs (inibidor da proteína quinase dependente de AMPc (PKA)) (Szapiro et al., 2003) e RC-3095 (bloqueador do receptor do peptídeo liberador de gastrina (GRP)) (Luft et al., 2007) (resultados reproduzidos na Fig. III.1). Ao mesmo tempo, todas estas drogas apresentam efeito amnésico persistente se injetadas durante o período de consolidação (Luft et al., 2007;

Szapiro et al., 2003; Vianna et al., 2001). Isto sugere que a recuperação espontânea da memória após intervenções no período de reconsolidação não parece estar relacionada a um fármaco ou mecanismo molecular de amnésia específico, mas sim ao protocolo experimental utilizado. Tal interpretação também é sugerida pelo fato de que estudos utilizando tarefas e condições experimentais distintas têm obtido resultados por vezes opostos em relação à persistência da amnésia, mesmo que utilizem os mesmos fármacos (como pode ser observado nas tabelas 1 e 2 do capítulo II.2.). Por outro lado, estudos advindos de um mesmo laboratório, utilizando protocolos semelhantes, têm geralmente mostrado resultados relativamente consistentes de amnésia persistente (Tronel e Alberini, 2007; Tronel et al., 2005) ou transitória (Szapiro et al., 2003; Vianna et al., 2001). Tais

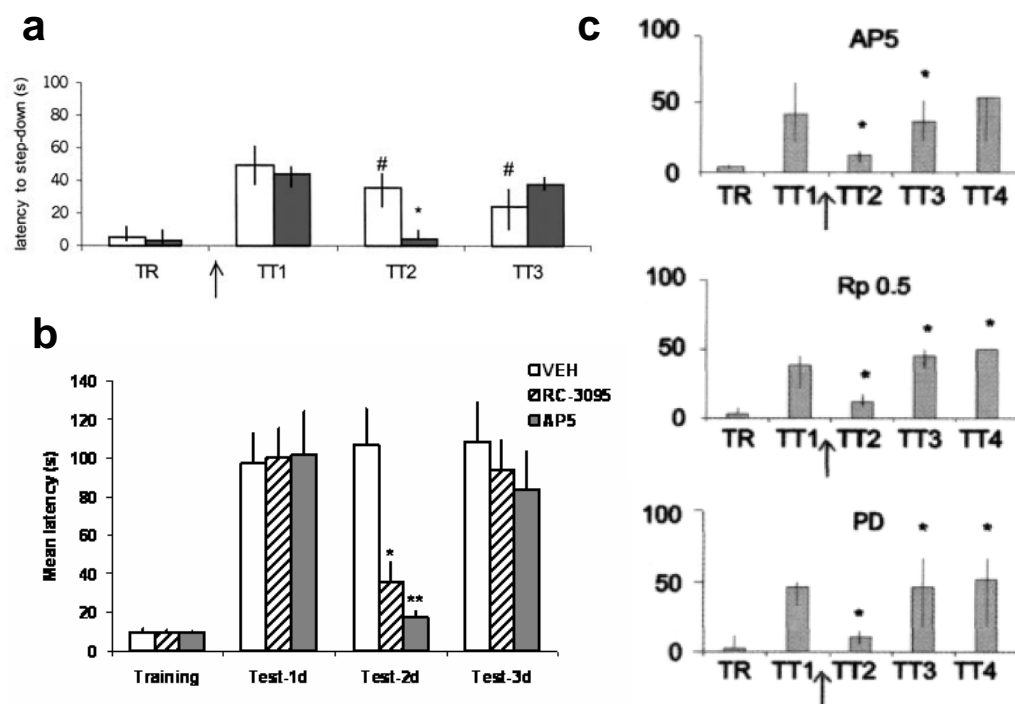


Figura III.1. Curso temporal da amnésia induzida por (a) injeções pré-teste de anisomicina (Vianna et al., 2001), (b) injeções pós-teste de RC-3095 e AP5 (Luft, 2007), e (c) injeções pós-teste de PD 098059, Rp-cAMP e AP5 (Szapiro et al., 2003) realizadas 24 h após o treino na tarefa de esquiiva inibitória. Com todas as drogas, observa-se amnésia 24 h após a injeção com recuperação 48 h após, efeito semelhante ao observado com muscimol no Capítulo II.2.

constatações formaram a base empírica para a opção de utilizar um conceito genérico de “perturbação do traço mnemônico” em nosso modelo, supondo que o mesmo possa ser representativo de intervenções farmacológicas diversas.

A discussão dos resultados realizada neste capítulo adianta, de maneira incipiente, elementos do modelo teórico que viria a ser construído no trabalho seguinte. Como mencionado nesta discussão, a possibilidade de explicações para a amnésia transitória que não envolvam alguma forma de “reconsolidação” ou labilização do traço parece pouco provável. A facilitação da extinção, por exemplo, que por vezes é invocada para explicar achados semelhantes (Alberini, 2007; Cai et al., 2006; Fischer et al., 2004), representa uma explicação pouco factível, já que praticamente todos os fármacos que se mostram amnésicos no período pós-reativação têm efeitos inibitórios sobre a consolidação da memória (Corcoran et al., 2005; Izquierdo et al., 1992; Quevedo et al., 1999), e mesmo sobre a extinção (Berman e Dudai, 2001; Corcoran et al., 2005; Vianna et al., 2001) em protocolos em que esta é observada. A hipótese de efeitos inespecíficos de longa duração, por sua vez, é excluída pela falta de efeito do fármaco na ausência da reativação da memória. Já em relação à recuperação da memória, a possibilidade de uma reversão do efeito devido à modulação positiva de porções remanescentes do traço por dicas (“*reminder effects*”) relacionadas ao primeiro teste é excluída pelo grupo experimental em que somente um teste é realizado 72 h após o treino. Assim, o efeito amnésico observado parece realmente se dever a algum processo de labilização do traço mnemônico, como proposto pela teoria da reconsolidação, seguido por um processo não esclarecido de recuperação espontânea da memória.

Algumas limitações deste estudo incluem a utilização de uma única droga em uma única dose, a realização da intervenção pós-teste em um único tempo após o treino, e a

ausência de intervenções para induzir a recuperação da memória após o bloqueio da consolidação. Em relação à dose de muscimol, esta foi utilizada devido a diversos estudos anteriores que mostraram que a mesma (Zarrindast et al., 2002), ou mesmo uma dose duas vezes menor (Corcoran et al., 2005) eram efetivas para bloquear a consolidação da memória. No entanto, como a sensibilidade da consolidação e da reconsolidação a fármacos amnésicos não é necessariamente idêntica (Anokhin et al., 2002; Lattal e Abel, 2004), não se pode excluir totalmente que a transitoriedade da amnésia pelo bloqueio de reconsolidação seja um fenômeno relacionado à dose (ou seja, que uma dose maior utilizada no período de reconsolidação pudesse vir a ter um efeito permanente). Ao mesmo tempo, apesar de que, como mencionado anteriormente, as diferenças de persistência da amnésia em diferentes trabalhos parecem depender mais do protocolo comportamental do que da droga utilizada, não se pode excluir a possibilidade de que outras drogas amnésicas com mecanismos de ação ou propriedades farmacocinéticas distintas possam causar efeitos diferentes neste mesmo protocolo.

Já em relação ao tempo do primeiro teste (após o qual é realizada a intervenção amnésica), este foi fixado em 24 horas, de acordo com o que tem sido realizado na maior parte dos estudos sobre reconsolidação (ver tabelas 1 e 2 do capítulo II.2). No entanto, como em nossos trabalhos de modelagem computacional o tempo da intervenção amnésica veio a mostrar-se como um potencial fator determinante na possibilidade de recuperação da memória – uma hipótese confirmada pelo único estudo experimental demonstrando amnésia transitória em que as intervenções foram realizadas após testes em diferentes tempos (Litvin e Anokhin, 2000) –, a possibilidade de realizar o bloqueio da reconsolidação em diferentes tempos parece claramente importante numa análise retrospectiva, e deverá ser levada em consideração em estudos futuros. Finalmente, uma última limitação do estudo foi

o fato de que não foi testado o efeito de intervenções como dicas contextuais ou injeções pré-teste de drogas promnésicas (ou do próprio agente amnésico, no sentido de avaliar a possibilidade de “dependência de estado”) sobre a amnésia induzida pelo bloqueio da consolidação. Assim, apesar de tal amnésia ser aparentemente persistente, não se pode excluir que a recuperação da memória possa ser induzida de alguma forma neste protocolo. Mesmo que essa possibilidade não possa ser excluída, no entanto, o estudo permanece sendo uma demonstração válida de que o curso natural da amnésia induzida pela inativação hipocampal é diferente nos períodos de consolidação e reconsolidação, já que a recuperação espontânea 48 h após a intervenção só acontece no segundo caso.

III.1.b. Resultados teóricos e computacionais

No capítulo II.2, foi inicialmente realizada uma revisão mais extensa da literatura sobre amnésia transitória, além de uma discussão sobre processos de consolidação “tardia” da memória, o que nos permitiu formular hipóteses teóricas mais bem embasadas para explicar os resultados obtidos no capítulo anterior e conciliá-los com a literatura vigente. O principal achado de tal revisão bibliográfica, já mencionado na introdução, foi o de que a literatura demonstrando tanto a possibilidade de amnésia persistente quanto a de amnésia transitória após o bloqueio da consolidação e reconsolidação é bastante ampla. Ao mesmo tempo, a mesma encontra-se de certa forma “polarizada”, no sentido de que estudos individuais geralmente mostram apenas uma das duas alternativas: dentre os trabalhos investigando intervenções durante o período de reconsolidação, por exemplo, foram encontrados apenas dois casos em que as duas situações foram observadas num mesmo estudo conforme variações no protocolo experimental. Num deles, duas injeções sistêmicas

de um inibidor de síntese protéica foram capazes de induzir amnésia persistente, enquanto que uma injeção única causou efeitos transitórios (Milekic et al., 2006). Já no segundo, a injeção sistêmica de anisomicina levou a um efeito amnésico persistente, enquanto que a de corticosterona causou amnésia transitória, o que levou os autores a postularem que o efeito da primeira se deveria ao bloqueio da reconsolidação, enquanto que o da segunda se daria em função da facilitação de um processo de extinção (Cai et al., 2006). Tal hipótese é factível, considerando-se que a corticosterona pode possuir efeitos tanto facilitatórios como inibitórios sobre a consolidação da memória (e portanto, possivelmente sobre a extinção e/ou reconsolidação) conforme a dose utilizada (Andreano e Cahill, 2006), e que um antagonista de seus receptores mostrou-se efetivo no bloqueio da reconsolidação em outro estudo (Tronel e Alberini, 2007); entretanto, é igualmente possível que, talvez por causar uma menor perturbação do traço mnemônico do que a anisomicina, a corticosterona possa ter tido um efeito inibitório (e transitório) sobre o processo de reconsolidação.

