



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Maestría y Doctorado en Ciencias Bioquímicas

Efecto de la liberación controlada de dopamina en el hipocampo dorsal en una tarea de memoria espacio contextual

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

Doctor en Ciencias

PRESENTA:

Cintia Velázquez Delgado

TUTOR PRINCIPAL

Luis Alberto Carrillo Reid, Instituto de Neurobiología

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR

Federico Bermúdez Rattoni, Instituto de Fisiología Celular

José Fernando Peña Ortega, Instituto de Neurobiología

Ciudad de México. **Agosto**, 2024



Universidad Nacional
Autónoma de México



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 Académicos

Agradezco a todo el personal del Instituto de Neurobiología por su apoyo académico para la realización de mis estudios de doctorado.

Agradezco al Posgrado de Ciencias Bioquímicas de la UNAM en la realización de este proyecto de doctorado. También al Programa de Apoyo a Estudios de Posgrado (PAEP) por el apoyo económico recibido.

También se agradece a los siguientes financiamientos con los cuales se realizó la presente tesis en CONAHCYT (CF6653, CF154039) y UNAMDGAPA-PAPIIT (IA201421, IA201819, IN213923 de L.C.-R.). CONAHCYT (CF-2023-I-189 de F.B.-R.).

El alumno Cintia Velázquez Delgado agradece a CONAHCYT por otorgar la beca nacional con el No. De Registro de becario 772867 del periodo comprendido entre enero del 2020 a enero del 2024.

Le agradezco a mi tutor el Dr. Luis Alberto Carrillo-Reid por ofrecerme su asesoría para realizar este proyecto de doctorado, por brindarme los recursos para poder abrirme camino en el campo de las neurociencias y por permitirme realizar este proyecto en su laboratorio.

También agradezco a mi comité tutorial, el Dr. Federico Bermúdez Rattoni y el Dr. José Fernando Peña Ortega, por brindarme asesoría académica, recursos materiales y apoyo moral para la realización de este proyecto.

Agradezco al Dr. Vladimir Calderón-Ortiz y al Dr. Benito Ordaz por la asesoría y apoyo académico para la realización de este doctorado.

Además, agradezco a mis compañeros de Laboratorio el Candidato a Doctor Job Peréz Becerra, Dr. Miguel Angel Zamora-Ursulo, y al Maestro en Ciencias Jorge Eduardo Hernández Ortiz por la contribución con la realización de experimentos y su interpretación para la realización de este proyecto de doctorado.

Y por último agradezco a la Dra. Perla Moreno-Castillo por su apoyo académico y moral para la realización de este proyecto de doctorado.

Agradecimientos Personales

Quiero agradecer enormemente por ayudarme a perseguir y cumplir mis sueños a mis padres, a mi hermano, a mi abuela, a mi abuelo, a mis tíos (que son como mis segundos padres), en especial a mi tía Edith (que siempre me da mucho amor, amistad e inspiración) y a mis primos (que son mis hermanos). Les agradezco todo el amor incondicional, por hacer mi vida muy bonita y en específico por el apoyo que siempre me ofrecieron para que pudiera estudiar este doctorado.

Agradezco enormemente a todos mis amigos que me han acompañado durante este doctorado con su hermosa y valiosa amistad, con su incondicional escucha y por todos los momentos de diversión y tristeza en los que nos hemos acompañado. Especialmente les agradezco por festejar mis logros y por ayudarme a levantarme de mis fracasos.

SINODALES DESIGNADOS
Presente

Estimado académico:

Los miembros del Subcomité Académico en reunión ordinaria del **20 de mayo de 2024**, conocieron la solicitud de asignación de **JURADO DE EXAMEN** para optar por el grado de **Doctor en Ciencias** de la estudiante **CINTIA VELÁZQUEZ DELGADO**, con la tesis **"Efecto de la liberación controlada de dopamina en el hipocampo dorsal en una tarea de memoria espacio contextual"**, dirigida por el Dr. **LUIS ALBERTO CARRILLO REID**.

