



---

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE PSICOLOGÍA**

“Estudio de la actividad de los receptores dopaminérgicos en la corteza perirrinal y el hipocampo en la formación de la memoria de reconocimiento”

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

LICENCIADA EN PSICOLOGÍA

PRESENTA:

**ANA KARINA URIBE RÁBAGO**

DIRECTORA DE TESIS: DRA. ARIANA ISRAELA BALDERAS MORENO

REVISORA DE TESIS: DRA. ALEJANDRA E. RUIZ CONTRERAS



Cd. Universitaria, D. F. 2015



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se realizó en el laboratorio de Neurobiología del Aprendizaje y la Memoria, en el Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México a cargo del Dr. Federico Bermúdez Rattoni bajo la dirección de la Dra. Israela Balderas Moreno. Con el apoyo económico del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología 155242 y de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico UNAM IN209413.

Agradezco a la Técnica Académica Q.F.B. Perla Moreno Castilla por el apoyo recibido durante la realización de este proyecto.

¡GRACIAS!

En primer lugar a la Universidad Nacional Autónoma de México por ser siempre motivo de orgullo y soporte de sueños de miles de universitarios, incluyendo los míos.

Al Instituto de Fisiología Celular División de Neurociencias por abrirme las puertas y permitirme llevar a cabo este proyecto, en particular al laboratorio de Neurobiología del Aprendizaje y la Memoria a cargo del Dr. Bermúdez Rattoni.

A mis compañeros, amigos y colegas: Analí Díaz y Daniel Ortega por ayudarme a llevar a cabo todos y cada uno de los experimentos de esta tesis de principio a fin, sin ellos no habría podido concretar este trabajo, muchas gracias por su tiempo y dedicación.

A la Dra. Israela Balderas por la dedicación y el tiempo prestados para la realización de esta tesis.

A la Dra. Alejandra Ruiz por el tiempo tomado para revisar este trabajo.

A los sinodales: Dr. Vladimir, Dra. Martha y Dr. Hugo por sus múltiples y acertados comentarios para el mejoramiento de esta tesis.

Y por supuesto a esos seres que sin saberlo, donan su vida a la ciencia: los animales de laboratorio.

## DEDICATORIA:

Mamá, Papá: este logro no es mío, es de ustedes. Sin su apoyo no habría llegado tan lejos. La licenciada no soy yo, son ustedes cuatro veces, felicidades por sus cuatro hijos profesionistas.

Tía Martha: muchas gracias por todo tu apoyo y tus consejos, gracias por ser un ejemplo a seguir y gracias a la vida que sin pedirlo me dio una segunda madre: Tú.

Alan, Edgar y Ramón: por ser siempre un ejemplo a seguir, por su apoyo en los buenos y malos momentos, por sus consejos y por nunca dejar que me rinda.

Leonardo, Mir y Diego: porque a pesar de que ha sido poco el tiempo juntos, sus pequeñas sonrisas llenan de alegría mi corazón ¡son los mejores sobrinos del mundo!

Isaías: gracias por la compañía y apoyo durante la realización de esta tesis y de toda la carrera, por todos esos días que has sabido dibujar una sonrisa en mis labios. Han sido muchos los días y los momentos juntos, ¡anhelo que la vida nos permita disfrutar de más triunfos juntos! Te amo.

Bren, Ale, Gaby, Nats, Nataly, Brianda: estos años de amistad me han demostrado que no hay obstáculo que una verdadera amistad no pueda vencer. Gracias por estar siempre ahí, en las buenas y en las malas. Estoy segura de que nos esperan muchos años más de amistad.

Analí, Sandra, Malinalli, Rox: gracias por todos los días que compartimos en la facultad llenos de sueños y anhelos.

A todos mis primos y tíos que son tantos que no terminaría de mencionarlos.

Josh, Irina, Juan Carlos, Majo, Ana, Katia: por acompañarme en este nuevo camino de la química.

En ningún idioma existirán las palabras que logren explicar lo que todas estas personas significan para mí, ningún lenguaje será suficiente para agradecer su apoyo y ayuda durante la realización de esta tesis y cada etapa de mi vida, mucho tiempo, poco tiempo, no importa, sin ustedes este proyecto de vida no sería lo que es ahora. Muchas gracias a todos por sus consejos, tiempo y amistad.

“Somos nuestra memoria,  
somos ese quimérico museo de formas inconstantes,  
ese montón de espejos rotos”

Borges

“Aunque nada pueda hacer  
volver la hora del esplendor en la hierba,  
de la gloria en las flores,  
no debemos afligirnos  
porque la belleza subsiste siempre en el recuerdo”

Wordsworth

## **ABREVIATURAS**

<b>LTP</b>	Potenciación a largo plazo
<b>MCP</b>	Memoria a corto plazo
<b>MLP</b>	Memoria a largo plazo
<b>AMPc</b>	Adenosín monofosfato cíclico
<b>PKA</b>	Proteína cinasa A
<b>MAPK</b>	Proteína cinasa activada por mitógeno
<b>CREB</b>	Proteína ligadora de respuesta al AMPc
<b>RNA</b>	Ácido ribonucleico
<b>RNAm</b>	Ácido ribonucleico mensajero
<b>PER</b>	Corteza perirrinal
<b>HIP</b>	Hipocampo
<b>VEH</b>	Solución vehículo
<b>DMSO</b>	Dimetil sulfóxido

1 RESUMEN	8
2 INTRODUCCIÓN	9
2.1 MEMORIA	9
2.1.1 Memoria de Reconocimiento	11
2.1.2 Estructuras cerebrales implicadas en el reconocimiento de objetos	14
2.2 DOPAMINA	18
2.2.1 Vías Dopaminérgicas	19
2.2.2 Familia D1	19
2.2.3 Familia D2	20
2.3 DOPAMINA Y MEMORIA	21
2.3.1 Dopamina y reconocimiento de objetos	22
3 JUSTIFICACIÓN	26
4 OBJETIVO	26
5 HIPÓTESIS	26
6 MATERIALES Y MÉTODOS	27
6.1 SUJETOS	27
6.2 CIRUGÍA Y MICRO-INYECCIÓN	27
6.3 FÁRMACOS	28
6.4 APARATOS	28
6.5 PROCEDIMIENTOS CONDUCTUALES	29
6.6 HISTOLOGÍA	32
6.7 ANÁLISIS DE DATOS	33
7 RESULTADOS	33
8 DISCUSIÓN	37
10 REFERENCIAS	42

## 1 RESUMEN

La memoria episódica es el recuerdo del ¿qué?, ¿dónde? y ¿cuándo? ocurrió cierto hecho de la experiencia, dentro de esta memoria se encuentra la memoria de reconocimiento, que consiste en evaluar si se ha tenido contacto con un estímulo previamente. Mediante diversas técnicas se ha descubierto que las estructuras cerebrales implicadas en el reconocimiento son el hipocampo y la corteza perirrinal; sin embargo, poco se conoce acerca de los neurotransmisores que modulan la formación de esta memoria. Estudios previos en nuestro laboratorio muestran que al inyectar antagonistas dopaminérgicos D1 en hipocampo y en corteza perirrinal la memoria de los animales no presenta alguna diferencia con respecto a las inyectadas con solución salina al hacer la prueba de corto plazo (90 minutos). Sin embargo, las ratas inyectadas con el antagonista del receptor D1 en la corteza perirrinal, muestran un déficit significativo en la memoria comparadas con las ratas control en la prueba a largo plazo (24 horas), mientras que en el hipocampo no se observó ninguna diferencia, debido a estos datos previos de nuestro laboratorio y a que varios autores hacen referencia a la importancia de los receptores dopaminérgicos D1 en la memoria de reconocimiento, el objetivo de la presente investigación fue determinar si la inyección de un agonista de receptores dopaminérgicos D1 (SKF-38393) en la corteza perirrinal y el hipocampo mejora la memoria de reconocimiento de objetos en las ratas, tanto a corto como a largo plazo. Los resultados de la investigación indican que la activación del receptor dopaminérgico D1 por el agonista SKF38393 en la corteza perirrinal o en el hipocampo no modifican la memoria de reconocimiento de objetos en intervalos de tiempo cortos (90 minutos) pero sí en la corteza perirrinal en intervalos de tiempo largos (24 horas). Estudios de otros autores han demostrado que la actividad de los receptores D1 (pero no D2) está involucrada en los eventos finales de la fase de potenciación a largo plazo (LTP) relacionados con la consolidación de la memoria, lo que sugiere que la actividad del receptor D1 puede estar implicada en la fase tardía de la síntesis de proteínas, uno de los principales mecanismos de almacenamiento de memoria a largo plazo.

## **2 INTRODUCCIÓN**

El aprendizaje es el fenómeno neurobiológico por el cual adquirimos determinada información, mediante este proceso obtenemos el conocimiento sobre el mundo, para que se dé este fenómeno son esenciales atención y otros procesos cognoscitivos; por otra parte, la memoria es el proceso por el cual la información adquirida se convierte en conocimiento que guardamos para utilizarlo posteriormente cuando sea necesario (Solis y López-Hernández, 2009).

Las modificaciones en el comportamiento debidas al aprendizaje del individuo se basan en situaciones del pasado para permitir respuestas más adaptadas a la realidad actual permitiendo una mayor posibilidad de sobrevivencia (Akirav y Maroun, 2006).

### **2.1 MEMORIA**

La memoria puede categorizarse de acuerdo con el tiempo durante el cual es efectiva, esto es, en memoria a corto plazo (MCP) y memoria a largo plazo (MLP) (Kandel, 2001). La memoria a corto plazo implica la retención de la información reciente y se almacena una cantidad limitada de información que está disponible sólo durante unos segundos o minutos luego de transcurrido el aprendizaje (Baddeley y Hitch, 1974). La memoria a corto plazo se convierte en memoria a largo plazo mediante un proceso conocido como consolidación, la memoria a largo plazo implica la retención de la información durante días, semanas o incluso toda la vida (Purves y otros, 2008).

Dentro de la memoria a largo plazo se encuentra una subdivisión conforme a la naturaleza de lo que se recuerda: memoria implícita y memoria explícita (Solis y López-Hernández, 2009). La memoria implícita es la base de los cambios en el

comportamiento (no debidos al consumo de drogas o enfermedades) y la capacidad de responder a los estímulos a través de la práctica (Milner, Squire, y Kandel, 1998). Se deriva de tipos de aprendizaje como la habituación, la sensibilización, el aprendizaje motor y los distintos tipos de condicionamientos (Solis y López-Hernández, 2009). El almacenamiento a largo plazo de la memoria implícita depende de la vía AMPc-PKA-MAPK-CREB. Se ha definido que cuando ocurre una aplicación repetida de serotonina, que activa la subunidad catalítica de PKA, la cual recluta otra cinasa segunda mensajera, la proteína cinasa activada por mitógeno (MAPK), una cinasa que frecuentemente se asocia al crecimiento celular. Ambas cinasas son translocadas al núcleo de la neurona. Ahí la subunidad catalítica activa un interruptor genético, el CREB-1 (proteína ligadora del elemento de respuesta al AMPc). Este factor de transcripción, cuando es fosforilado, se une a un elemento promotor denominado CRE (elemento de respuesta al AMPc). Por medio de la MAPK, la subunidad catalítica de PKA actúa también de forma indirecta contrarrestando las acciones inhibitoras de CREB-2, un represor de la transcripción. La supresión de la acción inhibitora de CREB-2 y la activación de CREB-1 inducen la expresión de dos genes: la enzima ubiquitina hidrolasa que activa el proteosoma para activar PKA persistentemente, y el factor de transcripción C/EBP, uno de los componentes de la cascada génica necesaria para el crecimiento de nuevas unidades sinápticas (Kandel, 2001).