Estes estudos (ou pelo menos o primeiro dos dois) parecem sugerir que um fator potencialmente importante na possibilidade de recuperação do traço mnemônico após intervenções amnésicas durante a reconsolidação seja o grau de perturbação deste traço (com doses maiores ou fármacos de efeito mais acentuado levando a uma amnésia permanente). De resto, no entanto, a revisão extensa da literatura, sumarizada nas tabelas 1 e 2 do capítulo II.2., não demonstrou claramente a importância de outros fatores. A tarefa utilizada tem sido eventualmente postulada como um fator importante, já que estudos com esquiva inibitória têm encontrado efeitos transitórios com mais frequência do que aqueles utilizando paradigmas de condicionamento contextual por medo, por exemplo. No entanto, a revisão realizada demonstra que as duas possibilidades ocorrem nas duas tarefas (Duvarci e Nader, 2004; Lattal e Abel, 2004; Power et al., 2006; Tronel e Alberini, 2007) (ver

tabelas 1 e 2 do capítulo II.2); assim, apesar da tarefa poder ter influência sobre a possibilidade de recuperação, ela não parece ser o único fator envolvido, ou mesmo o mais importante destes.

Aspectos temporais representam outra variável que poderia afetar a recuperação da memória. Tal hipótese foi inicialmente considerada devido às diferenças de persistência entre a amnésia induzida por intervenções semelhantes nos períodos de consolidação e reconsolidação em nosso estudo e em diversos outros (Anokhin et al., 2002; Lattal e Abel, 2004; Power et al., 2006; Prado-Alcalá et al., 2006; Szapiro et al., 2003; Vianna et al., 2001): afinal, uma explicação possível para este achado, dentre outras, é a de que o intervalo entre o treino e a intervenção amnésica (que é sempre mais tardia quando realizada durante a reconsolidação, já que esta por definição ocorre após o final período de consolidação clássica) possa influir na possibilidade de recuperação da memória. Naturalmente, a hipótese alternativa de que a natureza da amnésia em ambos os casos é diferente devido a diferenças inerentes entre os dois processos (Power et al., 2006; Riccio et al., 2006) é igualmente factível. Para diferenciar ambas as hipóteses, uma abordagem inicial seria a realização do bloqueio da reconsolidação em diferentes tempos após o treino, o que tem sido realizado em alguns estudos (Boccia et al., 2006; Debiec e LeDoux, 2004; Debiec et al., 2002; Eisenberg e Dudai, 2004; Frankland et al., 2006; Litvin e Anokhin, 2000; Milekic e Alberini, 2002; Suzuki et al., 2004). No entanto, em apenas três destes a persistência da amnésia após o teste inicial foi devidamente avaliada através de testes tardios. No primeiro deles (o único dos três no qual a amnésia observada foi claramente transitória), tanto o grau de amnésia inicialmente obtido como o grau e a velocidade de recuperação da mesma mostraram-se dependentes do tempo após o treino em que a intervenção pós-reativação foi realizada (Litvin e Anokhin, 2000) (ver Fig. 5 do capítulo

II.2), o que constitui um indício significativo de que este fator seja importante na possibilidade de recuperação. Já no segundo estudo (Fig. III.2.a, Boccia et al., 2006), o bloqueio da reconsolidação em tempos mais precoces (2 dias ou 7 dias após o treino) demonstrou efeito persistente, e o bloqueio em um tempo tardio (30 dias após o treino) não demonstrou efeito; no entanto, quando tal intervenção foi realizada em um tempo intermediário (14 dias) observa-se amnésia parcial com uma possível tendência leve à recuperação, que não foi valorizada pelos autores. Finalmente, no terceiro estudo (Fig. III.2.b, Debiec e LeDoux, 2004), a amnésia após o bloqueio da reconsolidação mostrou-se persistente tanto com intervenções realizadas 1 dia após o treino como com intervenções realizadas após 2 meses. Já em relação à comparação dos tempos de intervenção entre

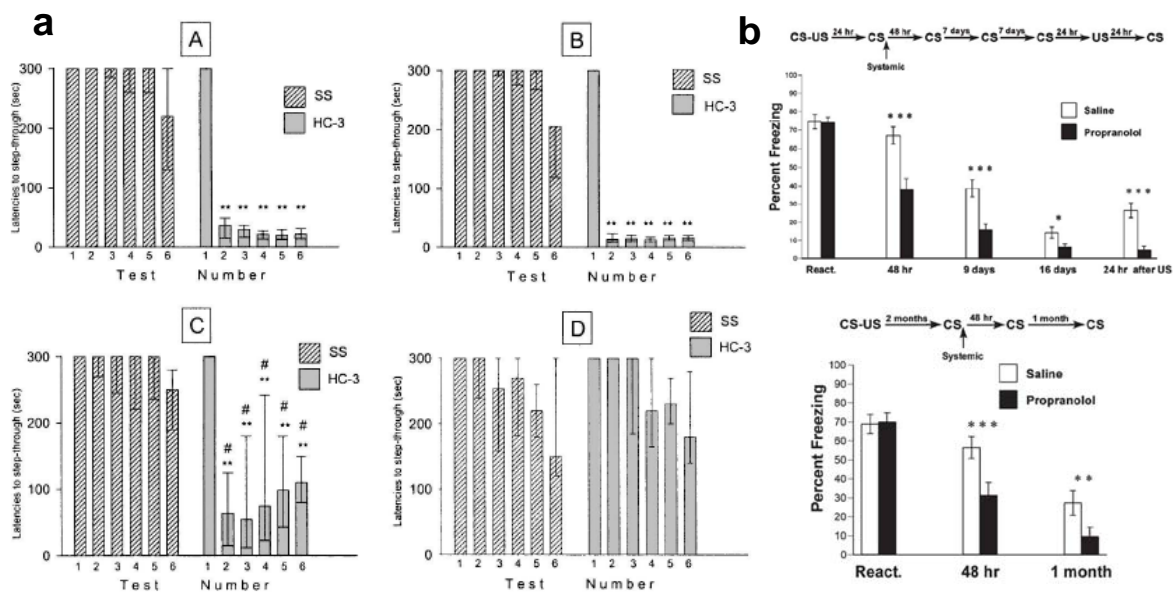


Figura III.2 Efeito do tempo da intervenção sobre o curso temporal da amnésia. (a) Injeções ICV pós-teste de hemicolinio-3 realizadas 2 (A), 7 (B), 14 (C) ou 30 (D) dias após o treino em uma tarefa de esquiwa inibitória demonstram amnésia persistente nos dois primeiros casos, ausência de efeito no último e um possível efeito de recuperação parcial da memória com intervenções aos 14 dias (Boccia et al., 2006). (b) Injeções sistêmicas pós-teste de propranolol realizadas 24 horas ou 2 meses após o treino em uma tarefa de medo contextual apresentam efeitos persistentes em ambos os casos (Debiec et al. 2004).

estudos diferentes, as tabelas 1 e 2 mostram que o tempo pós-treino tampouco parece explicar sozinho as diferenças entre estudos, já que tanto após intervenções precoces quanto tardias as possibilidades de amnésia transitória, amnésia persistente ou ausência de efeito podem ser observadas, provavelmente em função de diferenças nos protocolos experimentais utilizados.

Como a simples comparação entre estudos teve efetividade limitada em definir com precisão os fatores envolvidos na recuperação da memória, tendo na melhor das hipóteses sugerido algumas possibilidades, como o grau de perturbação ao traço e o tempo em que a intervenção amnésica ocorre, passamos a especular sobre possíveis mecanismos capazes de explicar a ocorrência de amnésia transitória dentro dos modelos vigentes de consolidação da memória. Para tal fim, tomou-se como base os processos de consolidação tardia ou “sistêmica” do traço mnemônico. Tal estratégia foi adotada devido à constatação, em nossos experimentos e em alguns outros (Lattal e Abel, 2004; Squire e Barondes, 1972; Szapiro et al., 2003; Vianna et al., 2001) de que a recuperação da memória pode ocorrer espontaneamente, o que sugere processos endógenos como candidatos prováveis para explicar a recuperação da memória. Outro motivo para tal opção foi o fato de que a recuperação da memória, quando observada, geralmente ocorre numa escala compatível com o período em que tais processos normalmente estão ocorrendo (ou seja, de horas a dias após a ocorrência da amnésia) (Dudai, 2004; Frankland e Bontempi, 2005).

Em relação aos três mecanismos gerais discutidos no artigo, estes permanecem essencialmente especulativos. E, ainda que tenhamos nos concentrado basicamente em um deles (o mecanismo “b”, que postula a possibilidade de perturbação do traço hipocampal seguido da consolidação lenta do traço neocortical) em nossos experimentos de modelagem computacional, isto não significa que consideremos que este seja o verdadeiro mecanismo

ou mesmo o mais provável. Ao contrário, a escolha de um mecanismo específico foi feita por uma questão de praticidade, posto que o que pretendíamos com a modelagem computacional não era simular a situação da maneira exata com que ela acontece no sistema nervoso – até porque esta não é conhecida –, mas simplesmente demonstrar uma maneira (dentre as várias possíveis) pela qual processos de consolidação tardia podem levar à recuperação da memória em um sistema de redes neuronais, bem como estudar possíveis influências dos fatores postulados (tempo e grau de perturbação) sobre este processo. Assim, os dois outros mecanismos permanecem como hipóteses igualmente interessantes e também passíveis de serem testadas através de modelagem computacional ou outras abordagens.