De su análisis se acordó nombrar el siguiente jurado en el que se encuentra usted incluido:

			ACEPTA	FECHA	FIRMA
FRANCISCO SOTRES BAYÓN	PMDCBQ	PRESIDENTE	SI ☒ NO ☐	6 / 6 / 2024	
FATUEL TECUAPETLA AGUILAR	PMDCBQ	SECRETARIO	SI ☒ NO ☐	6 / 6 / 2024	
MARTHA LILIA ESCOBAR RODRÍGUEZ	PMDCBQ	VOCAL	SI ☐ NO ☒	7 / 6 / 2024	
ARTURO HERNÁNDEZ CRUZ	PMDCBQ	VOCAL	SI ☐ NO ☒	12 / 6 / 2024	
ANGÉLICA ZEPEDA RIVERA	PMDCBQ	VOCAL	SI ☒ NO ☐	12 / 6 / 2024	

Sin otro particular por el momento, aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cd. Universitaria, Cd. Mx., a 23 de mayo de 2024



Coordinadora
Dra. Claudia Lydia Treviño Santa Cruz



**PROTESTA UNIVERSITARIA DE INTEGRIDAD Y
HONESTIDAD ACADÉMICA Y PROFESIONAL
(Graduación con trabajo escrito)**

De conformidad con lo dispuesto en los artículos 87, fracción V, del Estatuto General, 68, primer párrafo, del Reglamento General de Estudios Universitarios y 26, fracción I, y 35 del Reglamento General de Exámenes, me comprometo en todo tiempo a honrar a la Institución y a cumplir con los principios establecidos en el Código de Ética de la Universidad Nacional Autónoma de México, especialmente con los de integridad y honestidad académica.

De acuerdo con lo anterior, manifiesto que el trabajo escrito titulado:

"Efecto de la liberación controlada de dopamina en el hipocampo dorsal en una tarea de memoria espacio contextual"

que presenté para obtener el grado de Doctorado es original, de mi autoría y lo realicé con el rigor metodológico exigido por mi programa de posgrado, citando las fuentes de ideas, textos, imágenes, gráficos u otro tipo de obras empleadas para su desarrollo.

En consecuencia, acepto que la falta de cumplimiento de las disposiciones reglamentarias y normativas de la Universidad, en particular las ya referidas en el Código de Ética, llevará a la nulidad de los actos de carácter académico administrativo del proceso de graduación.

Atentamente

**Cintia Velázquez Delgado
No. de Cuenta 308326741**

Abreviaturas

CA1	Cornu Ammonis 1
CA2	Cornu Ammonis 2
CA3	Cornu Ammonis 3
CREB	Elementos de respuesta al AMPc
DG	Giro Dentado
EC	Corteza Entorrinal
FQ	5-furoil quinolina-3-carbaldehído
GABA	Ácido Gamma-aminobutírico
HPLC	Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia
LC	Locus Coeruleus
LF	Localización Familiar
LN	Localización Novedosa
LED	Diodo Emisor de Luz
LTP	Potenciación a Largo Plazo
KCN	Cianuro de Potasio
OLM	Memoria de Localización de Objetos
s.o.	stratum oriens
s.r.	stratum radiatum
s.l-m	stratum lacunosum moleculare
VTA	Área Tegmental Ventral

Índice

Resumen.....	10
Abstract.....	11
Introducción.....	12
Papel de los ensambles neuronales en la formación de la memoria	13
Hipocampo	16
Banda Theta	17
Potenciación a Largo Plazo (LTP)	18
Dopamina y memoria espacial.....	18
Sistema Dopaminérgico en el hipocampo dorsal	19
Atractores	20
Planteamiento del Problema.....	21
Objetivo	22
Objetivos particulares.....	22
Hipótesis.....	23
Metodología	23
-Cirugía	23
-Microdiálisis en el hipocampo dorsal.....	23
-Análisis de neurotransmisores por Electroforesis Capilar	23
-Memoria de Localización de Objetos	24
-Determinación del Índice de Reconocimiento.....	24
-Estadística.....	25
Resultados	25
Caracterización de la OLM débil y fuerte	25
Aumento de la dopamina en el hipocampo dorsal durante la adquisición en la OLM-débil y la OLM-fuerte	27
Un aumento de dopamina posterior a la adquisición impide que los animales exploren más el objeto en la localización novedosa en una OLM-fuerte	30
La liberación de dopamina hipocampo dorsal no modula ni la OLM-débil ni la OLM-fuerte en la fase de recuperación.....	32
Discusión.....	33
Modulación dopaminérgica de las memorias espaciales débiles	33
Modulación dopaminérgica de memorias espaciales fuertes	34