En contraste, la memoria explícita almacena conocimientos, permite recordar acontecimientos, números, hechos (Carrillo-Mora, 2010). El psicólogo Endel Tulving fue el primero en clasificar la memoria explícita en episódica o autobiográfica para

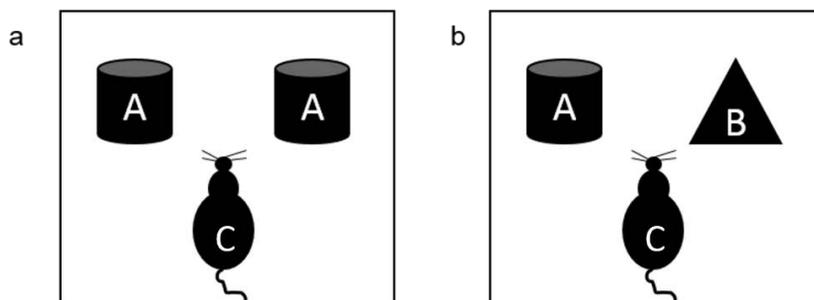
los acontecimientos y la experiencia personal y en semántica para los hechos, el conocimiento objetivo, el tipo de conocimiento que adquirimos en el colegio y los libros (Buffalo, Bellgowan, y Martin, 2006). Este tipo de memoria depende en su totalidad de estructuras del lóbulo temporal medial (Milner y otros, 1998) por ejemplo: el hipocampo y la corteza perirrinal (Bear, Connors, y Paradiso, 2008).

Existe la hipótesis de que el almacenamiento de la memoria explícita se realiza mediante la potenciación a largo plazo (LTP) en el hipocampo (Runyan y Dash, 2004). La LTP tiene dos fases: 1. LTP temprana o LTP precoz que dura de 1 a 3 horas. No requiere síntesis de nuevas proteínas (Goelet, Castellucci, Schacher y Kandel, 1986). 2. LTP tardía que dura más de 4 horas. Requiere síntesis de novo de proteína y ARN (Goelet y otros, 1986). Esta fase tardía recluta la vía de transmisión de señales del AMPc-PKA-MAPK- CREB, la cual activa la expresión de un número de genes implicados en la activación persistente de PKA, y en el crecimiento de nuevas zonas de sinapsis (Kandel, 2001).

### 2.1.1 Memoria de Reconocimiento

Dentro de la clasificación de la memoria episódica se encuentra la memoria de reconocimiento la cual implica hacer juicios sobre si un estímulo se ha experimentado previamente. La memoria de reconocimiento no es un proceso unitario; se utilizan diferentes tipos de información para formar los juicios de ocurrencia anterior, como la familiaridad relativa de un estímulo que consiste simplemente en saber que un elemento ha sido encontrado previamente (Song, Jeneson, y Squire, 2011) y el recuerdo de la localización e información referente al

momento en el que se ha tenido contacto con el estímulo previamente (Barker y Warburton, 2011), el recuerdo involucra los detalles específicos del contexto acerca de un episodio de aprendizaje previo. Una manera de estudiar la memoria de reconocimiento en roedores es mediante la tarea de reconocimiento de objetos, la cual está basada en la tendencia natural que tienen los roedores para explorar más tiempo un objeto novedoso que uno familiar (Ennaceur y Delacour, 1988). La tarea de reconocimiento de objetos consiste en dos ensayos, en el primero las ratas son expuestas a dos objetos idénticos, en un segundo ensayo son expuestas a una copia del objeto presentado en el primer ensayo (familiar) y a un objeto nuevo, durante ambos ensayos se deja que las ratas exploren libremente cada uno de los objetos (figura 1 a y b) ambos ensayos son video grabados con el fin de medir el tiempo que exploran cada objeto, con esta información se calcula el índice de exploración (figura 1c). Estudios previos muestran que las ratas son capaces de discriminar entre los dos objetos en el segundo ensayo, por lo que pasan más tiempo explorando el objeto nuevo que el familiar (Ennaceur y Delacour, 1988). La importancia de la tarea de reconocimiento de objetos radica en se basa en el comportamiento espontáneo de las ratas estando completamente libre de reforzadores primarios, como los alimentos, y de castigos, como las descargas eléctricas; por lo tanto, se tiene a los animales bajo menores niveles de estrés, comparados con las tareas que sí requieren programas de condicionamiento (Ennaceur y Delacour, 1988).



c

$$\text{Índice de exploración} = \frac{A}{A + B} \quad \text{ó} \quad \frac{B}{A + B}$$

*Figura 1: Esquema representativo de la tarea llevada a cabo por las ratas (a,b). A objeto familiar, B objeto novedoso, C esquema de una rata, los vigotes apuntando hacia los objetos y la cola hacia la pared de la caja. En el primer ensayo (a) se le deja a la rata explorar libremente dos objetos iguales. En el segundo ensayo (b) la rata explora un objeto igual al del primer ensayo y uno distinto. (c) Fórmula para obtener el índice de exploración, A objeto familiar y B objeto novedoso (Uribe, 2014).*

En un intento por descifrar los mecanismos que subyacen a la memoria de reconocimiento, las investigaciones referentes al tema han llevado a una gran polémica acerca de los neurotransmisores involucrados y las estructuras en las cuales es llevado a cabo el proceso; algunos investigadores afirman que la familiaridad depende de la corteza perirrinal (Brown y Aggleton, 2001; Eichenbaum, Yonelinas y Ranganath, 2007). Mientras que otros se oponen y afirman que tanto la corteza, como el hipocampo están involucrados de manera conjunta en la familiaridad y el recuerdo (Myskiw, y otros, 2008; Wixted y Squire, 2011; Diana y Ranganath, 2011; Rossato, y otros, 2007; Squire, Wixted y Clark, 2007). En relación a los neurotransmisores, el camino no ha sido diferente, muchas investigaciones

han girado en torno a la importancia del glutamato e incluso de la dopamina (Guzmán-Ramos, Moreno-Castilla y Bermudez-Rattoni, 2010; Guzmán-Ramos y otros, 2012; Balderas, Morin, Rodriguez-Ortiz y Bermudez-Rattoni, 2012; Besheer, Jensen y Bevins, 1999); sin embargo, no se ha logrado llegar a una conclusión clara acerca de la relación entre las estructuras y los neurotransmisores. Esta investigación se enfocó en el estudio de las dos estructuras que investigaciones anteriores han concluido como importantes: el hipocampo y la corteza perirrinal (Brown y Aggleton, 2001; Smith, Wixted y Squire, 2011). En particular estudiamos el papel del sistema dopaminérgico, ya que estudios previos muestran que este neurotransmisor se encuentra estrechamente relacionado con la memoria de reconocimiento (Besheer y otros, 1999; De Lima y otros, 2011).

### 2.1.2 Estructuras cerebrales implicadas en el reconocimiento de objetos

Una de las maneras en que los científicos han podido explorar y describir la memoria han sido los efectos amnésicos de lobectomías temporales que constituyen una prueba sólida de la necesidad de las estructuras del lóbulo temporal medial para la formación de recuerdos declarativos (Milner, 2005).

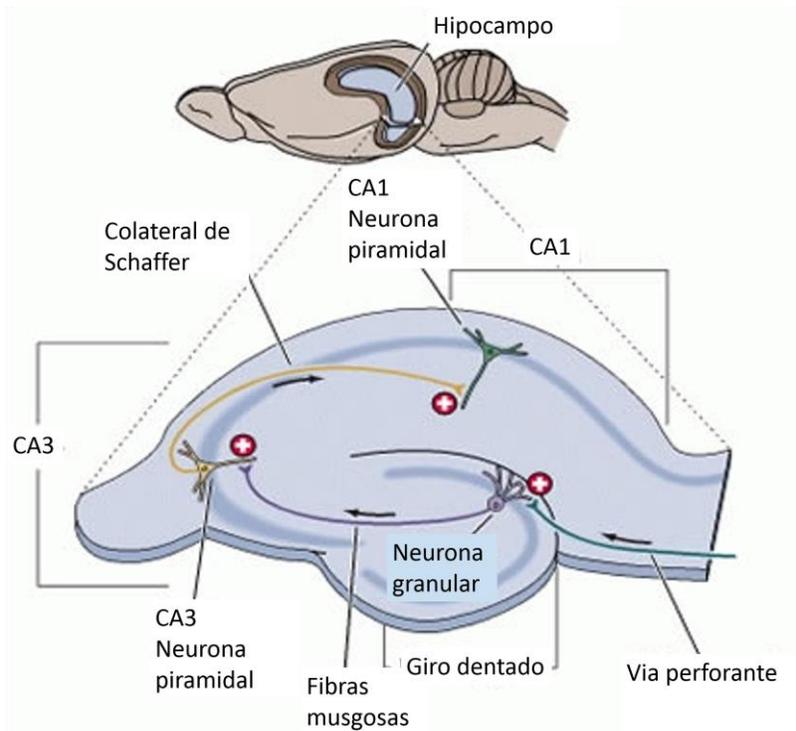
Como se mencionó anteriormente, muchos estudios han concluido que las principales estructuras involucradas en el reconocimiento de objetos son el hipocampo y la corteza perirrinal (Balderas y otros, 2008; Barker y Warburton, 2011; Bethus, Tse y Morris, 2010; Brown y Aggleton, 2001; Buffalo y otros, 2006; Mumby, Gaskin, Glenn, Schramek y Lehman 2002; Smith, Wixted y Squire, 2011; Song y otros, 2011; Squire y otros, 2007) por lo cual, el presente trabajo se enfoca en estas dos estructuras.

El hipocampo es una estructura subcortical localizada en el lóbulo temporal medial y forma parte del sistema límbico. Dentro del hipocampo se pueden distinguir dos regiones: Giro dentado: conformado en su mayoría por células granulares, Cuerno de Amón: formado por neuronas piramidales. Incluye las regiones CA1, CA2y CA3 (Brown y Aggleton, 2001; Buffalo y otros, 2006) (figura 2).

Las principales vías por las que recibe información el hipocampo son:

- De la corteza entorrinal a través de la vía perforante formando proyecciones corticohipocampales mediante aferencias glutamatérgicas que se distribuyen en mayor medida en el giro dentado y en el cuerno de Amon (Broadbent, Squire y Clark, 2004).
- El sistema de la fimbria-fórnix que provee al giro dentado y al cuerno de Amon de inervaciones principalmente dopaminérgicas, noradrenérgicas, adrenérgicas y colinérgicas precedentes del septum y los núcleos de la formación reticular (Broadbent y otros, 2004).

La corteza perirrinal es una estructura subcortical situada en el lóbulo temporal medial (figura 3). Recibe información sensorial procesada de todas las regiones sensoriales y juega un papel importante en la memoria de reconocimiento (Bear y otros, 2008). Está rodeada por las cortezas parahipocampal y entorrinal. Se han descrito aferencias hacia la corteza orbitofrontal y prefrontal medial, así como a diversas estructuras subcorticales como los ganglios basales, el tálamo, el cerebro medio y la amígdala. Así mismo, tiene conexiones directas con la región CA1 del hipocampo (Bear y otros, 2008) (figura 2).

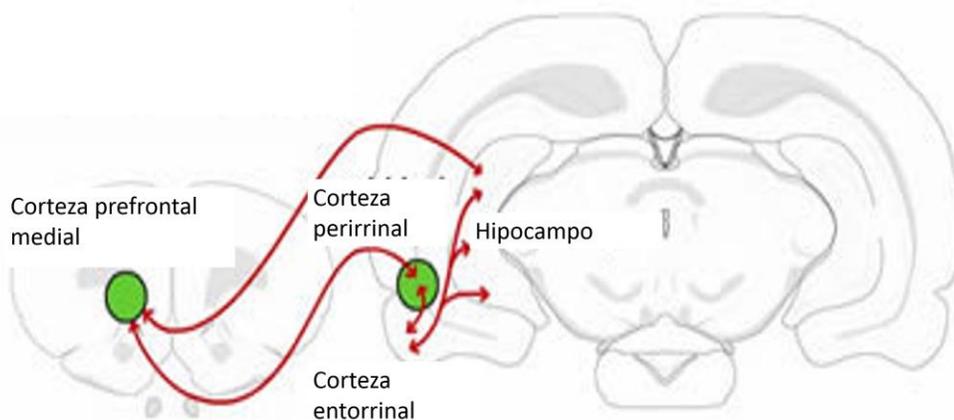


*Figura 2: En la imagen se observan las principales estructuras del hipocampo del cerebro de ratona (modificado de Neuroscience News, 2014).*

Con el objeto de analizar las estructuras de almacenamiento de los distintos tipos de memoria, Broadbent y otros (2004) examinaron la relación entre el tamaño de una lesión del hipocampo con la memoria espacial (memoria del entorno en el que se encuentra el sujeto) y la memoria de reconocimiento de objetos en ratas. La memoria espacial fue afectada después de lesiones bilaterales del hipocampo dorsal que abarcaban del 30 al 50% del volumen total. Por el contrario, el reconocimiento de objetos sólo se afectó después de las lesiones que abarcaban 75-100% del volumen del hipocampo (Broadbent y otros, 2004). En resumen, las lesiones del hipocampo que abarcaban del 30 al 50% del total del volumen del hipocampo deterioraron el rendimiento de la memoria espacial pero no afectaron la

memoria de reconocimiento de objetos (Broadbent y otros, 2004). Estos hallazgos muestran que el hipocampo está más relacionado con el funcionamiento de la memoria espacial que con el funcionamiento de la memoria de reconocimiento (Broadbent y otros, 2004).