Independentemente do mecanismo específico de recuperação, no entanto, a atribuição da recuperação espontânea da memória a processos tardios de consolidação, somada aos fatores cuja importância nos foi sugerida pela literatura, nos levou a formular um “modelo geral” que previa inicialmente que o *grau de perturbação* do traço hipocampal e o *tempo após o treino* em que esta ocorre seriam fatores determinantes na recuperação da memória. Tal modelo geral foi baseado na suposição natural de que, se processos de consolidação são capazes de “regenerar” uma memória inicialmente, tal regeneração vai ocorrer mais facilmente (a) quanto menor for a perturbação infligida ao traço e (b) quanto mais consolidada a representação desta memória estiver. Naturalmente, tal modelo não exclui que uma série de outros fatores, tais como variações nas tarefas e protocolos experimentais utilizados, também possam ser determinantes na possibilidade de recuperação da memória. Ainda assim, a estratégia utilizada de concentrar-se nestes dois fatores, pelo menos inicialmente, foi necessária a fim de permitir que fossem geradas algumas previsões testáveis.

A fim de testar tais previsões, foram realizadas simulações computacionais utilizando um modelo existente na literatura (Wittenberg et al., 2002), adaptado de maneira a modelar o mecanismo “b” proposto no artigo, ao levar em consideração a possibilidade de SRR ocorrendo no traço cortical, que também é sugerida por estudos experimentais (Cui et al., 2005; Cui et al., 2004). Definindo-se lesões hipocampais como a “desconexão” de parte ou de todos os neurônios do hipocampo do restante da rede, procedemos de maneira a variar o grau e o tempo destas lesões para testar nossas inferências iniciais. De maneira geral, tais inferências foram confirmadas, conforme mostrado na Figura 4 do capítulo II.2. Quanto mais neurônios hipocampais forem removidos da rede (simulando uma maior perturbação ao traço mnemônico), menor a chance de recuperação. Ao mesmo tempo, se esta intervenção é realizada mais precocemente (ou seja, após um número menor de reativações do traço na rede, levando a um menor grau de consolidação via SRR), a chance de recuperação também é menor. Deve-se ressaltar que o “tempo” no modelo computacional é medido pelo número de reativações do traço, o que significa que ele não é linear, já que é provável que a frequência de reativação após o aprendizado *in vivo* seja variável ao longo do processo de consolidação, sendo mais frequente, possivelmente, em períodos específicos como imediatamente após o aprendizado (Lin et al., 2005), durante o período de sono (Ribeiro et al., 2004) ou durante a evocação (Eisenberg e Dudai, 2004). Tal fato não invalida, no entanto, que uma memória com maior número de reativações no modelo computacional seja interpretada como uma memória mais remota, mesmo que a quantidade de tempo entre uma reativação e outra não possa ser medida linearmente.

Além disso, tais simulações geraram pelo menos uma previsão adicional: a de que o grau e o tempo de recuperação da memória nos casos de amnésia transitória seriam inversamente proporcionais ao tempo pós-treino em que a perturbação do traço ocorre.

Posteriormente ao desenvolvimento inicial do modelo, ao aprofundarmos nossa revisão da literatura, descobrimos que tal previsão era confirmada por pelo menos um estudo experimental previamente publicado (Litvin e Anokhin, 2000) cujos resultados apresentaram as mesmas tendências observadas em nossas simulações (ver Figura 5 do capítulo II.2). A ocorrência de tal “previsão retrospectiva” de dados não conhecidos quando da elaboração do modelo (e portanto não levados em conta na elaboração do mesmo) nos parece um indício interessante da possível validade do mesmo.

Em relação aos dois possíveis mecanismos que não foram incluídos no modelo (“a” e “c”), alguns dados computacionais preliminares obtidos após a conclusão do trabalho em discussão mostram que o mecanismo “a” (regeneração do padrão hipocampal a partir das partes remanescentes) de fato pode ocorrer no modelo utilizado, pelo menos com lesões parciais pequenas, se ao invés de desconectarmos parte dos neurônios hipocampais da rede permanentemente (como foi feito nas simulações apresentadas no capítulo II.2), simplesmente desfizemos as alterações nos pesos das conexões sinápticas envolvendo estes neurônios, deixando os mesmos evoluírem novamente após a perturbação da rede através de SRR (Figura III.3.a.). No entanto, particularidades do modelo em seu presente estado, em particular a escala de ativação variando de -1 a 1 (ao invés de entre 0 e 1), fazem com que o mesmo não seja particularmente apto, em seu estado atual, a testar o efeito de lesões maiores modeladas desta maneira, já que estas podem induzir o aprendizado de soluções inversas que impedem a interpretação dos resultados (Figura III.3.b.).

Já o mecanismo “c” (alterações na comunicação entre o hipocampo e o córtex com corrupção do traço cortical) também nos parece uma alternativa interessante a ser estudada

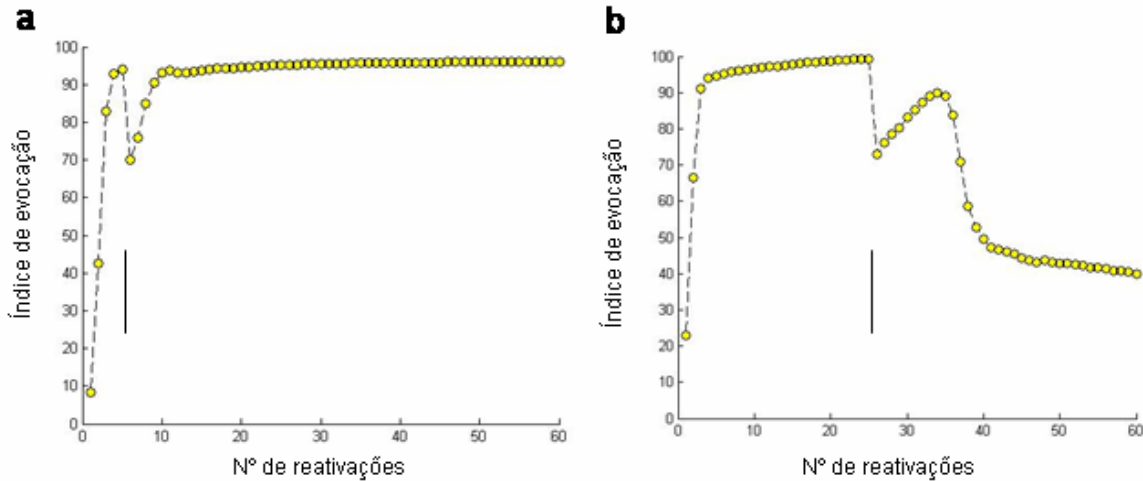


Figura III.3. Exemplos de resultados computacionais preliminares no modelo SRR demonstrando o efeito de lesões hipocâmpais simuladas através da alteração dos pesos sinápticos em parte dos neurônios hipocâmpais. **(a)** Efeito da alteração dos pesos sinápticos em 20% dos neurônios hipocâmpais após 5 reativações. Observa-se amnésia transitória de recuperação rápida, devido à presença de SRR a partir dos neurônios hipocâmpais não afetados. **(b)** Efeito da alteração dos pesos sinápticos em 90% dos neurônios hipocâmpais após 25 reativações. Após o efeito amnésico, observa-se inicialmente uma recuperação gradual da evocação devido ao SRR na rede cortical (ver figura 4 do capítulo II.2.). Entretanto, a recuperação é bruscamente interrompida pela geração de um traço hipocâmpal anômalo devido à geração de padrão inverso no hipocampo .

devido a algumas de suas peculiaridades, como o fato de que ele dispensa a ocorrência de um processo de “reconsolidação” propriamente dito da memória original. Pelo contrário, a hipótese formulada em relação a este mecanismo postula que, apesar do traço original poder permanecer armazenado no hipocampo, alterações de comunicação (ou a geração de um novo traço corrompido) sejam responsáveis pela perturbação do traço cortical. Tal modelo é particularmente efetivo em explicar a necessidade da incorporação de novas informações durante a reativação da memória para a labilização do traço (Morris et al., 2006; Pedreira et al., 2004; Rossato et al., 2006; Rossato et al., 2007), como previamente proposto (Eichenbaum, 2006), e também é um candidato atraente para ser testado através de métodos computacionais. No entanto, esta testagem provavelmente requer o

desenvolvimento de um modelo mais complexo, em que a rede cortical não represente uma cópia idêntica do traço hipocampal, e sim uma rede estruturalmente distinta em conectividade e tamanho, que seja capaz de extrair generalidades a partir de diversas memórias aprendidas pelo hipocampo, conforme postulado em modelos teóricos prévios (McClelland et al., 1995; O'Reilly e Rudy, 2000).

Em relação ao grau de relevância dos dados computacionais obtidos para a validação do modelo teórico proposto para o fenômeno da amnésia transitória, é importante ressaltar mais uma vez que o modelo computacional utilizado não pretende em absoluto constituir-se numa representação fiel da realidade neurobiológica. Pelo contrário, diversos aspectos do modelo utilizado, como a homogeneidade e conectividade total da rede hipocampal e o mapeamento “um para um” dos neurônios hipocampais e corticais, são claramente contrários à evidência empírica existente (Eichenbaum, 2004; McClelland et al., 1995; Morris, 2006). Além disso, a modelagem de um aprendizado mais rápido na rede hipocampal do que na rede cortical através da utilização de conexões que evoluem mais rapidamente no primeiro caso é um tanto quanto arbitrária: mesmo que tal abordagem tenha sido proposta por diversos modelos que tentam explicar a consolidação de sistemas (Alvarez e Squire, 1994; McClelland et al., 1995; Teyler e Rudy, 2007), a hipótese de que diferenças na estrutura e tamanho das redes hipocampais e corticais (e não na plasticidade a nível do neurônio individual) sejam responsáveis pelas diferentes velocidades de consolidação é provavelmente mais fidedigna à evidência experimental existente. Finalmente, vários fatores importantes relacionados ao aprendizado e evocação das memórias *in vivo* não estão representados no modelo. Dentre estes, destacam-se a evocação induzida por dicas contextuais (que é o que normalmente ocorre *in vivo*, ao contrário do modelo, em que a reativação ocorre espontaneamente), a existência de múltiplas memórias

concomitantes (que é claramente o caso biológico, enquanto o modelo lida com uma memória única) e a necessidade da reativação da memória para a ocorrência da reconsolidação (que em nossas simulações não é modelada, e sim tomada como um fato *a priori* externo ao modelo, assumindo-se que a reativação do traço mnemônico é necessária para que este seja perturbado após o período de consolidação inicial).