El desenjaulamiento de dopamina en el hipocampo involucra la activación de ensambles neuronales.....	35
Modulación dopaminérgica de los estados atractores subyacen el fortalecimiento de memorias espaciales	36
Elevación de dopamina en el hipocampo como estrategia para aumentar el desempeño cognitivo	37
Conclusión	38
Bibliografía	39

Resumen

La capacidad de identificar cambios en el entorno es fundamental para la vida diaria. Se ha propuesto que los eventos novedosos que producen la liberación de dopamina en la región CA1 del hipocampo podrían modular la formación de la memoria espacial. Sin embargo, el papel del aumento de dopamina en el hipocampo sobre la formación de memorias espaciales débiles o fuertes se desconoce. Los resultados de este trabajo muestran que durante el protocolo de memoria de localización de objetos (OLM) los ratones que exploran dos objetos ubicados en un entorno familiar durante 5 minutos crean una memoria a corto plazo (débil) que no se puede recuperar un día después, mientras que una exploración de 10 minutos crea una memoria a largo plazo (fuerte) que sí se puede recuperar un día después. Notablemente, el aumento de dopamina en el dorso del hipocampo durante la adquisición de un protocolo de OLM-débil permite su recuperación un día después. Por el contrario, el aumento de dopamina durante la adquisición de un protocolo de OLM-fuerte promueve la preferencia por el objeto en la localización familiar sobre el objeto en la localización novedosa después de 24 horas. Además, el aumento de dopamina después de la adquisición en un protocolo de la OLM-débil no tuvo efecto, mientras que en el protocolo de la OLM-fuerte disminuyó la exploración del objeto en la localización novedosa. Adicionalmente, el aumento de dopamina en el hipocampo durante el cambio de localización de objetos en una OLM-débil no permitió la recuperación de la memoria. Asimismo, en una OLM-fuerte el aumento de dopamina en el hipocampo durante el cambio de localización de uno de los objetos no afectó la recuperación de la memoria. Finalmente, el aumento de dopamina aumentó las oscilaciones theta hipocámpales, indicando que la dopamina promueve la activación recurrente de grupos específicos de neuronas. Nuestros experimentos demuestran que la modulación dopaminérgica hipocámpal durante la codificación de la OLM depende de si se estableció un protocolo de la OLM-débil o fuerte. Por lo que niveles elevados de dopamina permiten que en una OLM-débil los animales exploren más el objeto que es cambiado de localización, mientras que en una OLM-fuerte podrían comprometer la manera en que se guardan las memorias.

Abstract

The ability to remember changes in the surroundings is fundamental for daily life. It has been proposed that novel events producing dopamine release in the hippocampal CA1 region could modulate spatial memory formation. However, the role of hippocampal dopamine increase on weak or strong spatial memories remain unclear. We show that male mice exploring two objects located in a familiar environment for 5 minutes created a short-term memory (weak) that cannot be retrieved one day later, whereas 10 minutes exploration created a long-term memory (strong) that can be retrieved one day later. Remarkably, hippocampal dopamine elevation during the encoding of weak object location memory (OLMs) allowed their retrieval one day later but dopamine elevation during the encoding of strong OLMs promoted the preference for a familiar object location over a novel object location after 24 hours. Moreover, dopamine uncaging after the encoding of OLMs did not have effect on weak memories whereas on strong memories diminished the exploration of the novel object location. Additionally, hippocampal dopamine elevation during the retrieval of OLMs did not allow the recovery of weak memories and did not affect the retrieval of strong memory traces. Finally, dopamine elevation increased hippocampal theta oscillations, indicating that dopamine promotes the recurrent activation of specific groups of neurons. Our experiments demonstrate that hippocampal dopaminergic modulation during the encoding of OLMs depends on the memory strength indicating that hyperdopaminergic levels that enhance weak experiences could compromise the normal storage of strong memories.