Para demostrar el papel de la corteza perirrinal en la memoria de reconocimiento, Winters y Bussey (2005) realizaron una serie de experimentos en los que inactivaron transitoriamente la corteza perirrinal mediante infusiones directas de lidocaína en diferentes momentos (inmediatamente, 20, 40, 60 y 80 minutos después de la muestra). En comparación con el rendimiento de los ensayos de los animales control, la memoria de reconocimiento de objetos de las ratas disminuyó significativamente cuando la lidocaína fue inyectada inmediatamente y 20 minutos después.



*Figura 3: Esquema que representa la localización de la corteza perirrinal en el cerebro de ratas (Modificado de University of Bistol, 2014).*

Las lesiones específicas del sistema nervioso permiten estudiar como las estructuras cerebrales están involucradas en la memoria, sin embargo, no nos brindan información acerca de los neurotransmisores involucrados en la tarea. En este caso, las lesiones en corteza perirrinal e hipocampo nos permiten saber que la corteza perirrinal desarrolla un papel importante en la familiaridad y el hipocampo en el recuerdo; sin embargo, no nos manifiestan información acerca de los neurotransmisores involucrados. Neurotransmisores como el glutamato y la acetilcolina han sido ampliamente restudiados y relacionados con la memoria (Balderas y otros, 2012; Berman, Hazvi, Rosenblum, Seger, y Dudai, 1998; Guzmán-Ramos y otros, 2010); sin embargo, estudios recientes muestran que la dopamina juega un papel importante en la memoria de reconocimiento de objetos (De Lima y otros, 2011; Guzmán-Ramos y otros, 2012; Xing, Guo, Meng, Wei, y Li, 2012; Da Silva, Kohler, Radiske, y Cammarota, 2012; De Lima y otros, 2011).

## **2.2 DOPAMINA**

La dopamina es el neurotransmisor catecolaminérgico más importante del sistema nervioso central (SNC) de los mamíferos y participa en la regulación de diversas funciones como la conducta motora, la emotividad y la afectividad. En el SNC de la rata existe un número importante de células dopaminérgicas, de 15,000 a 20,000 en una de las mitades del mesencéfalo, región donde se encuentran los grupos más importantes de ellas (Bahena-Trujillo, Flores y Arias-Montaño, 2000).

### 2.2.1 Vías Dopaminérgicas

El sistema dopaminérgico se subdivide en cuatro sistemas en el SNC: 1. Nigroestriado. Se origina en la sustancia negra y termina en los núcleos basales 2. Mesolímbico. Sus vías van del área tegmental ventral y se proyectan al núcleo accumbens y amígdala. 3. Mesocortical. Su vía también se origina en el área tegmental ventral y se proyecta hacia la corteza cerebral. 4. Tuberohipofisario. (Escobar, Pérez, Ramírez y Sansores, 2007).

En las terminales dopaminérgicas el neurotransmisor es sintetizado en el citoplasma de donde puede ser liberado directamente al espacio sináptico o bien ser transportada al interior de las vesículas sinápticas, para ser liberada por exocitosis (Bahena-Trujillo y otros, 2000).

La acción de la dopamina sobre las células blanco depende del tipo de receptor presente en ellas. Con base en sus características moleculares se han identificado cinco tipos de receptores dopaminérgicos, todos ellos acoplados a proteínas G y divididos en dos familias farmacológicas denominadas D1 y D2, todos los receptores dopaminérgicos poseen siete dominios transmembranales (Beaulieu y Gainetdinov, 2011).

### 2.2.2 Familia D1

La familia D1 está conformada por dos subtipos, denominados D1 y D5. El subtipo D1 es el receptor dopaminérgico más abundante en el SNC (Missale, Russel, Robinson, Jaber y Caron, 1998). La activación de los receptores D1 conduce a la activación de proteínas G con la consecuente producción del segundo mensajero

AMPC por estimulación de una o varias isoformas de la enzima adenilato ciclasa, localizada en la membrana celular (Cooper, Bloom y Roth, 1996).

Niveles altos del receptor se encuentran en el túbulo olfatorio, el neocórtex, el núcleo accumbens, la amígdala, el núcleo subtalámico, la sustancia negra y el cerebelo. Niveles moderados han sido detectados en la corteza cerebral (frontal, entorrinal y el cíngulo), el tálamo y el globo pálido. Los receptores D<sub>1</sub> son escasos en la formación hipocámpal, la región septal, el hipotálamo, el área tegmental ventral y el colículo inferior (Bahena-Trujillo, Flores, & Arias-Montaño, 2000).

### 2.2.3 Familia D2

La familia D2 está conformada por 3 subtipos de receptores denominados D2, D3 y D4 (Kandel, 2001). Los subtipos pertenecientes a la familia D2 inhiben la formación de AMPC, activan canales de potasio y reducen la entrada de iones de calcio a través de canales dependientes de la diferencia de potencial, efectos mediados también por proteína G. El receptor D2 ha sido detectado en alta densidad en el neocórtex, el túbulo olfatorio, la capa molecular de la formación hipocámpal, el núcleo accumbens, las islas de Calleja y el área tegmental ventral. Se encuentra también en moderadas cantidades en la sustancia negra reticulada, y la sustancia negra compacta (donde es expresado por las neuronas dopaminérgicas como autorreceptor somatodendrítico), la corteza cerebral (regiones prefrontal, entorrinal y cíngulo), el globo pálido, la amígdala, el tálamo y el hipotálamo. La presencia del receptor D3 se ha estudiado mediante la determinación del RNAm, con niveles elevados en la región septal, los núcleos geniculados medial y lateral del tálamo, el núcleo mamilar medial del hipotálamo y en las células de Purkinje del cerebelo. El

RNA<sub>m</sub> correspondiente al receptor D4 se encuentra presente en alta densidad en la corteza frontal, el bulbo olfatorio, la amígdala, el meséncéfalo y la retina. Densidades intermedias se observan en el neocórtex, mientras que densidades bajas o apenas detectables han sido reportadas en el hipotálamo y en el hipocampo (Bahena-Trujillo, Flores, & Arias-Montaño, 2000).

### **2.3 DOPAMINA Y MEMORIA**

Existen varios reportes acerca del papel que desempeña la dopamina en la memoria a largo plazo (Bethus y otros, 2010; El-Ghundi, Fletcher y Drago, 1999; Granado, y otros, 2008; Hotte, Naudon y Jay, 2005; Huang y Kandel, 1995; Jay, 2003; Nagai, y otros, 2007; De Lima, y otros, 2011). Huang y Kandel (1995) concluyeron, después de realizar varios experimentos, que los agonistas de los receptores D1 inducen una potenciación postsináptica excitadora lenta en la región CA1 del hipocampo que dura menos de 6 horas. Los agonistas del receptor D2 no inducen dicha potenciación. Estos resultados sugieren que el receptor D1 está implicado en la cascada de señalización que lleva a la síntesis de nuevas proteínas, que es un importante componente de potenciación a largo plazo (LTP) en el hipocampo región CA1, ya sea como un componente auxiliar o como un mediador que contribuye directamente a la fase tardía. Esto provee evidencia clara de que la fase tardía de LTP puede estar modulada, al menos en una parte, por los receptores dopaminérgicos D1.

Estudios previos en nuestro laboratorio aún no publicados muestran que al inyectar antagonistas dopaminérgicos D1 en hipocampo y en corteza perirrinal la memoria

de los animales no presenta alguna diferencia con respecto a las inyectadas con solución salina al hacer la prueba de corto plazo (90 minutos después de la fase de muestra). Sin embargo, las ratas inyectadas con el antagonista del receptor D1 en la corteza perirrinal, mostraron un déficit significativo en la memoria comparadas con las ratas control en la prueba a largo plazo (24 horas después de la fase de muestra), mientras que en el hipocampo no se observó ninguna diferencia.

### 2.3.1 Dopamina y reconocimiento de objetos

De Lima y otros (2011) realizaron un estudio en el cual llevaron a cabo dos experimentos: en el primero administraron distintas dosis de SKF38393 (1.0, 5.0, 10 mg/kg), un agonista selectivo del receptor D1; o de solución vehículo, todo esto intraperitonealmente. Se observaron los siguientes efectos en la formación de la memoria de reconocimiento de objetos en ratas: el SKF38393 produjo un aumento en el índice de reconocimiento de objetos (anteriormente expuesto) cuando la memoria fue medida 24 y 72 horas después del entrenamiento con las dosis de 5 y 10 mg/Kg (figura 4). Con el objetivo de identificar los receptores dopaminérgicos que actúan en la memoria de reconocimiento de objetos De Lima y otros (2011), en dos grupos independientes, antes del entrenamiento inyectaron intraperitonealmente distintas dosis de solución vehículo, o SCH23390 (0.1 y 0.05 mg/kg) que es un antagonista de los receptores D1; o raclopride (0.5 y 0.1 mg/kg) que es un antagonista del receptor D2, seguida de una inyección de solución vehículo o de apomorfina (0.05 mg/kg), que es un agonista dopaminérgico no selectivo; inmediatamente después del entrenamiento. La apomorfina produjo un aumento en el índice de reconocimiento de objetos en presencia del antagonista del

receptor D2, no así en presencia del antagonista del receptor D1; un efecto probablemente mediado por la activación selectiva del receptor D1 (figura 5).

Al hacer las inyecciones intraperitonealmente el fármaco tiene difusión en varias estructuras del sistema nervioso no específicas, por lo que el estudio De Lima y otros (2011) ayudó a determinar que la dopamina y específicamente los receptores D1 participan en la formación de la memoria de reconocimiento de objetos; sin embargo, no arrojan datos de en qué estructuras se está llevando a cabo el proceso.

Guzmán-Ramos y otros (2012) realizaron una investigación para evaluar, mediante microdiálisis in vivo, la dopamina cortical y del hipocampo durante la fase de muestra de la memoria de reconocimiento de objetos, así como para relacionar los cambios extracelulares con el rendimiento de la memoria 24 horas después. Descubrieron que la exposición a los objetos nuevos durante la fase de muestra de la tarea de reconocimiento de objetos aumenta los niveles de dopamina en la corteza insular lo que sugiere que la transmisión dopaminérgica en la corteza insular está influenciada por la novedad del estímulo presentado; mientras que en el hipocampo dorsal no se encontraron resultados significativos.