Mesmo assim, acreditamos que estas simplificações não invalidam a importância das simulações computacionais realizadas em apresentar uma demonstração de princípios importante: a de que, mesmo em um modelo extremamente simplificado, em que o bloqueio da consolidação e da reconsolidação são modelados através de intervenções idênticas em todos os aspectos com exceção do tempo em que ocorrem, tais diferenças temporais por si só são suficientes para contemplar a possibilidade de amnésia permanente em uma instância e transitória na outra. Tal dado nos parece claramente relevante, posto que alguns críticos da idéia de reconsolidação têm argumentado que a transitoriedade do efeito das intervenções pós-reativação significa que a amnésia nestes casos é fundamentalmente diferente da que ocorre no bloqueio da consolidação (e, conseqüentemente, que os processos subjacentes também devam ser) (Cahill et al., 2001; Power et al., 2006). Ao contrário, nosso modelo sugere que a diferença de persistência na amnésia obtida com a perturbação de ambos os processos não representa evidência suficiente para invocar que os mesmos sejam completamente distintos entre si (ou, mais radicalmente, que a reconsolidação não exista de fato), já que as diferenças temporais intrínsecas entre ambos podem por si só ser suficientes para explicar tal achado.

Naturalmente, isto não significa que ambos os processos sejam idênticos: pelo contrário, a consolidação e a reconsolidação certamente apresentam muitas diferenças entre si além do tempo em que ocorrem, não só em relação a seus mecanismos moleculares

(Alberini, 2005) mas principalmente em relação às diferenças na natureza de ambos os processos (Dudai, 2006; Nader, 2007), tais como o grau de novidade e conhecimento estabelecido na memória a ser processada, o que certamente deve fazer com que, ao contrário do que ocorre em nosso modelo computacional, ambos os processos (e suas respectivas perturbações) não sejam idênticos a nível sistêmico (i.e. no que diz respeito ao funcionamento da rede neuronal). Assim, várias outras explicações igualmente válidas podem ser invocadas além do tempo para explicar as diferenças de persistência entre ambos os processos.

Ainda que não possamos atestar que nosso modelo corresponda a realidade biológica, no entanto, acreditamos que ele é compatível com a maior parte da evidência experimental analisada na revisão bibliográfica efetuada, pelo menos no que diz respeito aos seguintes aspectos: (a) a possibilidade de amnésia transitória ou permanente ocorrer após intervenções amnésicas durante os períodos de consolidação e reconsolidação (Dudai, 2004; Dudai, 2006; Nader, 2007; Nader e Wang, 2006); (b) a maior probabilidade de recuperação da memória após intervenções durante a reconsolidação do que após aquelas realizadas no período de consolidação clássico (Anokhin et al., 2002; Lattal e Abel, 2004; Power et al., 2006; Prado-Alcalá et al., 2006; Szapiro et al., 2003; Vianna et al., 2001); (c) a influência do tempo após o treino em que uma intervenção pós-reativação é realizada sobre a severidade e a duração da amnésia resultante, quando a mesma mostra-se transitória (Litvin e Anokhin, 2000); e (d) a existência de um “gradiente” ou “janela” de reconsolidação em que as memórias mais recentes são mais suscetíveis à labilização do que as mais remotas (Boccia et al., 2006; Eisenberg e Dudai, 2004; Frankland et al., 2006; Milekic e Alberini, 2002; Suzuki et al., 2004).

Certamente, alguns dados da literatura não são completamente explicados por este modelo, tais como (a) as ocasionais demonstrações de recuperação espontânea da memória após intervenções muito precoces (i.e. pré-treino ou imediatamente pós-treino) mesmo após um grau importante de amnésia que sugira uma perturbação inicial importante do traço (Quartermain e McEwen, 1970), (b) a possibilidade de amnésia persistente após o bloqueio da reconsolidação mesmo em intervenções bastante tardias (Debiec e LeDoux, 2004) e (c) a possibilidade de reconsolidação de algumas memórias mesmo após o fim do período de consolidação de sistemas (i.e. num período em que lesões hipocampais na ausência de reativação não são mais capazes de afetar a evocação da memória) (Debiec et al., 2002). Entretanto, deve ser ressaltado que a literatura sobre consolidação e reconsolidação da memória é muito ampla, e é virtualmente impossível que um modelo teórico simples possa ser compatível com os inúmeros resultados por vezes contrários uns aos outros que são relatados em diferentes trabalhos. Tais controvérsias são e continuarão sendo inerentes a estudos comportamentais, que invariavelmente são sensíveis aos protocolos utilizados, os quais por sua vez variam muito entre um estudo e outro. Além disso, é provável que diversos fatores além do tempo de intervenção e do grau de perturbação do traço possam determinar a possibilidade de recuperação da memória após a amnésia, tais como a natureza da tarefa comportamental, a presença de dicas induzidas ou inerentes à mesma, a forma de reativação da memória utilizada, o tempo necessário para a consolidação de sistemas na tarefa e inúmeros outros. Assim, acreditamos que um modelo potencialmente válido deve adequar-se às “linhas gerais” da literatura, possuindo no entanto um grau de flexibilidade suficiente para acomodar resultados controversos – que inevitavelmente ocorrerão devido a variáveis não levadas em consideração no modelo – mesmo que não seja capaz de explicá-los completamente.

Nesse sentido, acreditamos que nosso modelo, ainda que não possua suporte empírico suficiente no momento para que se possa argumentar a favor de sua veracidade biológica (até porque muito pouco trabalho experimental foi realizado até agora no sentido de avaliá-la), representa uma possibilidade teórica factível e compatível com a maior parte da literatura existente. Além disso, ele apresenta algumas vantagens importantes em relação a outras explicações para a amnésia transitória existentes na literatura, no sentido de (a) não requerer explicações mecanisticamente distintas (baseadas em “déficits de armazenamento” e “déficits de evocação”, por exemplo) para efeitos amnésicos permanentes e transitórios, (b) não requerer distinções mecánísticas intrínsecas entre os processos de consolidação e reconsolidação para explicar a possibilidade de ambos os efeitos (mesmo que diversas diferenças certamente existam entre estes dois processos) e (c) não requerer que a ampla evidência em favor da existência de um processo de consolidação (e possivelmente de reconsolidação) da memória seja colocada em cheque devido a eventuais achados de amnésia transitória. Tais vantagens fazem com que o modelo se ajuste ao chamado “princípio da parcimônia” (i.e. de que explicações e entidades não devem ser multiplicadas sem necessidade) e concedem-lhe um grau de flexibilidade interessante que permite acomodar dados aparentemente contraditórios numa visão teórica única.

Naturalmente, no entanto, como todo modelo teórico, ele não passa de uma proposição a ser testada. Assim, muito trabalho experimental deve ser realizado antes que se possa argumentar que um modelo deste tipo de fato reflita aspectos da realidade neurobiológica dos mecanismos de amnésia e recuperação da memória. Neste sentido, a próxima seção delineará algumas abordagens experimentais e computacionais futuras que nos parecem relevantes para a validação das proposições apresentadas.

III.2. PERSPECTIVAS

III.2.a. Perspectivas experimentais

O fato de que o corpo central desta tese consiste num modelo eminentemente teórico faz com que as perspectivas geradas por ela sejam particularmente extensas: afinal, inerente à idéia de um modelo teórico está a proposição de abordagens experimentais para testá-lo empiricamente. Assim, esta seção tentará brevemente sugerir algumas perspectivas experimentais que nos parecem importantes para a elucidação da natureza do fenômeno da amnésia transitória, com base no modelo proposto.

Em relação a perspectivas de experimentos comportamentais, o primeiro passo a ser realizado no sentido de validar o modelo proposto é testar de maneira sistemática as duas variáveis propostas como possíveis determinantes da recuperação da memória (grau de perturbação do traço e tempo de realização da intervenção amnésica). Ambas já foram estudadas de maneira incipiente em alguns trabalhos (Boccia et al., 2006; Debiec e LeDoux, 2004; Litvin e Anokhin, 2000; Milekic et al., 2006), como mencionado na discussão da literatura realizada anteriormente. No entanto, certamente são necessários estudos mais extensos voltados especificamente para este fim, utilizando curvas de tempo e dose para intervenções amnésicas pós-reativação da memória e realizando múltiplos testes para avaliar a possibilidade de recuperação da memória após estas intervenções.

Uma abordagem experimental inicial neste sentido, a ser realizada em um futuro próximo, é adotar novamente o paradigma utilizado no capítulo II.1 desta tese (injeção

intra-hipocampal de muscimol após a reativação da memória de esquiiva inibitória), porém variando o tempo em que a reativação da memória e a intervenção amnésica são realizadas (que no estudo apresentado foi sempre de 24 horas pós-treino). Se o modelo proposto na tese é válido, esperaríamos encontrar efeitos amnésicos menos importantes e mais rapidamente reversíveis ao realizarmos a reativação da memória e a injeção de muscimol em tempos mais tardios (e.g. 48 horas após o treino), semelhantemente ao observado por Litvin e Anokhin (Litvin e Anokhin, 2000), ou mesmo uma ausência de efeito para intervenções realizadas muito tempo (e.g. vários dias ou semanas) após o treino inicial. Por outro lado, a realização de tal intervenção após a reativação da memória em um tempo anterior a 24 horas, mas posterior ao período clássico de consolidação (e.g. 12 horas após o treino) poderia demonstrar que o efeito amnésico transitório torna-se permanente (ou pelo menos mais duradouro) neste caso. Uma demonstração consistente de tal achado (ou seja, de que uma mesma intervenção após a reativação da memória em tempos distintos pode causar efeitos persistentes ou transitórios) – que, até o momento, só foi mostrado de maneira muito incipiente (Litvin e Anokhin, 2000) – é provavelmente o elemento mais importante para a validação experimental do modelo proposto.