Introducción

La memoria espacial es una capacidad cognitiva vital que permite integrar información sobre la posición de los objetos en el espacio. Ha sido demostrado que la activación del dorso del hipocampo permite la adquisición y recuperación de memorias espaciales (Assini et al., 2009; Iwasaki et al., 2021). Las memorias espaciales se forman a través de la exposición repetida al ambiente, pero también se ha observado que en algunos casos las memorias espaciales pueden formarse por una breve exposición a un ambiente con características no esperadas o sobresalientes (Duszkiewicz et al., 2019). El paradigma de Memoria de Localización de Objetos (OLM) permite cuantificar los cambios en el espacio. Esta prueba se basa en la preferencia natural de los animales por explorar los estímulos novedosos. La OLM consta de la fase de adquisición, donde se expone a los animales a dos objetos similares en la misma localización respecto a una clave contextual. Posteriormente, cuando uno de los objetos es cambiado de localización respecto a la clave contextual, se espera que los ratones exploren por más tiempo el objeto en la localización novedosa. La identificación de este cambio en el espacio depende de que los animales recuperen la memoria sobre la previa localización de los objetos para poder compararla con la novedad en el espacio. Además, esta prueba se puede establecer como memoria débil (memoria de corto-plazo) o memoria fuerte (memoria de largo-plazo), dependiendo del tiempo que los animales exploran los objetos durante la adquisición (Vogel-Ciernia & Wood, 2014; Kempadoo et al., 2016; Gálvez-Márquez et al., 2022; Bolsius et al., 2023). Por lo que, una breve exposición a dos objetos establece una OLM-débil que no puede ser recuperada un día después, mientras que una exposición por más tiempo establece una OLM-fuerte que puede ser recuperada un día después. Esto sugiere que la OLM-débil es susceptible de perderse con el tiempo y que la OLM-fuerte es almacenada en forma de atractores. Los atractores pueden ser entendidos como patrones de actividad que forman estados estables en la dinámica de un sistema (Rolls & Treves, 1994; Tsodyks y Sejnowski, 1995; Monasson y Rosay, 2014, 2025; Low et al., 2021; Yuste et al., 2024).

Se ha demostrado que la dopamina que se libera en el hipocampo proveniente del Locus Coeruleus (LC) modula la formación de memorias espaciales relacionadas a eventos salientes (Kempadoo et al.; Takeuchi et al., 2016). La liberación de dopamina en el hipocampo favorece la retención de memorias espaciales, sugiriendo que la dopamina permite la formación de memorias asociativas (Wise et al., 2004; Muzzio et al., 2009). De acuerdo con esta idea, la activación de la vía LC-CA1, aumenta la liberación de dopamina durante la adquisición de una OLM-débil lo cual permite que ésta pueda ser recuperada un día después (Kempadoo et al., 2016). Por el contrario, la inactivación de la vía LC-CA1, disminuye la liberación de dopamina en el hipocampo dorsal y afecta el desempeño en una OLM-fuerte (Gálvez-Márquez et al., 2022), resaltando que el aumento de dopamina podría modular tanto memorias espaciales débiles como memorias espaciales fuertes de forma diferencial.

Por otro lado, se sabe que las terminales dopaminérgicas pueden liberar otros neurotransmisores además de la dopamina (Tecuapetla et al., 2010; Ntamati & Luscher, 2016; Eskenazi et al., 2021), por lo que se plantea que esta co-liberación pudiera tener diferentes implicaciones en procesos de memoria y aprendizaje. Sin embargo, no se ha hecho la caracterización de la co-liberación de los diferentes neurotransmisores de diversos núcleos del cerebro hacia el hipocampo (Edelmann & Lessman, 2018), lo que limita el entendimiento del papel de la elevación de la dopamina en las memorias espaciales dependientes del hipocampo. En este sentido, ha sido demostrado que la vía LC-CA1 modula las OLM-fuertes

a través de la liberación de dopamina y noradrenalina (Gálvez-Márquez et al., 2022), mientras que esta misma vía modula las OLM-débiles solamente a través de la activación de los receptores dopaminérgicos (Kempadoo et al., 2016). Adicionalmente, el dorso del hipocampo recibe proyecciones del Área Tegmental Ventral (VTA), la sustancia negra pars compacta (SNc) y del LC (Lisman & Grace, 2005; Kempadoo et al., 2016; Tsetsenis et al., 2021; Gálvez-Márquez et al., 2022). Entonces, se ha propuesto que de acuerdo con la fuente de donde proviene la liberación de dopamina se pudiera modular la memoria espacial a través de diferentes mecanismos. La dopamina que proviene del VTA podría estar relacionada con la modulación de la memoria asociada a una recompensa, mientras que la dopamina proveniente del LC podría estar relacionada con la modulación de la memoria asociada a una novedad (Lisman & Grace; Osorio-Gómez et al., 2023). Por lo tanto, se desconoce el efecto de un aumento de dopamina en el dorso del hipocampo en la modulación de memorias espaciales.