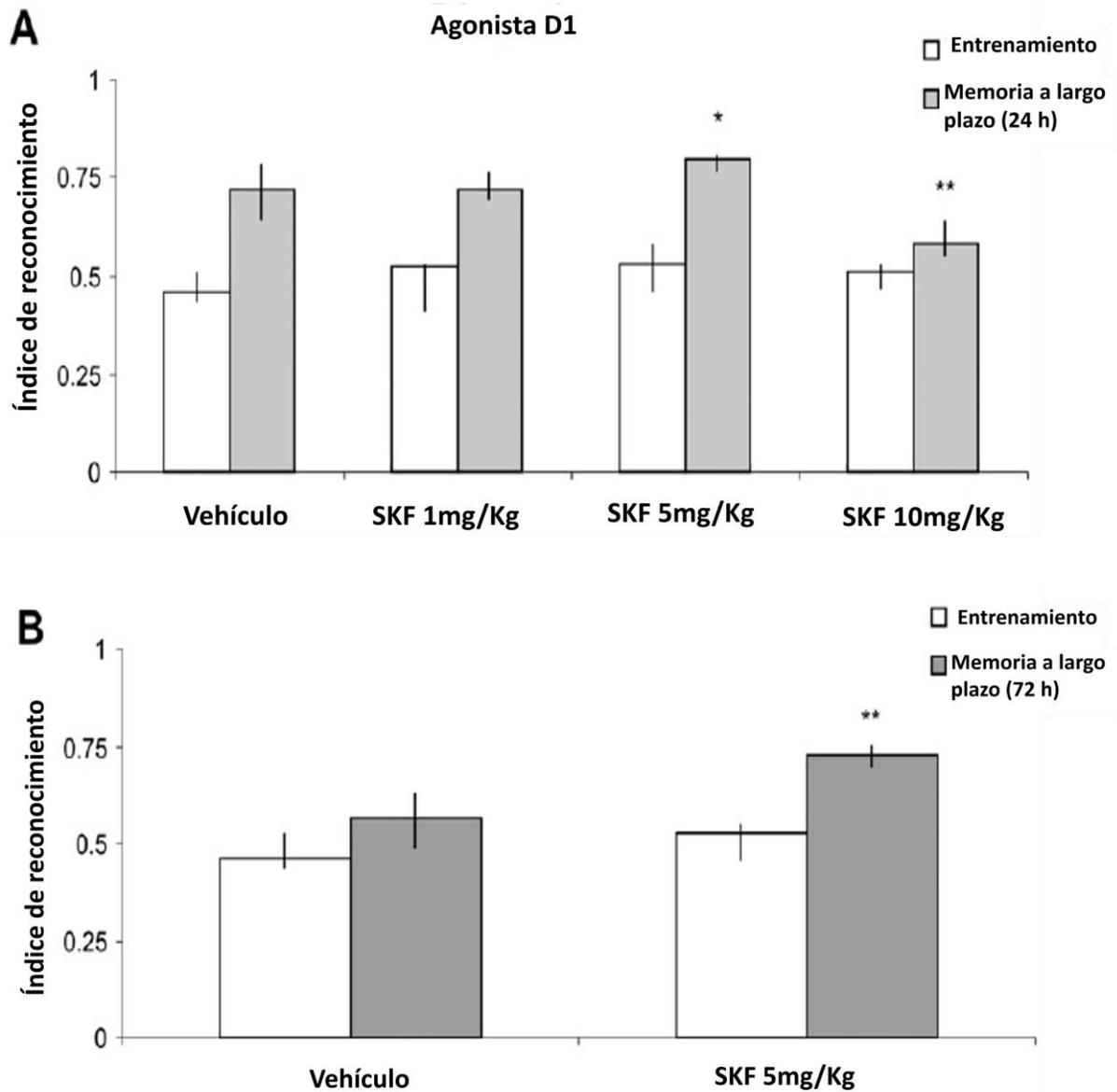


Figura 4: Efectos de la administración post-entrenamiento del agonista del receptor de dopamina D1 SKF38393 (SKF) en la consolidación memoria de reconocimiento. (A) Prueba 24-h después de la fase de muestra; (B) Prueba 72-h después de la muestra. Las diferencias entre el grupo inyectado con solución vehículo frente a otros grupos están indicadas: \*  $p < 0.05$  y \*\* $p < 0.01$  (Traducido de De Lima y otros, 2011).

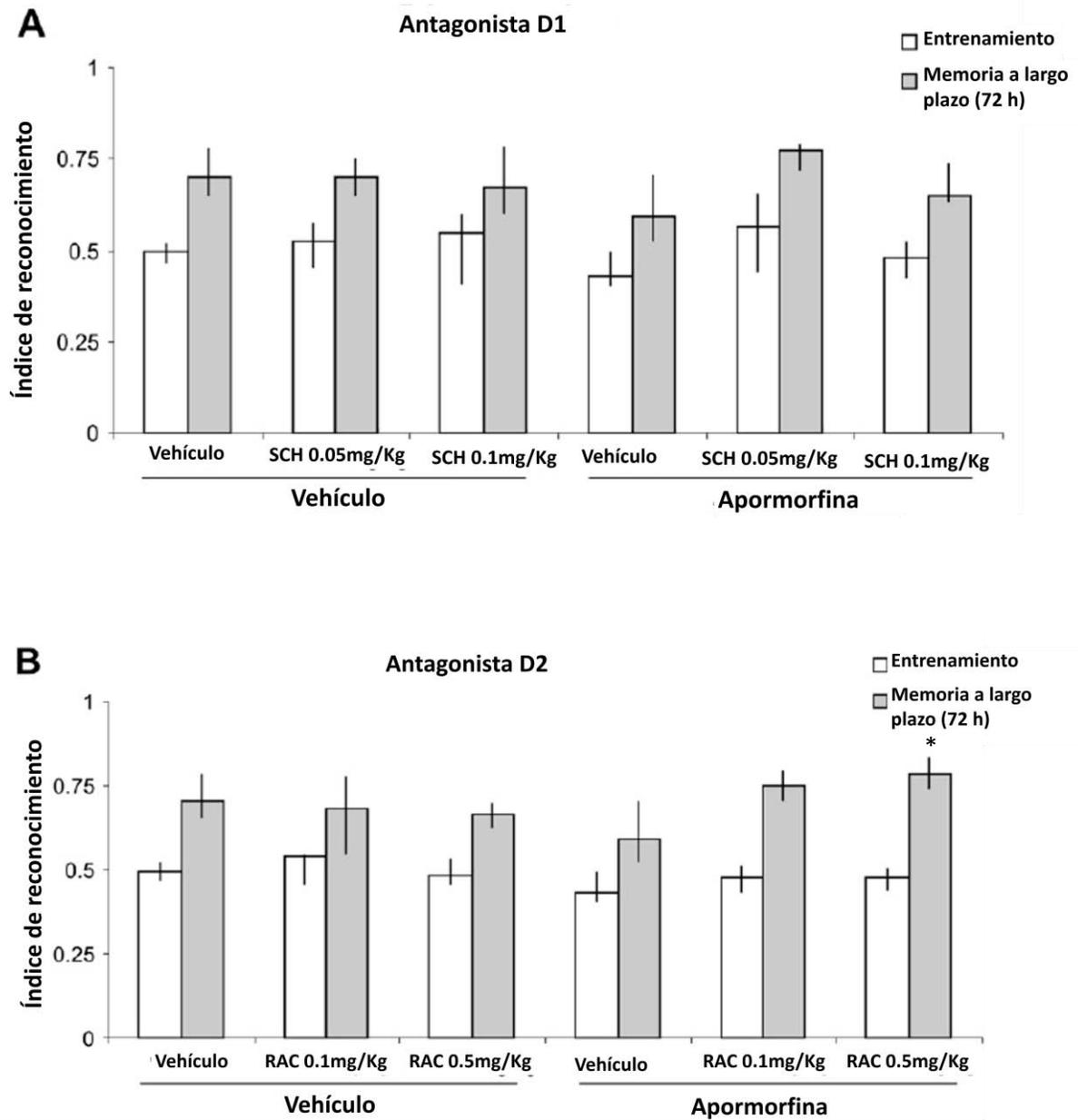


Figura 5: Efectos de la administración preentrenamiento de solución vehículo, el antagonista del receptor D1 SCH23390 (SCH; A), o el antagonista del receptor D2 raclopride (RAC; B), seguido por una inyección sistémica después del entrenamiento de solución vehículo o de la apomorfina, agonista no selectivo del receptor de dopamina. La prueba de retención se llevó a cabo 24 horas después del entrenamiento. Las diferencias entre grupos se indican como \*  $p < 0.05$  (Modificado De Lima y otros, 2011).

### **3 JUSTIFICACIÓN**

Se ha propuesto que la corteza perirrinal y el hipocampo son dos estructuras involucradas en el reconocimiento de objetos; y que un antagonista de los receptores D1 bloquea la memoria de reconocimiento cuando se inyecta en la corteza perirrinal. Sin embargo, no se ha estudiado si el sistema dopaminérgico modula bidireccionalmente la consolidación de la memoria de reconocimiento. Por lo que nos planteamos la siguiente pregunta de investigación:

¿Se puede aumentar el índice de reconocimiento de objetos en la memoria de corto y/o largo plazo a través de un agonista de los receptores D1 de la corteza perirrinal o el hipocampo?

### **4 OBJETIVO**

Determinar si el SKF38393, un agonista de los receptores D1 mejora la memoria de reconocimiento de objetos a corto y/o largo plazo, mediante microinyección en hipocampo y corteza perirrinal.

### **5 HIPÓTESIS**

Si el agonista D1 SKF38393 es inyectado en la corteza perirrinal, el índice de reconocimiento de objetos de la memoria a largo plazo incrementará diferencialmente, no así cuando sea inyectado en el hipocampo.

Si el agonista D1 SKF38393 se inyecta en la corteza perirrinal o en el hipocampo y la prueba de memoria se hace a corto plazo, no se alterará diferencialmente el índice de reconocimiento de objetos.

## **6 MATERIALES Y MÉTODOS**

### **6.1 SUJETOS**

80 ratas adultas de la cepa Wistar provenientes del Bioterio del Instituto de Fisiología Celular, UNAM, con un peso entre 280 y 300 gramos al inicio del experimento. Los animales se mantuvieron en cajas individuales de acrílico a temperatura constante (22-23°C) y con un ciclo de luz oscuridad 12/12 horas. Los animales tuvieron acceso libre al agua y alimento. Todos los protocolos conductuales se llevaron a cabo durante la fase de luz.

### **6.2 CIRUGÍA Y MICRO-INYECCIÓN**

Las ratas se anestesiaron vía intraperitoneal con una mezcla de ketamina y xilacina (22/2.6 mg/kg); bajo los efectos de la anestesia se les implantaron dos cánulas bilaterales de 12 mm en la corteza perirrinal (PER) (posterior 3, lateral  $\pm 6.5$ , ventral 5) y en el hipocampo (HIP) de 9 mm (posterior 3.6, lateral  $\pm 3.0$ , ventral 2.3) con respecto a Bregma (Paxinos y Watson, 1998) mediante los procedimientos esterotáxicos convencionales; las cánulas se fijaron mediante dos tornillos y acrílico dental. Las cánulas guía se colocaron 2 mm arriba de la corteza perirrinal y 1 mm arriba del hipocampo para evitar lesiones; dentro de las cánulas se introdujeron mandriles para prevenir que las cánulas se taparan. Finalmente, a las ratas se les

aplicó penicilina como antibiótico con el objetivo de prevenir posibles infecciones. El tiempo de recuperación posterior a la cirugía fue de doce días.

Para la inyección se retiraron los mandriles y se introdujo un inyector de calibre 30G conectado a través una tubería de polietileno a una microjeringa impulsada por una bomba de microinfusión (Cole Parmer Instruments). Las microinyecciones se hicieron durante un minuto y los inyectores se dejaron un minuto adicional para permitir la difusión completa del fármaco. El volumen inyectado fue de 1 $\mu$ L por hemisferio (Berman y Dudai, 2001). Las ratas fueron manipuladas durante los cinco días anteriores a las infusiones con el objeto de minimizar el estrés asociado con la microinyección.

### **6.3 FÁRMACOS**

Se utilizó el agonista selectivo a receptores D1, ( $\pm$ )-SKF-38393 (SKF38393) (Sigma, St. Louis, MO, USA), el fármaco se disolvió con DMSO (dimetil sulfóxido) y se diluyó hasta la concentración utilizada (12.5 $\mu$ g por lado) con 0.1% de DMSO en solución salina 0.9% (pH 7.2). La solución vehículo (VEH) fue la solución salina con la misma concentración de DMSO, estas dosis se basaron en un reporte previo (Rossato, Bevilaqua, Izquierdo, Medina y Cammarota, 2009).