Ao mesmo tempo, a demonstração da influência do grau de perturbação do traço sobre a recuperação da memória pode ser realizada utilizando paradigmas semelhantes ao utilizado por Milekic et al. (2006), num estudo em que foram demonstrados efeitos transitórios com uma injeção única de cicloheximida e efeitos persistentes com duas injeções separadas por 5 h de intervalo. Em nosso paradigma, por exemplo, poderiam utilizar-se múltiplas injeções de muscimol ou uma única injeção em diferentes doses para este fim. Nossos resultados computacionais sugerem, no entanto, que o tempo para tal intervenção terá de ser cuidadosamente escolhido. Afinal, nas simulações realizadas, há

diversos tempos de intervenção em que a recuperação da memória sempre ocorre (ou deixa de ocorrer), independentemente do grau de perturbação imposto ao traço hipocampal (ver Figura 4 do capítulo II.2); apenas em uma janela limitada de tempos intermediários as possibilidades de amnésia transitória e permanente são possíveis conforme o grau de perturbação. Os resultados experimentais já obtidos também sugerem que intervenções realizadas 24 horas após o treino talvez não sejam as mais adequadas para testar tal princípio, já que mesmo com uma dose relativamente alta de muscimol – ou de outras drogas, conforme demonstrado em estudos anteriores (Szapiro et al., 2003; Vianna et al., 2001) – o efeito amnésico observado é transitório; ainda assim, não se exclui a hipótese de que injeções múltiplas de tais drogas neste tempo possam causar uma disfunção hipocampal mais prolongada que leve à amnésia permanente. A possibilidade de uso de diferentes drogas num protocolo semelhante também pode ser considerada, tanto para estudar eventuais variações nos efeitos obtidos (devido a diferenças no grau ou forma de perturbação do traço mnemônico) como para testar o pressuposto assumido pelo modelo de que drogas amnésicas com mecanismos de ação diferentes tendem a ter efeitos semelhantes, pelo menos no que diz respeito à persistência ou transitoriedade da amnésia, contanto que protocolos semelhantes e doses de efeito comparável sejam utilizados.

Uma terceira possibilidade de testagem experimental do modelo, no sentido de tentar avaliar se a recuperação da memória de fato depende de mecanismos de consolidação tardia do traço, é tentar bloquear tais processos após a intervenção amnésica e avaliar se isto previne a recuperação da memória. Uma possibilidade simples neste sentido é o uso de modelos de privação de sono, os quais em tese deveriam dificultar a consolidação de sistemas ao prevenir a reativação hipocampal e a consolidação de informação no neocórtex durante o período de sono (Ribeiro e Nicolelis, 2004). Outras possibilidades seriam a

utilização de injeções farmacológicas prolongadas ou de técnicas de *knockout* condicional de genes importantes para a consolidação tardia da memória, conforme demonstrado por estudos prévios lidando com tais processos na literatura (Riedel et al., 1999; Shimizu et al., 2000).

O aspecto central na validação empírica do modelo proposto, assim, é o desenvolvimento de paradigmas em que amnésia transitória ou permanente possam ser induzidas dependendo do protocolo experimental utilizado (neste caso, através de variações no tempo e intensidade das intervenções). Este não tem sido o caso da literatura até agora, que vem se mostrando relativamente polarizada no sentido de mostrar apenas uma ou outra possibilidade, dependendo do estudo. Se tais paradigmas forem de fato estabelecidos, isso auxiliará também na avaliação de outras variáveis (e.g. tipo de tarefa, intensidade do treino e da reativação e outros) que possam ter impacto sobre a persistência da amnésia.

Outra questão em aberto é o desenvolvimento de modelos experimentais que possibilitem um melhor delineamento dos mecanismos específicos envolvidos na recuperação da memória, o que permitiria testar, por exemplo, as hipóteses mecanísticas propostas no capítulo II.2. Tal tarefa, no entanto, possui um grau de complexidade considerável, devido à atual falta de conhecimento sobre o funcionamento dos processos de aprendizado no sistema nervoso a nível sistêmico. Se a explicação para a recuperação da memória de fato envolve a presença de múltiplas representações de uma mesma memória, uma abordagem possível ao problema é o uso de intervenções direcionadas a diferentes áreas cerebrais em diversos tempos, semelhantemente ao que tem sido tentado por alguns autores (Frankland et al., 2006), com grau de sucesso limitado até agora. No entanto, outra possibilidade para uma melhor compreensão dos mecanismos a nível sistêmico é o uso de novos modelos computacionais, como será brevemente discutido na próxima seção.

III.2.b. Perspectivas computacionais

Como descrito previamente, o modelo computacional utilizado nesta tese constitui uma aproximação bastante simplificada de um processo de aprendizado em uma rede neuronal, que no entanto se mostrou eficaz em demonstrar o que foi proposto – ou seja, a possibilidade de recuperação de um traço mnemônico parcialmente danificado através de processos de reforço sináptico, bem como a influência do tempo e do grau de perturbação do traço sobre a probabilidade de recuperação. A simplicidade de tal modelo, no entanto, certamente representa uma limitação a ser superada em estudos futuros que visem avaliar questões mais complexas relacionadas à consolidação e à reconsolidação das memórias. Alguns aspectos significativos a serem implementados no modelo em trabalhos a serem realizados, como mencionado na discussão, são (a) a indução da evocação (i.e. recuperação do padrão completo por parte da rede) através de “dicas contextuais” (i.e. reativações parciais do padrão), semelhantemente ao que se pensa ocorrer *in vivo* (Marr, 1971; Teyler e DiScenna, 1986); (b) a coexistência de diversas memórias na rede, gerando atratores múltiplos que possam ser atingidos ou não conforme a informação contextual fornecida; (c) a simulação de lesões que possibilitem regeneração por SRR do traço dentro do próprio hipocampo (para testagem do mecanismo “a” proposto na tese); (d) a modelagem da reconsolidação propriamente dita dentro do modelo, ao invés da consideração da mesma como uma necessidade *a priori* para a perturbação tardia do traço; (e) a modelagem de redes não idênticas a nível do hipocampo e do neocórtex, fazendo com que as diferenças no ritmo de aprendizagem em ambas as estruturas possam ser explicadas por diferenças

estruturais; e (f) a modelagem de mecanismos de consolidação de sistemas em que o córtex seja responsável pela extração de características genéricas a partir de traços hipocampais múltiplos (McClelland et al., 1995; O'Reilly e Rudy, 2000).

Na tentativa de modelar os outros mecanismos propostos, por exemplo, já temos encontrado algumas dificuldades com o atual modelo, que nos levaram ao desenvolvimento de um modelo mais elaborado atualmente em fase de testagem inicial e aprimoramento. Dentre as questões a serem abordadas futuramente com este modelo, além da testagem dos dois mecanismos de recuperação da memória ainda não avaliados, inclui-se o estudo de possíveis mecanismos que expliquem a necessidade de reativação da memória e de incorporação de novas informações para a labilização do traço após o período de consolidação clássica (ou seja, dos mecanismos do fenômeno de reconsolidação propriamente dito). Se tais abordagens se mostrarem efetivas, pretendemos utilizá-las a fim de gerar novas previsões experimentalmente testáveis, possibilitando em última análise uma melhor compreensão dos fenômenos de consolidação e reconsolidação das memórias, bem como de suas perturbações.

Desta forma, o trabalho descrito nesta tese, como qualquer trabalho científico, não se encerra com sua conclusão. Pelo contrário, pretende-se manter as colaborações com os co-autores responsáveis pelo suporte experimental e computacional do trabalho até agora, tanto no Brasil como no exterior, de maneira a dar continuidade à linha de pesquisa iniciada. Tal tarefa é um desafio de longo prazo, que certamente demandará um aprofundamento maior do autor na área de neurobiologia sistêmica e computacional, a ser realizado através de uma imersão crescente na literatura existente na área, bem como de contatos futuros com laboratórios e pesquisadores que se dediquem à mesma. Se tais objetivos forem atingidos, entretanto, acreditamos que seja possível desenvolver um

trabalho frutífero neste campo no futuro, integrando abordagens diversas dentro do espectro da pesquisa em memória para uma melhor compreensão dos processos de aprendizado no sistema nervoso.

III.3. CONCLUSÕES

Em resumo, portanto, o trabalho apresentado nesta tese propôs-se a estudar a questão da amnésia transitória induzida por intervenções experimentais nos períodos de consolidação e reconsolidação da memória, buscando formular um modelo para a recuperação da mesma nesta situação. Inicialmente, foi realizada uma demonstração experimental deste fenômeno, mostrando que a inativação hipocampal por hiperestimulação dos receptores GABA-A causa amnésia persistente quando realizada no período de consolidação, enquanto a mesma intervenção no período de reconsolidação causa uma amnésia transitória que apresenta recuperação espontânea mesmo na ausência de manipulação comportamental. Após isso, foi realizada uma revisão da literatura que demonstrou que as possibilidades de amnésia persistente e transitória podem ocorrer tanto em intervenções no período de consolidação como no período de reconsolidação, mas que a transitoriedade parece ser distintamente mais comum no caso da reconsolidação. Além disso, tal revisão também confirmou que a recuperação da memória pode ser espontânea, especialmente para intervenções durante o período de reconsolidação.

Com base nestes achados, foram propostos alguns mecanismos para a recuperação da memória, com base em fenômenos de consolidação tardia tais como o conceito de reforço sináptico por realimentação (SRR). Tais mecanismos nos levaram a especular que o grau de perturbação do traço mnemônico por intervenções amnésicas e o tempo em que estas ocorrem poderiam ser fatores importantes na possibilidade de recuperação da memória, explicando assim as diferenças de persistência observadas entre a amnésia

causada pelo bloqueio da consolidação e aquela causada pelo bloqueio da reconsolidação. Procedemos então para testar um dos mecanismos propostos através de um modelo já publicado de consolidação da memória em redes neurais, o qual confirmou nossas inferências gerais, além de gerar pelo menos uma previsão adicional confirmada por resultados experimentais previamente publicados.