La elevación de dopamina en el cerebro se ha sugerido como un tratamiento para mejorar el desempeño cognitivo en modelos de la Enfermedad de Alzheimer (Ambree et al., 2009; Shaikh et al., 2023). Sin embargo, el tratamiento canónico para la Enfermedad de Parkinson consiste en la elevación de dopamina en todo el cerebro, con el fármaco L-Dopa, lo cual produce efectos secundarios no deseados como: discinesias, alucinaciones y comportamientos compulsivos (Talati et al., 2009; Voon et al., 2011; Blandini & Armentero, 2014). Esta evidencia resalta la necesidad de herramientas farmacológicas que permitan el control temporal y espacial de la liberación de dopamina.

La foto-farmacología representa una herramienta útil que podría limitar los efectos secundarios observados en los tratamientos de farmacología común. Se fundamenta en el uso de moléculas activas biológicamente que se inactivan con la unión de una molécula que es fotosensible, generando compuestos enjaulados. La foto-estimulación de los compuestos enjaulados permite el desenjaulamiento del compuesto activo, lo que permite su interacción con los receptores correspondientes. A diferencia de la farmacología común, los compuestos enjaulados permiten la liberación controlada del compuesto activo. Adicionalmente el desenjaulamiento de compuestos ocurre únicamente en el volumen donde ocurre la foto-estimulación. Por el contrario, la inyección de fármacos directamente en núcleos cerebrales depende del tiempo de difusión donde la concentración varía de acuerdo con la difusión (Ellis-Davies, 2007). Recientemente un compuesto enjaulado, Rubi-Dopa, se ha usado para liberar dopamina con alta precisión espacio-temporal en diversos núcleos cerebrales (Araya et al., 2013; Zayat et al., 2013; Andino-Pavlovsky et al., 2017; Zamora-Ursulo et al., 2023). Sin embargo, no se ha estudiado el efecto del desenjaulamiento de dopamina en el hipocampo en el procesamiento de memorias espaciales.

Para estudiar el efecto de un aumento de dopamina en el hipocampo, se elevó la dopamina en diferentes fases de la memoria, así como en la OLM-débil y la OLM-fuerte. Finalmente, los resultados del presente trabajo se discuten dentro del marco conceptual de los modelos de atractores, que considera a las memorias espaciales como estados estables de una red los cuales están originados por la actividad de ensambles neuronales (Yuste et al., 2024).

Papel de los ensambles neuronales en la formación de la memoria

La memoria es un proceso neurobiológico que permite a los organismos almacenar información para posteriormente recuperarla y, con ella, regular su comportamiento en el ambiente que les rodea (Kandel et al., 2014). En 1904, Semon planteó el concepto del engrama de la memoria, que buscaba caracterizar si las memorias estaban almacenadas en algún lugar en el cerebro (Semon, 1921). Posteriormente en 1949, Hebb propuso que las neuronas que se coactivan en una misma ventana de tiempo podrían aumentar su conectividad y, en consecuencia, la posibilidad de activarse juntas de nuevo (D. Hebb, 1949). La coactivación neuronal en una ventana de tiempo específica se definió como un ensamble neuronal (Figura 1; Carrillo-Reid, 2022). Actualmente, se ha determinado que la reactivación artificial de estos ensambles neuronales mediante optogenética es suficiente para recuperar una memoria y un comportamiento previamente adquirido es manifestado (Figura 1; Liu, et al. 2014; Frankland et al., 2019; Carrillo-Reid et al., 2019). Además, se ha propuesto que los engramas de la memoria se componen de varios ensambles neuronales distribuidos en varios núcleos cerebrales (Roy et al., 2022).