### **6.4 APARATOS**

En el cuarto donde se llevó a cabo el experimento se controló la temperatura a 21°C, se iluminó con luz tenue, y fue ambientado con ruido blanco. Los experimentos se llevaron a cabo en cuatro cajas de madera pintadas de gris; de 40cm x 40cm x 60cm de alto y con el piso cubierto por aserrín. Los objetos de exploración fueron focos

de vidrio blanco (6 cm de diámetro y 11 cm de longitud) y frascos de vidrio transparentes (5.5 cm de diámetro y 5 cm de altura). Los objetos se fijaron con velcro al piso en la parte trasera de la caja, a 10 cm de la pared para prevenir que las ratas los movieran. Para eliminar claves olfatorias los objetos se limpiaron con etanol al 70% y el aserrín se removió después de cada ensayo.

## **6.5 PROCEDIMIENTOS CONDUCTUALES**

Después de las cirugías, se dejó descansar a los animales durante doce días, estuvieron en el *vivarium* sin ningún tipo de manipulación y para evitar que posibles condiciones de estrés pudieran afectar el rendimiento en la tarea o la consolidación de la misma, en cada sesión los animales se transportaron del *vivarium* al cuarto experimental dos horas antes del inicio de cada sesión y se dejaron en el cuarto dos horas más al finalizar cada sesión. Los cinco días consecutivos a los doce de descanso, los animales fueron manipulados por un minuto e inmediatamente después introducidos en las cajas sin ningún tipo de objeto durante tres minutos (figura 6). En la fase de muestra las ratas se introdujeron en las cajas viendo hacia la pared opuesta de donde se encontraban los dos objetos idénticos y se les permitió explorarlos libremente durante 3 minutos. Resultados previos de la presente tesis muestran que con 3 minutos de fase de muestra (figura 7), el recuerdo no dura a largo plazo, por lo que este protocolo nos será útil para ver las mejorías en la memoria evaluada a los 90 minutos (memoria de corto plazo) o a las 24 horas (memoria de largo plazo).

Para la prueba de memoria, a las ratas se les permitió explorar libremente una copia del objeto presentado anteriormente y al mismo tiempo un objeto nuevo por un

minuto [se ha reportado que la discriminación para el objeto novedoso es más evidente durante el primer minuto (Dix y Aggleton, 1999; Mumby y otros, 2002; Winters y Bussey, 2005)].

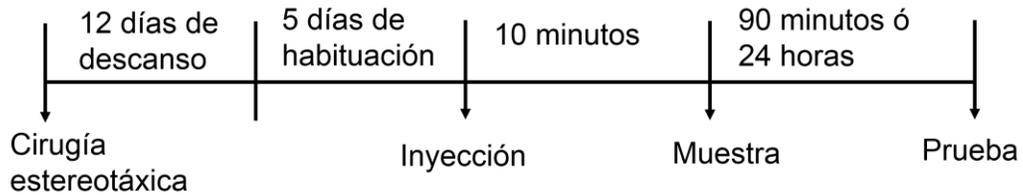


Figura 6: Línea del tiempo que explica los intervalos entre los distintos procedimientos llevados a cabo en la inyección de los fármacos en la corteza perirrinal y en el hipocampo en prueba de la memoria a corto y largo plazo.

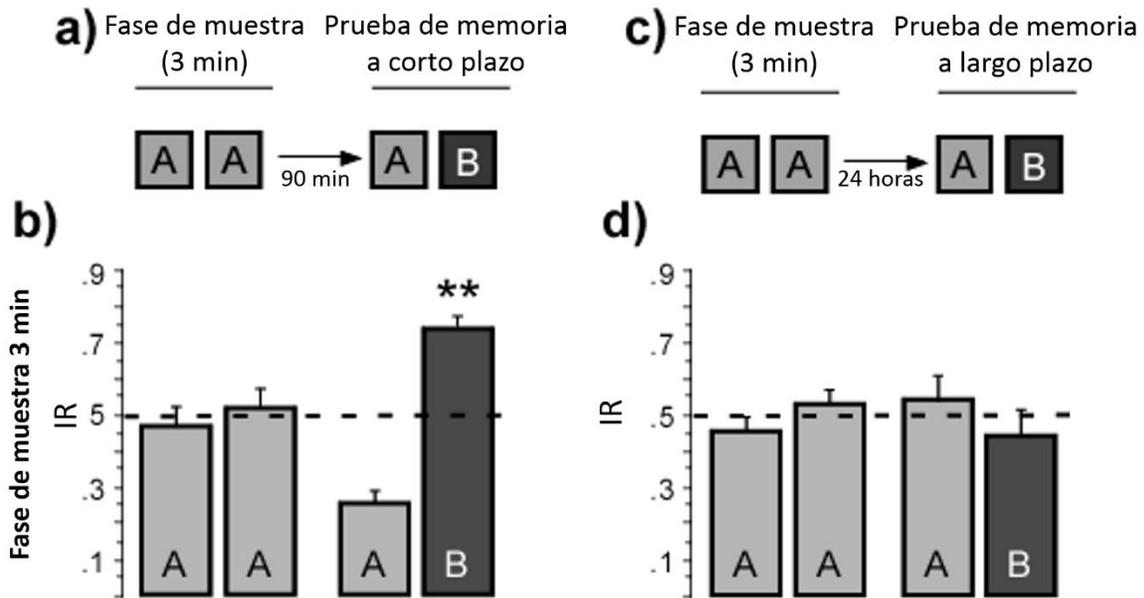


Figura 7: La figura muestra los resultados de la prueba de memoria con tres minutos de exploración en la fase de muestra. Objeto familiar (A), objeto novedoso (B). (a) Esquema que representa el protocolo conductual a corto plazo. (b) Grupo de prueba de memoria a corto plazo. (c) Esquema que representa el protocolo conductual a largo plazo. (d) Grupo de prueba de memoria a largo plazo. \*\* $p < 0.01$  vs índice de reconocimiento (IR) = 0.5.

Las inyecciones de la solución vehículo o SKF38393 para la prueba de memoria tanto a largo como a corto plazo se realizaron 10 minutos antes de la fase de muestra (figura 6) basados en reporte previo (Hotte y otros, 2005).

Los grupos de prueba de memoria a corto plazo fueron: PER-VEH (n=9), PER-SKF (n=8), HIP-VEH (n=6), HIP-SKF (n=7). Los grupos de prueba de memoria a largo plazo fueron: PER-VEH (n=9), PER-SKF(n=10), HIP-VEH(n=7), HIP-SKF(n=7) (figura 8).

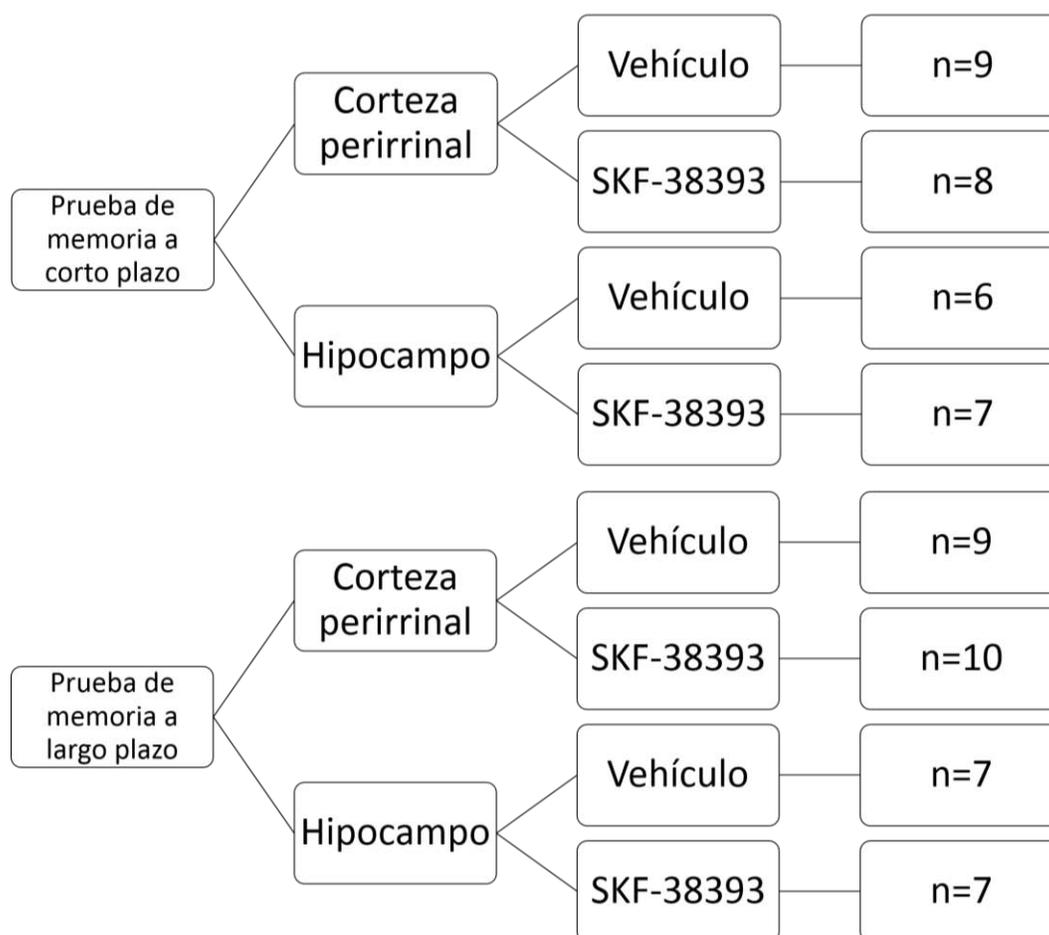
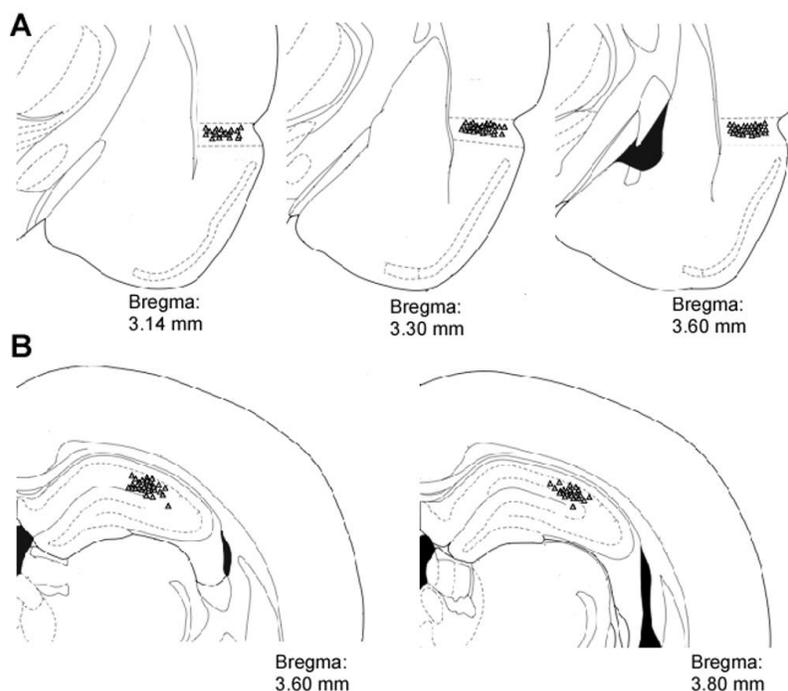


Figura 8: La figura muestra los diferentes grupos en los que se llevó a cabo el experimento.