Resumidamente, assim, o modelo proposto sugere (a) que tanto amnésia transitória como permanente podem ocorrer após perturbações dos processos de consolidação ou reconsolidação, sem que seja necessário invocar conceitos mecanisticamente distintos de amnésia para explicar tal efeito e (b) que o grau de perturbação do traço mnemônico hipocampal e o tempo em que este ocorre após o treino podem ser fatores importantes na possibilidade de recuperação da memória. Tal modelo parece acomodar relativamente bem a maior parte dos dados da literatura sem a necessidade de invocar mecanismos distintos para efeitos amnésicos persistentes e transitórios, fugindo assim do insolúvel debate entre “déficits de armazenamento” e “déficits de evocação”. Assim, ainda que a maior parte dos aspectos do modelo apresentado ainda necessite de comprovação empírica, acreditamos que ele representa uma contribuição científica significativa para o estudo destes fenômenos, ao conciliar resultados aparentemente contraditórios e apresentar uma base teórica capaz de gerar novas previsões experimentalmente testáveis.

REFERÊNCIAS

- Agranoff BW, David RE, Brink JJ (1966). Chemical studies on memory fixation in goldfish. *Brain Res* 1:303-309.
- Alberini C (2007). Reconsolidation: the samsara of memory consolidation. *Debates Neurosci* 1:17-24.
- Alberini CM (2005). Mechanisms of memory stabilization: are consolidation and reconsolidation similar or distinct processes? *Trends Neurosci* 28:51-56.
- Alvarez P, Squire LR (1994). Memory consolidation and the medial temporal lobe: a simple network model. *Proc Natl Acad Sci USA* 91:7041-7045.
- Andreano JM, Cahill L (2006). Glucocorticoid release and memory consolidation in men and women. *Psychol Sci* 17:466-470.
- Anokhin KV, Tiunova AA, Rose SP (2002). Reminder effects - reconsolidation or retrieval deficit? Pharmacological dissection with protein synthesis inhibitors following reminder for a passive-avoidance task in young chicks. *Eur J Neurosci* 15:1759-1765.
- Berman DE, Dudai Y (2001). Memory extinction, learning anew, and learning the new: dissociations in the molecular machinery of learning in cortex. *Science* 291:2417-2419.
- Biedenkapp JC, Rudy JW (2004). Context memories and reactivation: constraints on the reconsolidation hypothesis. *Behav Neurosci* 118:956-964.

- Bliss TVP, Collingridge GL (1993). A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* 361:31-39.
- Bliss TVP, Lomo T (1973). Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol* 232:331-356.
- Boccia MM, Acosta GB, Blake MG, Baratti CM (2004). Memory consolidation and reconsolidation of an inhibitory avoidance response in mice: effects of i.c.v. injections of hemicholinium-3. *Neuroscience* 124:735-741.
- Boccia MM, Blake MG, Acosta GB, Baratti CM (2005). Memory consolidation and reconsolidation of an inhibitory avoidance task in mice: Effects of a new different learning task. *Neuroscience* 135:19-29.
- Boccia MM, Blake MG, Acosta GB, Baratti CM (2006). Post-retrieval effects of icv infusions of hemicholinium in mice are dependent on the age of the original memory. *Learn Mem* 13:376-381.
- Bontempi B, Laurent-Demir C, Destrade C, Jaffard R (1999). Time-dependent reorganization of brain circuitry underlying long-term memory storage. *Nature* 400:671-675.
- Bradley PM, Galal KM (1988). State-dependent recall can be induced by protein synthesis inhibition: behavioural and morphological observations. *Brain Res* 468:243-251.
- Bustos SG, Maldonado H, Molina VA (2006). Midazolam disrupts fear memory reconsolidation. *Neuroscience* 139:831-842.
- Cahill L, McGaugh JL, Weinberger NM (2001). The neurobiology of learning and memory: some reminders to remember. *Trends Neurosci* 24(10):578-581.

- Cai W-H, Blundell J, Han J, Greene RW, Powell CM (2006). Postreactivation glucocorticoids impair recall of established fear memory. *J Neurosci* 26:9560-9566.
- Cammarota M, Bevilaqua LR, Medina JH, Izquierdo I (2004). Retrieval does not induce reconsolidation of inhibitory avoidance memory. *Learn Mem* 11:572-578.
- Castellucci V, Pinsker H, Kupfermann I, Kandel ER (1970). Neuronal mechanisms of habituation and dishabituation of the gill-withdrawal reflex in *aplysia*. *Science* 167:1745-1748.
- Child FM, Epstein HT, Kuzirian AM, Alkon DL (2003). Memory reconsolidation in *Hermisenda*. *Biol Bull* 205:218-219.
- Cohen M, Grossberg S (1983). Absolute stability of global pattern-formation and parallel memory storage by competitive neural networks. *IEEE Trans Syst Man and Cyber* 13:815-826.
- Corcoran KA, Desmond TJ, Frey KA, Maren S (2005). Hippocampal inactivation disrupts the acquisition and contextual encoding of fear extinction. *J Neurosci* 25:8978-8987.
- Cui Z, Lindl KA, Mei B, Zhang S, Tsien JZ (2005). Requirement of NMDA receptor reactivation for consolidation and storage of nondeclarative taste memory revealed by inducible NR1 knockout. *Eur J Neurosci* 22:755-763.
- Cui Z, Wang H, Tan Y, Zaia KA, Zhang S, Tsien JZ (2004). Inducible and reversible NR1 knockout reveals crucial role of the NMDA receptor in preserving remote memories in the brain. *Neuron* 41:781-793.
- de Hoz L, Martin SJ, Morris RGM (2004). Forgetting, reminding, and remembering: the retrieval of lost spatial memory. *PLoS Biol* 2:e225.

- Debiec J, LeDoux JE (2004). Disruption of reconsolidation but not consolidation of auditory fear conditioning by noradrenergic blockade in the amygdala. *Neuroscience* 129:267-272.
- Debiec J, LeDoux JE, Nader K (2002). Cellular and systems reconsolidation in the hippocampus. *Neuron* 36:527-538.
- Dere E, Huston JP, De Souza Silva MA (2007). The pharmacology, neuroanatomy and neurogenetics of one-trial object recognition in rodents. *Neurosci Biobehav Rev* 31:673-704.
- Dudai Y (2002). Molecular bases of long-term memories: a question of persistence. *Curr Opin Neurobiol* 12:211-216.
- Dudai Y (2004). The neurobiology of consolidations, or, how stable is the engram? *Annu Rev Psychol* 55:51-86.
- Dudai Y (2006). Reconsolidation: the advantage of being refocused. *Curr Opin Neurobiol* 16:174-178.
- Dudai Y, Eisenberg M (2004). Rites of passage of the engram: reconsolidation and the lingering consolidation hypothesis. *Neuron* 44:93-100.
- Duncan CP (1949). The retroactive effect of electroconvulsive shock. *J Comp Physiol Psychol* 42:32-44.
- Duvarci S, Nader K (2004). Characterization of fear memory reconsolidation. *J Neurosci* 24:9269-9275.
- Eichenbaum H (2004). Hippocampus; cognitive processes and neural representations that underlie declarative memory. *Neuron* 44:109-120.
- Eichenbaum H (2006). The secret life of memories. *Neuron* 50:350-352.

- Eisenberg M, Dudai Y (2004). Reconsolidation of fresh, remote, and extinguished fear memory in Medaka: old fears don't die. *Eur J Neurosci* 20:3397-3403.
- Eisenberg M, Kobil T, Berman DE, Dudai Y (2003). Stability of retrieved memory: inverse correlation with trace dominance. *Science* 301:1102-1104.
- Fischer A, Sananbenesi F, Schrick C, Spiess J, Radulovic J (2004). Distinct roles of hippocampal de novo protein synthesis and actin rearrangement in extinction of contextual fear. *J Neurosci* 24:1962-1966.
- Foster DJ, Wilson MA (2006). Reverse replay of behavioural sequences in hippocampal place cells during the awake state. *Nature* 440:680-683.
- Frankland PW, Bontempi B (2005). The organization of recent and remote memories. *Nat Rev Neurosci* 6:119-130.
- Frankland PW, Ding HK, Takahashi E, Suzuki A, Kida S, Silva AJ (2006). Stability of recent and remote contextual fear memory. *Learn Mem* 13:451-457.
- Gold PE (1986). The use of avoidance training in studies of modulation of memory storage. *Behav Neural Biol* 46:87-98.
- Gold PE, Haycock JW, Macri J, McGaugh JL (1973). Retrograde amnesia and the "reminder effect": an alternative interpretation. *Science* 180:1199-1201.
- Gold PE, King RA (1974). Retrograde amnesia: storage failure versus retrieval failure. *Psychol Rev* 81:465-469.
- Gold PE, Sternberg DB (1978). Retrograde amnesia produced by several treatments: evidence for a common neurobiological mechanism. *Science* 201:367-369.
- Gruart A, Munoz MD, Delgado-Garcia JM (2006). Involvement of the CA3-CA1 synapse in the acquisition of associative learning in behaving mice. *J Neurosci* 26:1077-1087.

- Hebb DO (1949). *The Organization of Behavior: A Neuropsychological Theory*. New York: Wiley.
- Hinderliter CF, Webster T, Riccio DC (1975). Amnesia induced by hypothermia as a function of treatment-test interval and recooling in rats. *Anim Learn Behav* 3:257-263.
- Hopfield JJ (1982). Neural networks and physical systems with emergent collective computational abilities. *Proc Natl Acad Sci USA* 79:2554-2558.
- Hopfield JJ (1984). Neurons with graded response have collective computational properties like those of two-state neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 81:3088-3092.
- Igaz LM, Bekinschtein P, Vianna MM, Izquierdo I, Medina JH (2004). Gene expression during memory formation. *Neurotox Res*; 6:189-204.
- Izquierdo I, Barros DM, Mello e Souza T, de Souza MM, Izquierdo LA, Medina JH (1998). Mechanisms for memory types differ. *Nature* 393:635-636.
- Izquierdo I, Bevilaqua LRM, Rossato JI, Bonini JS, Medina JH, Cammarota M (2006). Different molecular cascades in different sites of the brain control memory consolidation. *Trends Neurosci* 29:496-505.
- Izquierdo I, da Cunha C, Rosat R, Jerusalinsky D, Ferreira MB, Medina JH (1992). Neurotransmitter receptors involved in post-training memory processing by the amygdala, medial septum, and hippocampus of the rat. *Behav Neural Biol* 58:16-26.
- Izquierdo I, Medina JH (1995). Correlation between the pharmacology of long-term potentiation and the pharmacology of memory. *Neurobiol Learn Mem* 63:19-32.
- Izquierdo I, Medina JH (1997). Memory formation: the sequence of biochemical events in the hippocampus and its connection to activity in other brain structures. *Neurobiol Learn Mem* 68:285-316.