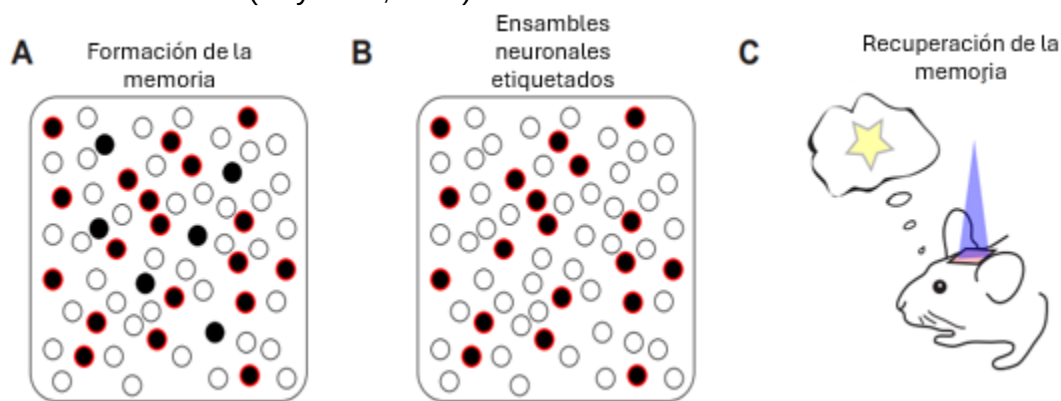


Figura 1. Ensamblajes neuronales y procesos de memoria. **A.** Durante el procesamiento de una memoria, las neuronas que se activan son identificadas. **B.** Las neuronas que forman un ensamble neuronal y que fueron identificadas son reactivadas con optogenética. **C.** La manipulación con optogenética conlleva la manifestación de una memoria (Tomada de Carrillo-Reid, 2022).

La formación de la memoria es un proceso multifacético que comienza con la adquisición, donde se obtiene la información y se forman los ensambles neuronales a través de la activación de grupos específicos de neuronas (Josselyn, et al. 2015). En este sentido, la asignación de la memoria se define por la selección de las sinapsis y las neuronas que participarán en la activación de los ensambles neuronales asociados a alguna memoria. Se sabe que hay eventos que promueven la asignación de la memoria, como un aumento en la potencia de la banda theta en el hipocampo (Cohen et al., 2014) y en la excitabilidad neuronal (Josselyn & Frankland, 2018).

Después de la adquisición, sigue la consolidación, proceso en el cual una memoria se hace estable y, por ende, menos susceptible de perderse (Figura 2; McGaugh, 2000). La consolidación tiene dos componentes, uno sináptico y uno sistémico. La consolidación sináptica involucra cambios moleculares en las sinapsis que permiten que una o más neuronas aumenten su fuerza sináptica. Durante la consolidación sináptica, ocurre el etiquetado sináptico, que es el proceso donde, posterior a la activación de una o más sinapsis, se expresan en las neuronas una variedad de moléculas que participan en la señalización, la síntesis de proteínas y la estabilización sináptica, clasificadas como "etiquetas moleculares".

Posteriormente la maquinaria proteica de las neuronas podrá reconocer estas “etiquetas moleculares” y señalar la transcripción de proteínas, que favorecerán la estabilización de las sinapsis involucradas y finalmente favorecen la consolidación de la memoria (Martin & Kosik, 2002). Paralelamente, ocurre la consolidación sistémica o de los sistemas de memoria (Tonegawa et al., 2018). La reactivación de los ensambles neuronales formados durante la adquisición durante el sueño y la vigilia permite la consolidación sistémica (Lewis & Bendor, 2019; Dudai et al., 2015). La constante reactivación de los ensambles neuronales en el hipocampo, en conjunto con núcleos corticales, provoca una reorganización del engrama de la memoria. Es decir, esta reorganización permite que una memoria que inicialmente dependía de la actividad del hipocampo se almacene en núcleos corticales, haciendo que el hipocampo no participe más en la recuperación de esta memoria (Lesburguères et al., 2011). Sin embargo, la recuperación de detalles contextuales de alguna memoria (refiriéndose a temporales y locales), requieren de la activación del hipocampo (Frankland & Bontempi, 2005; Sekeres et al., 2018).