## 6.6 HISTOLOGÍA

Al final de los experimentos a los animales se les administró una sobredosis de pentobarbital sódico y se perfundieron con solución salina 0.9%. Los cerebros fueron retirados y almacenados a 4° C en solución de formaldehído al 4% y se transfirieron a continuación a 30% de sacarosa hasta que se hundieron. Se tiñeron secciones del cerebro de 40 mm de espesor con violeta de cresilo y se examinaron por microscopía de luz. Todos los animales incluidos en el análisis tenían las puntas de los inyectores en la región cerebral de interés [corteza perirrinal: -3.14 a -3.60mm; hipocampo: -3.60 a -3.80mm con respecto a bregma (figura 9) (Paxinos y Watson, 1998)].



*Figura 9: a) Representación esquemática de la colocación de las puntas del inyector en corteza perirrinal (-3,14 a -3,60 mm con respecto a bregma). b) Sitios de infusión en el hipocampo dorsal, la colocación de las puntas del inyector (-3,60 a -3,80 mm con respecto al bregma).*

## 6.7 ANÁLISIS DE DATOS

Las comparaciones entre los grupos se realizaron con la media  $\pm$  SE de los índices de reconocimiento, un índice de reconocimiento (IR) igual a 0.5 significa que no existe preferencia por alguno de los objetos mientras que un índice mayor de 0.5 representa preferencia por ese objeto. Se utilizó una prueba t de una muestra para determinar si los índices de reconocimiento fueron significativamente diferentes de una media hipotética que fue 0.5 (el nivel de "azar", es decir, sin preferencia entre los objetos). Se utilizó una prueba t no pareada para evaluar si el fármaco infundido fue significativamente diferente de su grupo inyectado con solución vehículo. Un análisis de varianza (ANOVA) de dos vías (fármaco x área del cerebro) fue utilizada para la fase de prueba. Se consideró significativo un valor de  $p < 0.05$ .

## 7 RESULTADOS

Los grupos inyectados en la corteza perirral (PER) o en el hipocampo (HIP) pasaron una cantidad similar de tiempo explorando cada uno de los dos objetos iguales en la fase de muestra (véanse las figuras 10b, c para MCP y las figuras 11b, c para MLP). Una prueba t de una muestra no indicó que los animales tuvieran preferencia por algún objeto en ninguno de los grupos en los que se midió la memoria a corto plazo: PER-VEH ( $P = 0.88$ ), PER-SKF ( $P = 0.17$ ), HIP-VEH ( $P = 0.37$ ) y el HIP-SKF ( $P = 0.52$ ), y para los grupos de memoria a largo plazo: PER - VEH ( $P = 0.37$ ), PER-SKF ( $P = 0.53$ ), HIP-VEH ( $P = 0.82$ ) y HIP-SKF ( $P = 0.23$ ).

En la prueba de memoria a corto plazo (90 min) todos los grupos con infusión de solución vehículo o de SKF38393 tanto en la corteza perirral como en el

hipocampo las ratas exploraron más el objeto novedoso. La prueba t de una muestra mostró que la preferencia por el objeto novedoso era diferente del nivel de azar en todos los grupos [PER-VEH ( $P < 0.0005$ ), PER-SKF ( $P < 0.003$ ), HIP-VEH ( $P < 0.009$ ), HIP-SKF ( $P < 0.002$ ); véanse las figs. 6b, c, fase de prueba]. Un ANOVA de dos vías no reveló efectos significativos de los fármacos [ $F_{(1,26)} = 0.005$ ,  $P = 0.94$ ], de la estructura [ $F_{(1,26)} = 0.50$ ,  $P = 0.48$ ] o de la interacción fármaco estructura [ $F_{(1,26)} = 2.1$ ,  $P = 0.16$ ] (figura 10).

En la prueba de largo plazo (24 h), las ratas infundidas en la corteza perirrinal o en el hipocampo con solución vehículo no mostraron preferencia significativa por el objeto novedoso (véanse las figs. 7b, c fase de prueba), el SKF38393 infundido en el hipocampo no afectó a la discriminación entre los objetos familiares y novedosos (Fig. 7c, fase de prueba). Sin embargo, las infusiones SKF38393 en la corteza perrinal incrementaron la preferencia de las ratas por el objeto novedoso (fig. 7b, fase de prueba). Un ANOVA de dos vías reveló un efecto significativo de la estructura [ $F_{(1,29)} = 8.6$ ,  $P = 0.006$ ], ningún efecto significativo de los fármacos [ $P = 0.56$ ], pero si un efecto significativo de la interacción fármaco-estructura [ $F_{(1,29)} = 4.62$ ,  $P < 0.04$ ]. La prueba post hoc de Fisher reveló que el grupo infundido con SKF38393 en la corteza perirrinal fue diferente de los otros grupos ( $p < 0.05$ ). Una prueba t de una muestra reveló que la preferencia por los objetos novedosos no fue diferente del nivel de azar en ninguno los grupos PER-VEH ( $P = 0.44$ ), HIP-VEH ( $P = 0.96$ ), HIP-SKF ( $P = 0.20$ ), excepto cuando el SKF38393 se infundió en la corteza perirrinal (PER-SKF:  $P < 0.002$ ). Estos resultados indican que el agonista del

receptor D1 SKF38393 infundido en la corteza perirrinal, pero no en el hipocampo mejora la consolidación de la memoria de reconocimiento de objetos (figura 11).

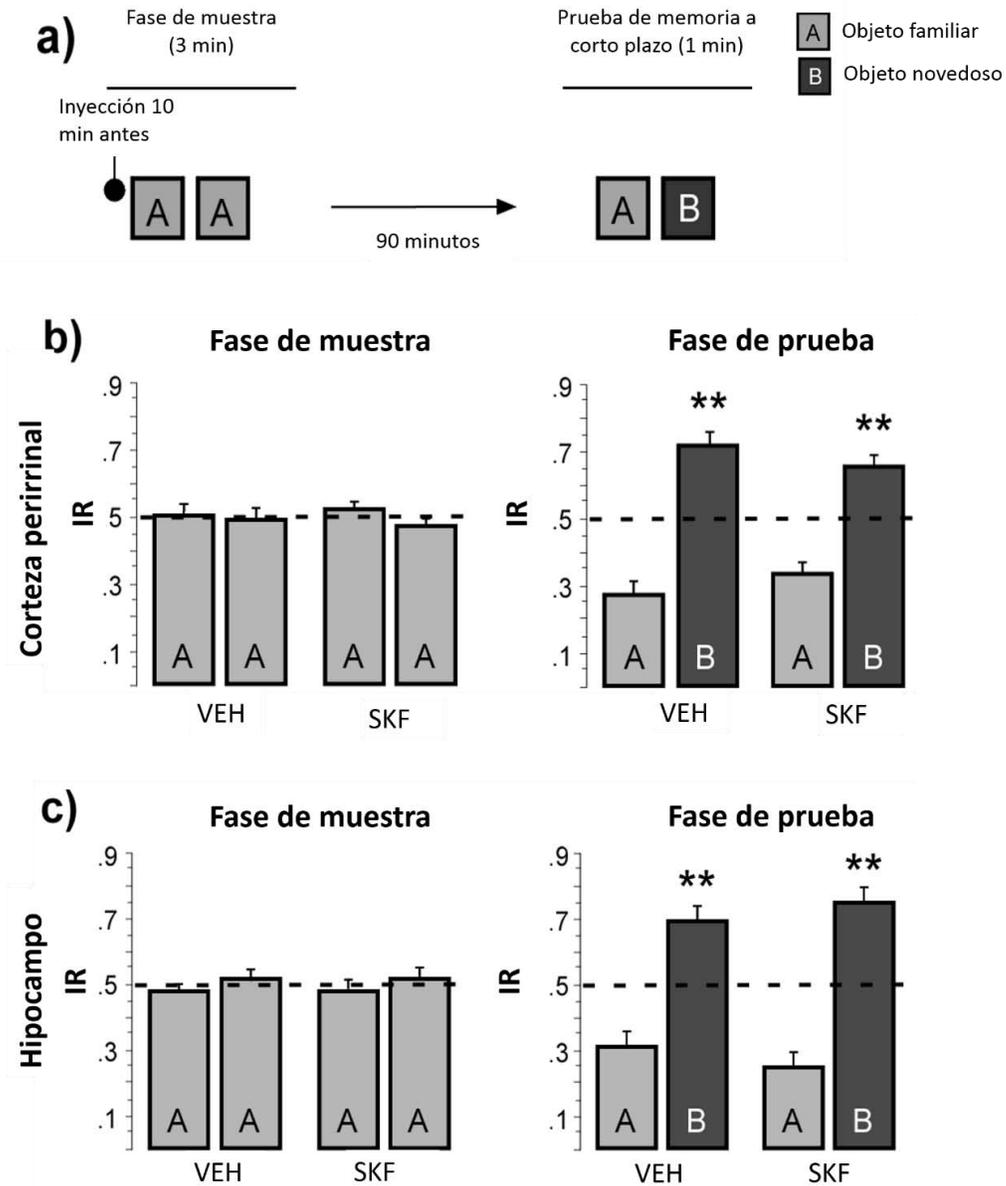


Figura 10: La figura muestra los resultados de la inyección del agonista al receptor D1 SKF38393 (SKF) y solución vehículo (VEH) en corteza perirrinal y el hipocampo con la prueba de memoria a corto plazo. (a) Esquema que representa el protocolo conductual. (b) Grupo con inyección en corteza perirrinal (c) Grupo con inyección en el hipocampo. \*\* $p < 0.01$  vs IR = 0.5.

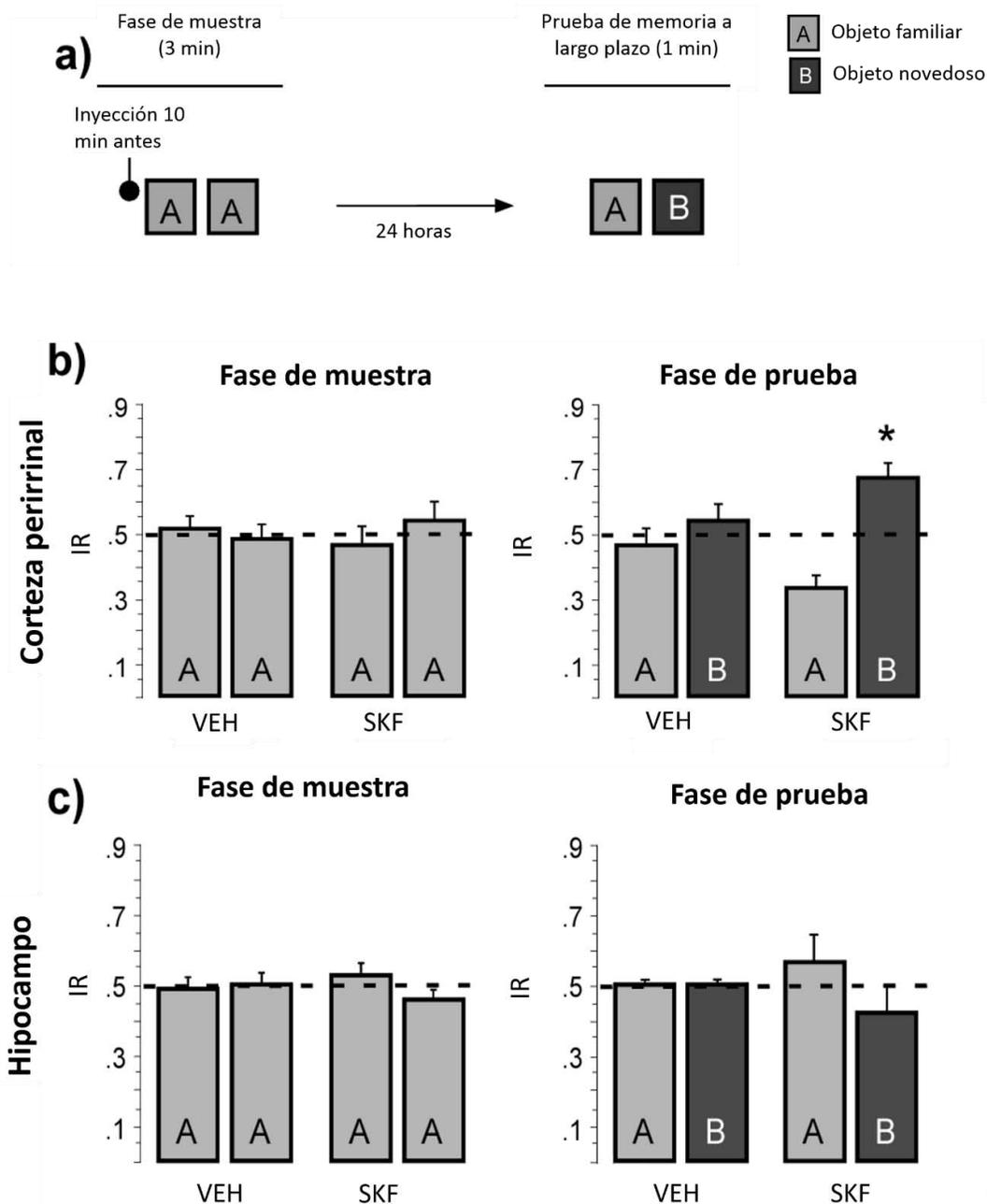


Figura 11: La figura muestra el efecto de la inyección del agonista al receptor D1 SKF38393 (SKF) y la solución vehículo (VEH) en corteza perirrinial y en el hipocampo durante la prueba de memoria a largo plazo. (a) Esquema que representa el protocolo conductual. (b) Grupo con inyección en corteza perirrinial (c) Grupo con inyección en el hipocampo. \* $p < 0.01$  vs IR = 0.5.