- Izquierdo I, Medina JH, Vianna MRM, Izquierdo LA, Barros DM (1999a). Separate mechanisms for short- and long-term memory. *Behav Brain Res* 103:1-11.
- Izquierdo I, Schroder N, Netto CA, Medina JH (1999b). Novelty causes time-dependent retrograde amnesia for one-trial avoidance in rats through NMDA receptor- and CaMKII-dependent mechanisms in the hippocampus. *Eur J Neurosci* 11:3323-3328.
- James W (1890). *The Principles of Psychology*. New York: Holt.
- Judge ME, Quartermain D (1982). Characteristics of retrograde amnesia following reactivation of memory in mice. *Physiol Behav* 28:585-590.
- Lattal KM, Abel T (2004). Behavioral impairments caused by injections of the protein synthesis inhibitor anisomycin after contextual retrieval reverse with time. *Proc Natl Acad Sci USA* 101:4667-4672.
- Lee JL, Everitt BJ, Thomas KL (2004). Independent cellular processes for hippocampal memory consolidation and reconsolidation. *Science* 304:839-843.
- Lewis DJ, Misanin JR, Miller RR (1968). The recovery of memory following amnestic treatment. *Nature* 220:704–705.
- Liao D, Hessler NA, Malinow R (1995). Activation of postsynaptically silent synapses during pairing-induced LTP in CA1 region of hippocampal slice. *Nature* 375:400-404.
- Lin L, Osan R, Shoham S, Jin W, Zuo W, Tsien JZ (2005). Identification of network-level coding units for real-time representation of episodic experiences in the hippocampus. *Proc Natl Acad Sci USA* 102:6125-6130.
- Lisman JE, Otmakhova NA (2001). Storage, recall, and novelty detection of sequences by the hippocampus: Elaborating on the SOCRATIC model to account for normal and aberrant effects of dopamine. *Hippocampus* 11:551-568.

- Litvin OO, Anokhin KV (2000). Mechanisms of memory reorganization during retrieval of acquired behavioral experience in chicks: the effects of protein synthesis inhibition in the brain. *Neurosci Behav Physiol* 30:671-678.
- Louie K, Wilson MA (2001). Temporally structured replay of awake hippocampal ensemble activity during rapid eye movement sleep. *Neuron* 29:145-156.
- Luft T, Amaral OB, Schwartsmann G, Roesler R (2007). Transient disruption of fear-related memory by post-retrieval inactivation of gastrin-releasing peptide or N-methyl-D-aspartate receptors in the hippocampus. *Curr Neurovasc Res*, no prelo.
- Mactutus CF, Riccio DC, Ferek JM (1979). Retrograde amnesia for old (reactivated) memory: some anomalous characteristics. *Science* 204:1319-1320.
- Marr D (1971). Simple memory: a theory for archicortex. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 262:23-81.
- Martin SJ, Grimwood PD, Morris RGM (2000). Synaptic plasticity and memory: an evaluation of the hypothesis. *Annu Rev Neurosci* 23:649-711.
- McClelland JL, McNaughton BL, O'Reilly RC (1995). Why there are complementary learning systems in the hippocampus and neocortex: insights from the successes and failures of connectionist models of learning and memory. *Psychol Rev* 102:419-457.
- McGaugh JL (1966). Time-dependent processes in memory storage. *Science* 153:1351-1358.
- McGaugh JL (2000). Memory - a century of consolidation. *Science* 287:248-251.
- Milekic MH, Alberini CM (2002). Temporally graded requirement for protein synthesis following memory reactivation. *Neuron* 36:521-525.

- Milekic MH, Brown SD, Castellini C, Alberini CM (2006). Persistent disruption of an established morphine conditioned place preference. *J Neurosci* 26:3010-3020.
- Miller RR, Kraus JN (1977). Somatic and autonomic indexes of recovery from electroconvulsive shock-induced amnesia in rats. *J Comp Physiol Psychol* 91:432-434.
- Miller RR, Matzel LD (2000). Memory involves far more than consolidation. *Nat Rev Neurosci* 1:214-216.
- Miller RR, Matzel LD (2006). Retrieval failure versus memory loss in experimental amnesia: Definitions and processes. *Learn Mem* 13:491-497.
- Miller RR, Springer AD (1973). Amnesia, consolidation and retrieval. *Psychol Rev* 80:69-79.
- Millin PM, Moody EW, Riccio DC (2001). Interpretations of retrograde amnesia: old problems redux. *Nat Rev Neurosci* 2:68-70.
- Misanin JR, Miller RR, Lewis DJ (1968). Retrograde amnesia produced by electroconvulsive shock after reactivation of a consolidated memory trace. *Science* 160:554-555.
- Morris R (1984). Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J Neurosci Methods* 11:47-60.
- Morris RGM (2006). Elements of a neurobiological theory of hippocampal function: the role of synaptic plasticity, synaptic tagging and schemas. *Eur J Neurosci* 23:2829-2846.
- Morris RGM, Inglis J, Ainge JA, Olverman HJ, Tulloch J, Dudai Y, Kelly PAT (2006). Memory reconsolidation: sensitivity of spatial memory to inhibition of protein synthesis in dorsal hippocampus during encoding and retrieval. *Neuron* 50:479-489.

- Muller GE, Pilzecker A (1900). Experimentelle Beiträge zur Lehre vom Gedächtnis. *Z Psychol Ergänzungsband* 1:1-300.
- Nadel L, Moscovitch M (1997). Memory consolidation, retrograde amnesia and the hippocampal complex. *Curr Opin Neurobiol* 7:217-227.
- Nader K (2007). A single standard for memory; the case for reconsolidation. *Debates Neurosci* 1:2-16.
- Nader K, Schafe G, LeDoux JE (2000a). The labile nature of consolidation theory. *Nat Rev Neurosci* 1:216-219.
- Nader K, Schafe GE, Le Doux JE (2000b). Fear memories require protein synthesis in the amygdala for reconsolidation after retrieval. *Nature* 406:722-726.
- Nader K, Wang S-H (2006). Fading in. *Learn Mem* 13:530-535.
- Netto CA, Oliveira CB, Gianlupi A, Quillfeldt J, Izquierdo I (1987). Pre-test administration of beta-endorphin, or of electroconvulsive shock reverses the memory disruptive effect of posttraining electroconvulsive shock. *Peptides* 8; 605-608.
- O'Reilly RC, Rudy JW (2000). Computational principles of learning in the neocortex and hippocampus. *Hippocampus* 10:389-397.
- Pastalkova E, Serrano P, Pinkhasova D, Wallace E, Fenton AA, Sacktor TC (2006). Storage of spatial information by the maintenance mechanism of LTP. *Science* 313:1141-1144.
- Pavlidis C, Winson J (1989). Influences of hippocampal place cell firing in the awake state on the activity of these cells during subsequent sleep episodes. *J Neurosci* 9:2907-2918.
- Pavlov IP (1927). *Conditioned reflexes: an investigation of the physiological activity of the cerebral cortex*. London: Oxford University Press.

- Pedreira ME, Maldonado H (2003). Protein synthesis subserves reconsolidation or extinction depending on reminder duration. *Neuron* 38:863-869.
- Pedreira ME, Perez-Cuesta LM, Maldonado H (2004). Mismatch between what is expected and what actually occurs triggers memory reconsolidation or extinction. *Learn Mem* 11:579-585.
- Power AE, Berlau DJ, McGaugh JL, Steward O (2006). Anisomycin infused into the hippocampus fails to block 'reconsolidation' but impairs extinction: the role of re-exposure duration. *Learn Mem* 13:27-34.
- Prado-Alcalá RA, Díaz del Guante MA, Garín-Aguilar ME, Díaz-Trujillo A, Quirarte GL, McGaugh JL (2006). Amygdala or hippocampus inactivation after retrieval induces temporary memory deficit. *Neurobiol Learn Mem* 86:144-149.
- Przybylski J, Roulet P, Sara SJ (1999). Attenuation of emotional and nonemotional memories after their reactivation: role of beta adrenergic receptors. *J Neurosci* 19:6623-6628.
- Quartermain D, McEwen BS (1970). Temporal characteristics of amnesia induced by protein synthesis inhibitor: determination by shock level. *Nature* 228:677-678.
- Quartermain D, McEwen BS, Azmitia EC (1970). Amnesia produced by electroconvulsive shock or cycloheximide: conditions for recovery. *Science* 169:683-686.
- Quevedo J, Vianna MRM, Roesler R, de-Paris F, Izquierdo I, Rose SPR (1999). Two time windows of anisomycin-induced amnesia for inhibitory avoidance training in rats: protection from amnesia by pretraining but not pre-exposure to the task apparatus. *Learn Mem* 6:600-607.
- Quintilianus (Século I, D.C.). *Institutio Oratoria*. London: Loeb Classical Library.