La siguiente fase es la recuperación de una memoria y, por lo tanto, es dependiente de la formación óptima de la memoria en las etapas de adquisición y consolidación (Figura 2; Nyberg, L., 2017). Anteriormente se consideraba que cuando una memoria no podía ser recuperada con las claves contextuales que la habían formado, estaba perdida, por alguna perturbación ocurrida en la adquisición o en la consolidación. Sin embargo, Tulving & Pearlstone propusieron que la memoria pudiera estar disponible pero no accesible (Tulving & Pearlstone, 1966). En este sentido, la administración de un inhibidor de la síntesis de proteínas inmediatamente después de la formación de la memoria previene la recuperación de la memoria (Ryan et al., 2015). Sin embargo, la activación con optogenética de los ensambles neuronales asociados a esta memoria permitía la recuperación de la memoria, incluso ante la administración de un inhibidor de la síntesis de proteínas (Ryan et al., 2015). Asimismo, en modelos animales para la Enfermedad de Alzheimer (Roy et al., 2016), amnesia infantil (Guskjolen et al., 2018) y privación de sueño (Bolsius et al., 2023), la activación de ensambles neuronales formados durante la adquisición permite la recuperación de memorias que se consideraban perdidas. Esta evidencia indica que las memorias están disponibles pero que ciertas condiciones cerebrales o enfermedades neurodegenerativas pueden afectar su accesibilidad (Figura 1). En conclusión, se puede recuperar la memoria bajo condiciones artificiales con la reactivación de los ensambles neuronales formados durante la adquisición con optogenética. (Figura 2; Frankland et al., 2019). Por lo que, se postula que la activación de los ensambles neuronales es suficiente para recuperar una memoria, pero hasta ahora se desconoce cuáles son las propiedades intrínsecas de las neuronas que forman el engrama de la memoria.

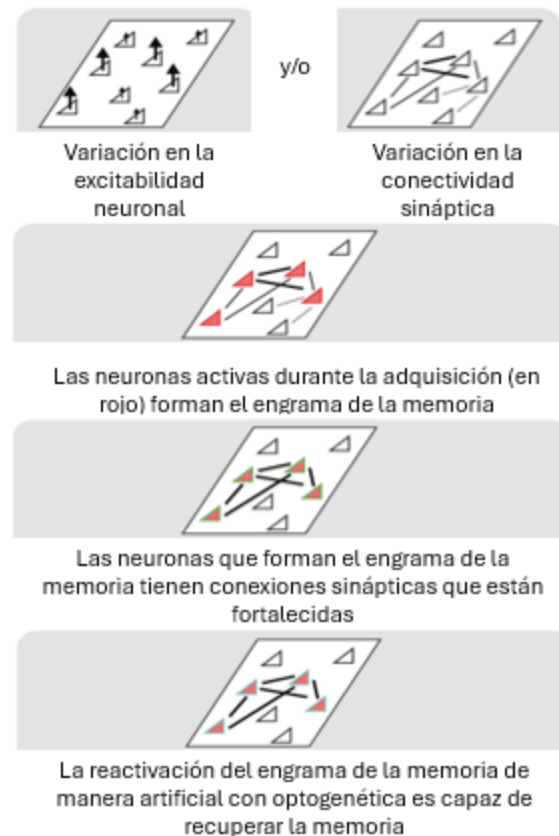


Figura 2. Formación de la memoria. Procesos que afectan la asignación de la memoria, que incluye la excitabilidad neuronal y la conectividad sináptica. Durante la adquisición de la memoria se lleva a cabo la activación de los ensambles neuronales. Posteriormente en la consolidación las conexiones entre las neuronas de un ensamble neuronal se fortalecen. Finalmente, la reactivación del ensamble neuronal formado recupera una memoria (Tomada de Guskjolen & Cembrowski, 2023).