## 8 DISCUSIÓN

La presente tesis tuvo por objetivo determinar si el agonista de los receptores D1 es capaz de mejorar la memoria de reconocimiento de objetos a corto y largo plazo en un protocolo de poco tiempo de muestra todo esto mediante microinyección en hipocampo y corteza perirrinal, con pruebas conductuales llevadas a cabo noventa minutos o veinticuatro horas después.

De los resultados obtenidos en esta investigación, se debe resaltar que el único grupo que se diferenció de los demás fue el inyectado en corteza perirrinal con el agonista dopaminérgico SKF38393, el cual mostró un índice de exploración mayor cuando se probó a largo plazo. Mientras que los otros grupos, probados tanto a corto como a largo plazo, no mostraron efecto alguno de la inyección de fármaco con respecto al grupo control inyectado con solución vehículo.

La dopamina es un neurotransmisor ampliamente involucrado en una variedad de funciones cerebrales, incluyendo el movimiento voluntario, adicciones, motivación y atención (Cooper, Klipec, Fowler y Ozkan, 2006; Schultz, 2010). También se ha descrito como importante el papel de la dopamina en la formación de la memoria (Lisman, Grace y Duzel, 2011). Se ha sugerido que los receptores D1/D5 podrían modular la plasticidad neuronal y los mecanismos que permiten el almacenamiento de la memoria (Lisman y otros, 2011).

Los estudios con ratones knockout para los receptores D1 sugieren que estos receptores contribuyen de manera importante a la formación de la memoria (Besheer y otros, 1999; da Silva y otros, 2012; Xing y otros, 2012). Esto resulta

congruente con los resultados obtenidos en el presente estudio. Al no tener receptores D1, los ratones tienen déficits en la consolidación de la memoria. En los resultados de la tesis, al inyectar el agonista D1 en la corteza perirrinal, el índice de reconocimiento aumentó significativamente cuando la memoria fue probada a largo plazo en comparación con la inyección en hipocampo y con los grupos control.

Siguiendo con la línea de investigación de los receptores D1 y la memoria de reconocimiento, De Lima y otros, (2011) mostraron que las inyecciones intraperitoneales del agonista del receptor D1 SKF38393 en una dosis de 5 mg/kg producen una mejora de la memoria de reconocimiento de objetos cuando se prueba 24 y 72 h después de la fase de muestra. Por el contrario, las inyecciones sistémicas de quinpirol, agonista de receptores D2 en dos dosis (1 mg/kg y 5 mg/kg) no afecta a la memoria (De Lima, y otros, 2011). Los estudios con inyecciones intraperitoneales de agonistas y antagonistas dopaminérgicos nos dan un primer e importante enfoque de la función del receptor D1 en la consolidación de la memoria de reconocimiento (De Lima, y otros, 2011; Hotte y otros, 2005); sin embargo, en estos estudios no se puede determinar de qué áreas específicas del cerebro depende este proceso. El presente estudio explica concretamente que la estructura que está involucrada en la consolidación de la memoria a través de la actividad del receptor de dopamina D1 es la corteza perirrinal. Se encontró que la corteza perirrinal y el hipocampo dorsal tienen una participación diferencial en la consolidación de la familiaridad del objeto, los resultados indican que es necesaria la actividad del receptor D1 en la corteza perirrinal para la consolidación de la memoria de reconocimiento, mientras que la actividad de dicho receptor en el

hipocampo dorsal no lo es. El agonista del receptor de dopamina D1 SKF38343 infundido en la corteza perirrinal mejora la consolidación de la memoria de reconocimiento de objetos en un protocolo en el que una fase de muestra corta no es suficiente para generar la memoria a largo plazo en los animales control. La mejora de la memoria es consistente con la idea de que los cambios en la fuerza sináptica subyacente a la memoria podrían ser promovidos por la dopamina (Lisman y otros, 2011).

Por otra parte, se sabe que la estimulación del receptor D1 insuficiente o excesiva podría afectar las funciones cognitivas (Jay, 2003). En el presente estudio, se utilizó una dosis del agonista SKF38393 que mejora la consolidación de la memoria, (Fiorenza, Rosa, Izquierdo y Myskiw, 2012). Dado que los estudios anteriores han demostrado que existe una importante liberación de dopamina en la corteza insular durante la experiencia de la novedad de sabor y objetos (Guzmán-Ramos y otros, 2010; Guzmán-Ramos y otros, 2012). Ya que no se encontró que la memoria a corto plazo o el tiempo total de exploración se vieran afectadas en ningún grupo, la dosis y el tiempo de la infusión fueron útiles para revelar el papel de los receptores de dopamina D1 en la consolidación de la memoria de reconocimiento de objetos.

Cabe mencionar que otros estudios han demostrado que la actividad de los receptores D1 (pero no D2) está involucrada en los eventos finales de la fase de potenciación a largo plazo (LTP) relacionados con la consolidación de la memoria, lo que sugiere que la actividad del receptor D1 puede estar implicada en la fase tardía de la síntesis de proteínas, uno de los principales componentes de la LTP (Huang y Kandel, 1995) esto resulta congruente con los resultados obtenidos a

largo plazo cuando el agonista fue inyectado en la corteza perirrinal, el papel de los receptores D1 es en la memoria a largo plazo.

Los receptores de dopamina de la familia D1 se encuentran exclusivamente postsinápticamente (Beaulieu y Gainetdinov, 2011), y se ha sugerido una estrecha relación entre la actividad de los receptores D1 y la fosforilación de ERK, cinasa regulada por señales extracelulares (Runyan y Dash, 2004; Valjent, Corvol, Pages, Besson y Maldonad, 2000). La exposición a los objetos nuevos en ratones induce la hiperfosforilación de ERK en la corteza (Kamei y otros, 2006), por lo tanto, se ha demostrado que la inhibición de ERK interrumpe la memoria de largo pero no la de corto plazo ya sea espacial o de sabor (Berman y otros, 1998; Blum, Moore, Adams y Dash, 1999), y que la activación de ERK modula el factor de transcripción Elk-1 en la corteza insular de ratas que fueron expuestas a un estímulo novedoso (Berman y otros, 1998). Es posible que la dopamina active la vía de señalización intracelular de ERK, lo que podría ser un posible mecanismo para la síntesis de nuevas proteínas que se requiere para que se produzca la consolidación de la memoria (Guzmán-Ramos y Bermudez-Rattoni, 2012).

Futuras investigaciones deberán orientarse a explicar que otros neurotransmisores están involucrados en la memoria de reconocimiento de objetos y mediante qué receptores. También es importante que futuros trabajos determinen si el papel de la dopamina es exclusivo en la memoria de reconocimiento de objetos o involucra otros tipos de memoria.

## **9 CONCLUSIÓN**

Los resultados indican que la activación del receptor dopaminérgico D1 por el agonista SKF38393 en la corteza perirrinal o en el hipocampo no modifican la memoria de reconocimiento de objetos en intervalos de tiempo cortos (90 minutos) pero sí en la corteza perirrinal en intervalos de tiempo largos (24 horas).

## 10 REFERENCIAS

- Akirav, I. y Maroun, M. (2006). Ventromedial prefrontal cortex is obligatory for consolidation and reconsolidation of object recognition memory. *Cerebral Cortex*, 16(12), 1759-1765.
- Baddeley, A. y Hitch, G. (1974). Working Memory. *The Psychology of Learning and Motivation*, 8, 36-89.
- Bahena-Trujillo, R., Flores, G. y José, A.-M. (2000). Dopamina: síntesis, liberación y receptores en el sistema nervioso central. *Revista Biomédica*, 11(1), 39-60.
- Balderas, I., Moreno-Castilla, P. y Bermudez-Rattoni, F. (2013). Dopamine D1 receptor activity modulates object recognition memory consolidation in the perirhinal cortex but not in the hippocampus. *Hippocampus*, 873-878.
- Balderas, I., Morin, J.-P., Rodriguez-Ortiz, C. y Bermudez-Rattoni, F. (2012). Muscarinic receptors activity in the perirhinal cortex and hippocampus has differential involvement in the formation of recognition memory. *Neurobiology of Learning and Memory*, 418-424.
- Balderas, I., Rodriguez-Ortiz, C., Salgado-Tonda, P., Chavez-Hurtado, J., McGaugh, J. y Bermudez-Rattoni, F. (2008). The consolidation of object and context recognition memory involve different regions of the temporal lobe. *Learning and Memory*, 618-624.
- Barker, G. y Warburton, E. (2011). When Is the Hippocampus Involved in Recognition Memory? *The Journal of Neuroscience*, 31(29), 10721–10731.
- Bear, M., Connors, B. y Paradiso, M. (2008). *Neurociencia la exploración del cerebro*. Barcelona: Wolters Kluwer.
- Beaulieu, J. y Gainetdinov, R. (2011). The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors. *Pharmacology Reviews*, 1(63), 182-217.

- Berman, D. y Dudai, Y. (2001). Memory Extinction, Learning Anew, and Learning the New: Dissociations in the Molecular Machinery of learning in cortex. *Science*, 291.
- Berman, D., Hazvi, S., Rosenblum, K., Seger, R. y Dudai, Y. (1998). Specific and differential activation of mitogen-activated protein kinase cascades by unfamiliar taste in the insular cortex of the behaving rat. *Journal of Neuroscience*, 18(23), 10037-10044.
- Besheer, J., Jensen, H. y Bevins, R. (1999). Dopamine antagonism in a novel-object recognition and a novel-object place conditioning preparation with rats. *Behavioral Brain Research*, 35-44.
- Bethus, I., Tse, D. y Morris, R. (2010). Dopamine and memory: modulation of the persistence of memory for novel hippocampal NMDA receptor-dependent paired associates. *Journal of Neuroscience*, 30(5), 1610-1618.
- Bevilaqua, L., Ardenghi, P., Schroder, N., Bromberg, E., Schmitz, P., Schaeffer, E. y Quevedo, J. (1997). Drugs acting upon the cyclic adenosine monophosphate/protein kinase A signalling pathway modulate memory consolidation when given late after training into rat hippocampus but not amygdala. *Behavior Pharmacology*, 8(5), 331-338.
- Blum, S., Moore, A., Adams, F. y Dash, P. (1999). A mitogen-activated protein kinase cascade in the CA1/CA2 subfield of the dorsal hippocampus is essential for long-term spatial memory. *Journal of Neuroscience*, 19(9), 3535-3544.
- Broadbent, N., Squire, L. y Clark, R. (2004). Spatial memory, recognition memory, and the hippocampus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(40), 14515–14520.
- Brown, M. y Aggleton, J. (2001). Recognition memory: what are the roles of the perirhinal cortex and hippocampus? *Nature Reviews. Neuroscience*, 2(1), 51-61.