- Reid CA, Dixon DB, Takahashi M, Bliss TVP, Fine A (2004). Optical quantal analysis indicates that long-term potentiation at single hippocampal mossy fiber synapses is expressed through increased release probability, recruitment of new release sites, and activation of silent synapses. *J Neurosci* 24:3618-3626.
- Rempel-Clower NL, Zola SM, Squire LR, Amaral DG (1996). Three cases of enduring memory impairment after bilateral damage limited to the hippocampal formation. *J Neurosci* 16:5233-5255.
- Ribeiro S, Gervasoni D, Soares ES, Zhou Y, Lin SC, Pantoja J, Lavine M, Nicolelis MA (2004). Long-lasting novelty-induced neuronal reverberation during slow-wave sleep in multiple forebrain areas. *PLoS Biol* 2:e24.
- Ribeiro S, Nicolelis MAL (2004). Reverberation, storage, and postsynaptic propagation of memories during sleep. *Learn Mem* 11:686-696.
- Riccio DC, Millin PM, Bogart AR (2006). Reconsolidation: A brief history, a retrieval view, and some recent issues. *Learn Mem* 13:536-544.
- Riedel G, Micheau J (1999). Introduction: molecular mechanisms of memory formation - from receptor activation to synaptic changes. *Cell Mol Life Sci* 55:521-524.
- Riedel G, Micheau J, Lam AG, Roloff EL, Martin SJ, Bridge H, de Hoz L, Poeschel B, McCulloch J, Morris RG (1999). Reversible neural inactivation reveals hippocampal participation in several memory processes. *Nat Neurosci* 2:898-905.
- Rolls ET, Kesner RP (2006). A computational theory of hippocampal function, and empirical tests of the theory. *Prog Neurobiol* 79:1-48.
- Rose SPR (2000). God's organism? The chick as a model system for memory studies. *Learn Mem* 7:1-17.

- Ross RS, Eichenbaum H (2006). Dynamics of hippocampal and cortical activation during consolidation of a nonspatial memory. *J Neurosci* 26:4852-4859.
- Rossato JI, Bevilaqua LR, Medina JH, Izquierdo I, Cammarota M (2006). Retrieval induces hippocampal-dependent reconsolidation of spatial memory. *Learn Mem* 13:431-440.
- Rossato JI, Bevilaqua LR, Myskiw JC, Medina JH, Izquierdo I, Cammarota M (2007). On the role of hippocampal protein synthesis in the consolidation and reconsolidation of object recognition memory. *Learn Mem* 14:36-46.
- Salinska E, Bourne RC, Rose SPR (2004). Reminder effects: the molecular cascade following a reminder in young chicks does not recapitulate that following training on a passive avoidance task. *Eur J Neurosci* 19:3042-3047.
- Schneider AM, Sherman W (1968). Amnesia: a function of the temporal relation of footshock to electroconvulsive shock. *Science* 159:219-221.
- Schuman EM, Dynes JL, Steward O (2006). Synaptic regulation of translation of dendritic mRNAs. *J Neurosci* 26:7143-7146.
- Serota RG (1971). Acetoxycycloheximide and transient amnesia in the rat. *Proc Natl Acad Sci USA* 68:1249-1250.
- Shema R, Sacktor TC, Dudai Y (2007). Rapid erasure of long-term memory associations in the cortex by an inhibitor of PKM zeta. *Science* 317:951-953.
- Shimizu E, Tang YP, Rampon C, Tsien JZ (2000). NMDA receptor-dependent synaptic reinforcement as a crucial process for memory consolidation. *Science* 290:1170-1174.
- Silva AJ, Kogan JH, Frankland PW, Kida S (1998). CREB and memory. *Annu Rev Neurosci* 21:127-148.

- Soderling TR, Derkach VA (2000). Postsynaptic protein phosphorylation and LTP. *Trends Neurosci* 23:75-80.
- Squire LR (1979). Cerebral protein synthesis inhibition and discrimination training; effects of D-amphetamine. *Brain Res* 177:401-406.
- Squire LR (2006). Lost forever or temporarily misplaced? The long debate about the nature of memory impairment. *Learn Mem* 13:522-529.
- Squire LR, Alvarez P (1995). Retrograde amnesia and memory consolidation: a neurobiological perspective. *Curr Opin Neurobiol* 5:169-177.
- Squire LR, Barondes SH (1972). Variable decay of memory and its recovery in cycloheximide-treated mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 69:1416-1420.
- Squire LR, Stark, CE, Clark RE (2004). The medial temporal lobe. *Annu Rev Neurosci* 27:279-306.
- Suzuki A, Josselyn SA, Frankland PW, Masushige S, Silva AJ, Kida S (2004). Memory reconsolidation and extinction have distinct temporal and biochemical signatures. *J Neurosci* 24:4787-4795.
- Szapiro G, Vianna MRM, McGaugh JL, Medina JH, Izquierdo I (2003). The role of NMDA glutamate receptors, PKA, MAPK, and CAMKII in the hippocampus in extinction of conditioned fear. *Hippocampus* 13:53-58.
- Taubenfeld SM, Milekic MH, Monti B, Alberini CM (2001). The consolidation of new but not reactivated memory requires hippocampal C/EBP beta. *Nat Neurosci* 4:813-818.
- Teyler TJ, DiScenna P (1986). The hippocampal memory indexing theory. *Behav Neurosci* 100: 147-154.
- Teyler TJ, Rudy JW (2007). The hippocampal indexing theory and episodic memory: Updating the index. *Hippocampus*, Epub ahead of print.

- Tronel S, Alberini CM (2007). Persistent disruption of a traumatic memory by postretrieval inactivation of glucocorticoid receptors in the amygdala. *Biol Psychiatry* 62:33-39.
- Tronel S, Milekic MH, Alberini CM (2005). Linking new information to a reactivated memory requires consolidation and not reconsolidation mechanisms. *PLoS Biol.* 3:e293.
- Tronson NC, Taylor JR (2007). Molecular mechanisms of memory reconsolidation. *Nat Rev Neurosci* 8:262-275.
- Vianna MRM, Szapiro G, McGaugh JL, Medina JH, Izquierdo I (2001). Retrieval of memory for fear-motivated training initiates extinction requiring protein synthesis in the rat hippocampus. *Proc Natl Acad Sci USA* 98:12251-12254.
- Wang H, Shimizu E, Tang YP, Cho M, Kyin M, Zuo W, Robinson DA, Alaimo PJ, Zhang C, Morimoto H and others (2003). Inducible protein knockout reveals temporal requirement of CaMKII reactivation for memory consolidation in the brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 100:4287-4292.
- Whitlock JR, Heynen AJ, Shuler MG, Bear MF (2006). Learning induces long-term potentiation in the hippocampus. *Science* 313:1093-1097.
- Wilson MA, McNaughton BL (1994). Reactivation of hippocampal ensemble memories during sleep. *Science* 265:676-679.
- Wiltgen BJ, Brown RAM, Talton LE, Silva AJ (2004). New circuits for old memories: the role of the neocortex in consolidation. *Neuron* 44:101-108.
- Winocur G (1990). Anterograde and retrograde amnesia in rats with dorsal hippocampal or dorsomedial thalamic lesions. *Behav Brain Res* 38:145-154.
- Wittenberg GM, Sullivan MR, Tsien JZ (2002). Synaptic reentry reinforcement based network model for long-term memory consolidation. *Hippocampus* 12:637-647.

- Wittenberg GM, Tsien JZ (2002). An emerging molecular and cellular framework for memory processing by the hippocampus. *Trends Neurosci* 25:501-505.
- Zarrindast MR, Bakhsha A, Rostami P, Shafaghi B (2002). Effects of intrahippocampal injection of GABAergic drugs on memory retention of passive avoidance learning in rats. *J Psychopharmacol* 16:313-319.
- Zinkin S, Miller AJ (1967). Recovery of memory after amnesia induced by electroconvulsive shock. *Science* 155:102-104.

APÊNDICE

Produção científica durante o doutoramento (2003-2007)

Artigos Publicados

1. Bruno AN, Oses JP, Amaral O, Coitinho A, Bonan CD, Battastini AM, Sarkis JJ (2003). Changes in nucleotide hydrolysis in rat blood serum induced by pentylenetetrazol-kindling. *Brain Res Mol Brain Res* 114:140-5.
2. Schmidt AP, Tort AB, Amaral OB, Schmidt AP, Walz R, Vettorazzi-Stuckzynski J, Martins-Costa SH, Ramos JG, Souza DO, Portela LV (2004). Serum S100B in pregnancy-related hypertensive disorders: a case-control study. *Clin Chem* 50:435-8.
3. Nico PB, de-Paris F, Vinade ER, Amaral OB, Rockenbach I, Soares BL, Guarnieri R, Wichert-Ana L, Calvo F, Walz R, Izquierdo I, Sakamoto AC, Brentani R, Martins VR, Bianchin MM (2005). Altered behavioural response to acute stress in mice lacking cellular prion protein. *Behav Brain Res* 162:173-81.
4. Schestatsky P, Chedid MF, Amaral OB, Unis G, Oliveira FM, Severo LC (2006). Isolated central nervous system histoplasmosis in immunocompetent hosts: a series of 11 cases. *Scand J Infect Dis* 38:43-8.

5. Tort AB, Neto WP, Amaral OB, Kazlauckas V, Souza DO, Lara DR (2006). A simple webcam-based approach for the measurement of rodent locomotion and other behavioural parameters. *J Neurosci Methods* 157:91-7.
6. Barros D, Amaral OB, Izquierdo I, Geracitano L, do Carmo Bassols Raseira M, Henriques AT, Ramirez MR (2006). Behavioral and genoprotective effects of Vaccinium berries intake in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 84:229-34.
7. Amaral OB (2006). Defining disease in the information age. *PLoS Med* 3:e317.
8. Amaral OB (2007). Do biomarkers trump behavior? *Nat Med* 13:237.
9. Amaral OB, Luft T, Cammarota M, Izquierdo I, Roesler R (2007). Temporary inactivation of the dorsal hippocampus induces a transient impairment in retrieval of aversive memory. *Behav Brain Res* 180:113-8.
10. Amaral OB (2007). Psychiatric disorders as social constructions: ADHD as a case in point. *Am J Psychiatry* 2007; 164:1612.
11. Amaral OB, Vargas RS, Hansel G, Izquierdo I, Souza DO (2007). Duration of environmental enrichment influences the magnitude and persistence of its behavioral effects on mice. *Physiol Behav*, Epub ahead of print.

Artigos no Prelo

1. Luft T, Amaral OB, Schwartzmann G, Roesler R (2007). Transient disruption of fear-related memory by post-retrieval inactivation of gastrin-releasing peptide or N-methyl-D-aspartate receptors in the hippocampus. *Curr Neurovasc Res*, no prelo.

Artigos submetidos

1. Amaral OB, Osan R, Roesler R, Tort ABL (2007). Memory reconsolidation and transient amnesia: a model integrating systems consolidation, synaptic reinforcement and multiple memory traces. *Hippocampus*, submetido.