- Buffalo, E., Bellgowan, P. y Martin, A. (2006). Distinct roles for medial temporal lobe structures in memory for objects and their locations. *Learn and Memory*, 638-643.
- Carrillo-Mora, P. (2010). Sistemas de memoria: reseña histórica, clasificación y conceptos actuales. *Salud Mental*, 197-205.
- Cooper, D., Klipec, W., Fowler, M. y Ozkan, E. (2006). A role for the subiculum in the brain motivation/reward circuitry. *Behavioral Brain Research*, 2(174), 225-31.
- Cooper, J., Bloom, F. y Roth, R. (1996). *The biochemical basis of neuropharmacology*. Oxford: Oxford University Press.
- Da Silva, w., Kohler, C., Radiske, A. y Cammarota. (2012). D1/D5 dopamine receptors modulate spatial memory formation. *Neurobiology of Learning & Memory*, 271-275.
- De Lima, M. N., Presti-Torres, J., Dornelles, A., Siciliani Scalco, F., Roesler, R., Athaíde Garcia, V. y Schröder, N. (2011). Modulatory influence of dopamine receptors on consolidation of object recognition memory. *Neurobiology of Learning and Memory*, 305–310.
- Denenberg, Kim y Palmiter. (2004). The role of dopamine in learning, memory, and performance of a water scape task. *Behaviour Brain Research*, 73-78.
- Diana, R. y Ranganath, C. (2011). Recollection, familiarity and memory strength: Confusion about confounds. *Trends in Cognitive Science*, 337-338.
- Dix, S. L. y Aggleton, J. P. (1999). Extending the spontaneous preference test of recognition: Evidence of object-location and object-context recognition. *Behavioural Brain Research*, 191-200.
- Ebbinghaus, H. (1885). *Memory. A contribution to experimental psychology*. New York: Columbia University.

- Eichenbaum, H. (1997). To Cortex: Thanks for the Memories. *Neuron*, 481-484.
- Eichenbaum, H., Yonelinas, A. y Ranganath, C. (2007). The medial temporal lobe and recognition memory. *Annual Review Neuroscience*, 123-152.
- El-Ghundi, M., Fletcher, P. y Drago, J. (1999). Spatial learning deficit in dopamine D1 receptor knockout mice. *European Journal of Pharmacology*, 95-106.
- Ennaceur y Delacour. (1988). A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. 1" Behavioral data. *Behavioral Brain Research*(31), 47-59.
- Escobar, E., Pérez, O., Ramírez, A. y Sansores, R. (2007). Efecto del daño de vías dopaminérgicas mesencefálicas en la conducta adictiva al tabaco. Revisión generadora de una hipótesis. *Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas*, 20(1), 56-63.
- Fiorenza, N., Rosa, J., Izquierdo, I. y Myskiw, J. (2012). Modulation of the extinction of two different fear-motivated tasks in three distinct brain areas. *Behavioral Brain Research*, 1(232), 210-216.
- Goelet, P., Castellucci, V., Schacher, S. y Kandel, E. (1986). The long and the short of long-term memory- a molecular framework. *Nature*, 419-422.
- Granado, N., Ortiz, O., Suarez, L., Martín, E., Cena, V., Solís, M. y Moratalla, R. (2008). D1 but not D5 dopamine receptors are critical for LTP, spatial learning, and LTP-Induced arc and zif268 expression in the hippocampus. *Cerebral Cortex*, 18(1), 1-12.
- Guzmán-Ramos, K. y Bermudez-Rattoni, F. (2012). Interplay of amygdala and insular cortex during and after associative taste aversion memory formation. *Reviews in the Neurosciences*, 1-9.
- Guzmán-Ramos, K., Moreno-Castilla, P. y Bermudez-Rattoni, F. (2010). Off-line concomitant release of dopamine and glutamate involvement in taste memory consolidation. *Journal of Neurochemistry*, 1(114), 226-236.

- Guzmán-Ramos, K., Moreno-Castilla, P., Castro-Cruz, M., McGaugh, J., Martínez-Coria, H., LaFerla, M. y Bermúdez-Rattoni, F. (2012). Restoration of dopamine release deficits during object recognition memory acquisition attenuates cognitive impairment in a triple transgenic mice model of Alzheimer's disease. *Learning and Memory*(19), 453-460.
- Hardt, O., Miguez, P., Hastings, M., Wong, J. y Nader, K. (2010). PKMzeta maintains 1-day- and 6-day-old long-term object location but not object identity memory in dorsal hippocampus. *Hippocampus*, 691-695.
- Hotte, M., Naudon, L. y Jay, T. (2005). Modulation of recognition and temporal order memory retrieval by dopamine D1 receptor in rats. *Neurobiology of Learning and Memory*(84), 85–92.
- Huang, Y.-Y. y Kandel, E. (1995). D1/D5 receptor agonists induce a protein synthesis-dependent late potentiation in the CA1 region of the hippocampus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92, 2446-2450.
- Humphrey. (1997). The characterization and classification of neurotransmitter receptors. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1-13.
- Jackson, D. y Westlind-Danielsson, A. (1994). Dopamine receptors: molecular biology, biochemistry and behavioral aspects. *Pharmacology & Therapeutics*, 291-369.
- Jay, T. (2003). Dopamine: a potential substrate for synaptic plasticity and memory mechanisms. *Progress in Neurobiology*, 69(6), 375-390.
- Kamei, H., Nagai, T., Nakano, H., Togan, Y., Takayanagi, M., Takahashi, K. y Kobayashi, K. (2006). Repeated methamphetamine treatment impairs recognition memory through a failure of novelty-induced ERK1/2 activation in the prefrontal cortex of mice. *Biological Psychiatry*, 1(59), 75-84.
- Kandel, E. (2001). The Molecular Biology of Memory Storage: A Dialogue Between Genes and Synapses. *Bioscience Reports*, 565-611.

- Lashley. (1929). *Brain mechanism and intelligence: A Quantitative study of injuries to the brain*. Chicago: University of Chicago Press.
- Lisman, J., Grace, A. y Duzel, E. (2011). A neoHebbian framework for episodic memory; role of dopamine-dependent late LTP. *Trends in Neuroscience*, 536-547.
- Lynch, M. (2004). Long-term potentiation and memory. *Physiological Reviews*, 87-136.
- Maroun, M. y Akirav, I. (2009). Differential involvement of dopamine D1 receptor and MEK signaling pathway in the ventromedial prefrontal cortex in consolidation and reconsolidation of recognition memory. *Learning and Memory*, 16(4), 243-247.
- Matynia, A., Kushner, S. y Silva, A. (2002). Genetic approaches to molecular and cellular cognition: a focus on LTP and learning and memory. *Annual Review in Genetics*, 687-693.
- Milner, B. (2005). The medial temporal-lobe amnesic syndrome. *Psychiatric Clinics of North America*, 599-611.
- Milner, B., Squire, L. y Kandel, E. (1998). Cognitive neuroscience and the study of memory. *Neuron*, 20, 445-468.
- Missale, C., Russel, S., Robinson, S., Jaber, M. y Caron, M. (1998). Dopamine receptors: from structure to function. *Physiological Reviews*, 189-225.
- Morikawa, H. y Paladini, C. (2011). Dynamic regulation of midbrain dopamine neuron activity: intrinsic, synaptic, and plasticity mechanisms. *Neuroscience*, 95-111.
- Mumby, D. G., Gaskin, S., Glenn, M. J., Schramek, T. E. y Lehman, H. (2002). Hippocampal damage and exploratory preferences in rats: Memory for objects places and contexts. *Learning and Memory*, 49-57.

- Myskiw, J., Rossato, J., Bevilqua, L., Medina, J., Izquierdo, I. y Cammarota, M. (2008). On the participation of mTOR in recognition memory. *Neurobiology of Learning and Memory*, 338-351.
- Nagai, T., Takuma, K., Kamei, H., Ito, Y., Nakamichi, N., Murai, M. y Mizoguchi, H. (2007). Dopamine D1 receptors regulate protein synthesis-dependent long-term recognition memory via extracellular signal-regulated kinase 1/2 in the prefrontal cortex. *Learning and Memory*, 14(3), 117-125.
- Neuroscience News*. (2014). Obtenido de <http://neurosciencenews.com/>
- Paxinos, G. y Watson, C. (1998). *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates* (Cuarta ed.). San Diego: Academic Press.
- Purves, D., Augustine, G., Fitzpatrick, D., Hall, W., Lamantia, A.-S., McNamara, J. y Williams, M. (2008). *Neurociencia* (tercera edición ed.). Madrid: Panamericana.
- Rang, H., Dale, M., Ritter, J. y Moore, P. (2004). *Farmacología*. Madrid: España.
- Rossato, J., Bevilqua, L., Izquierdo, I., Medina, J. y Cammarota, M. (2009). Dopamine Controls Persistence of Long-Term Memory Storage. *Science*, 325, 1017-1020.
- Rossato, J., Bevilqua, L., Myskiw, J., Medina, J., Izquierdo, I. y Cammarota, M. (2007). On the role of hippocampal protein synthesis in the consolidation and reconsolidation of object recognition memory. *Learning and Memory*, 36-46.
- Runyan, J. y Dash, P. (2004). Intra-medial prefrontal administration of SCH-23390 attenuates ERK phosphorylation and long-term memory for trace fear conditioning in rats. *Neurobiology of Learning and Memory*, 2(82), 65-70.
- Schultz, W. (2010). Dopamine signals for reward value and risk: basic and recent data. *Behavioral Brain Function*, 6-24.

- Smith, C., Wixted, J. y Squire, L. (2011). The hippocampus supports both recollection and familiarity when memories are strong. *Journal of Neuroscience*, 15693-15702.
- Solis, H. y López-Hernández, E. (2009). Neuroanatomía funcional de la memoria. *Archivos de Neurociencias*, 14(3), 176-187.
- Song, Z., Jeneson, A. y Squire, L. (2011). Medial Temporal Lobe Function and Recognition Memory: A Novel Approach to Separating the Contribution of Recollection and Familiarity. *The Journal of Neuroscience*, 31(44), 16026 – 16032.
- Squire, L. (2004). Memory systems of the brain: A brief history and current. *Neurobiology of Learning and Memory*(82), 171-177.
- Squire, L., Wixted, J. y Clark, R. (2007). Recognition memory and the medial temporal lobe: a new perspective. *Nature Reviews. Neuroscience*, 872-883.
- Thorndike. (1908). Memory for paired associates. *Psychological Review*, 15(2), 122-138.
- University of Bistol*. (2014). Obtenido de Centre of Synaptic Plasticity: <http://www.bris.ac.uk/synaptic/research/projects/memory/recognition-memory/>
- Valjent, E., Corvol, J., Pages, C., Besson, M. y Maldonad. (2000). Involvement of the extracellular signal-regulated kinase cascade for cocaine-rewarding properties. *Journal of Neuroscience*, 8701-8709.
- Winters, B. y Bussey, T. (2005). Transient Inactivation of Perirhinal Cortex Disrupts Encoding, Retrieval, and Consolidation of Object Recognition Memory. *Journal of Neuroscience*, 25(1), 52– 61.
- Wixted, J. y Squire, L. (2011). Confusion abounds about confounds: response to Diana and Ranganath. *Trends in Cognitive Science*, 338-339.

Xing, B., Guo , J., Meng, X., Wei, S. y Li, S. (2012). The dopamine D1 but not D3 receptor plays a fundamental role in spatial working memory and BDNF expression in prefrontal cortex of mice. *Behavior Brain Research*, 235(1), 36-41.

Yonelinas, A., Kroll, N., Quamme, J., Lazzara, M., Sauve, M., Widaman, K. y Knight, R. (2002). Effects of extensive temporal lobe damage or mild hypoxia on recollection and familiarity. *Nature Neuroscience*, 5(11), 1236-41.

Zubaran, C., Fernandez, J. y Rodnight, R. (1997). Wernicke-Korsakoff Syndrome. *Postgraduate Medical Journal*, 27-31.