Hipocampo

Desde 1953 el caso de H.M. ha aportado mucho al entendimiento de la memoria. El paciente H.M. sufría de fuertes crisis epilépticas, por lo que los médicos decidieron remover de manera bilateral el lóbulo temporal medio (región cerebral, que incluye el hipocampo y las cortezas entorrinal, perirrenal y parahipocampal). Después de la cirugía, el paciente fue incapaz de formar nuevas memorias (Corkin, 2002). El caso del paciente H.M. permitió identificar el papel del hipocampo en el procesamiento de la memoria. Posteriormente, en 1971 John O'Keefe y Jonathan Dostrovsky identificaron a las “células de lugar”, que son neuronas que aumentan su tasa de disparo en un lugar específico (O'Keefe y Dostrovsky, 1971). Las “células de lugar” tienen la capacidad de cambiar el lugar en el espacio en donde su tasa de disparo aumenta, lo cual se conoce como “remapeo”. Generalmente, las células de lugar se “remapean” en la codificación de un espacio nuevo o algún cambio en algún espacio previamente codificado (Buzsáki & Moser, 2012). Asimismo, se han identificado las “células rejilla” en la corteza entorrinal, que integran información sobre distancias y volumen en el espacio (Moser et al., 2015).

El hipocampo es una estructura cerebral que se extiende desde el núcleo septal hacia la corteza temporal, de manera ventro-caudal. El hipocampo incluye el giro dentado (DG) y las capas del *cornu ammonis*, CA1, CA2, CA3. Se sabe que la corteza entorrinal manda proyecciones de la capa II y III al DG. Por otro lado, el DG manda proyecciones hacia CA3. CA3 se caracteriza por tener una conectividad recurrente, es decir las células de CA3 proyectan hacia otras células de CA3. Además, CA3 manda sus proyecciones por las colaterales de Schaffer hacia CA1. CA1 manda proyecciones al subículo y a la corteza entorrinal. La principal entrada de la corteza al hipocampo es la vía perforante desde la corteza entorrinal (Figura 3; Vago et al., 2014). La corteza entorrinal envía información sensorial al hipocampo a través de la vía perforante. Esta información incluye señales espaciales de las células rejilla, las células que envían información sobre la dirección de la cabeza (Moser et al., 2015). El hipocampo utiliza esta información para generar mapas espaciales. La interacción entre estas áreas cerebrales es crucial para la codificación, consolidación y recuperación de la información espacial (Buzsáki & Moser, 2012).

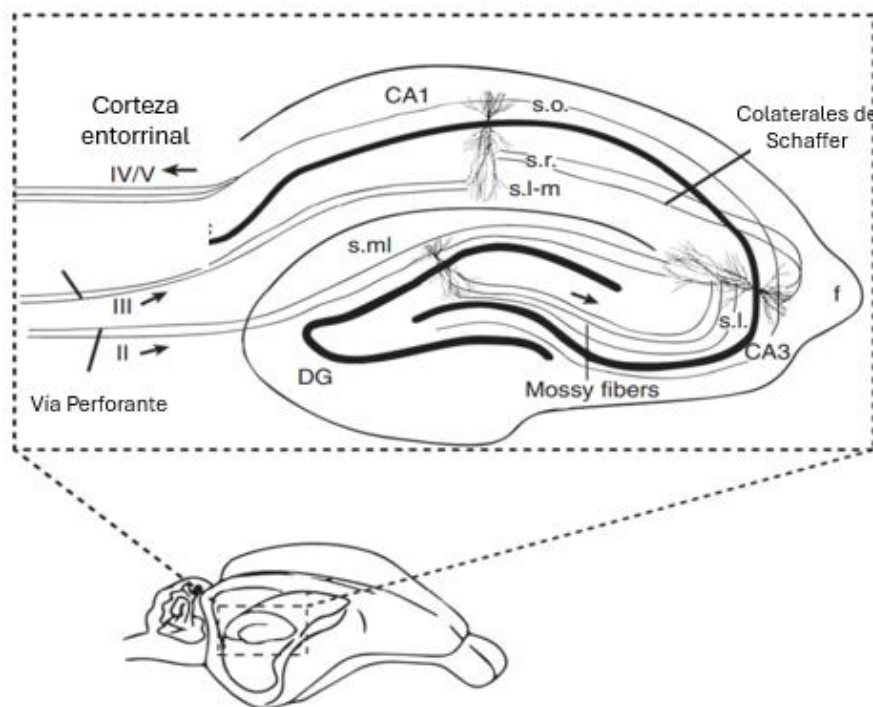


Figura 3. Esquema del hipocampo de roedor (Tomada de Vago et al., 2014). DG, Giro Dentado, s.o., stratum oriens, s.r., stratum radiatum, s.l.m., stratum lacunosum moleculare, CA1, Cornu Ammonis 1 y CA3, Cornu Ammonis 3.

Banda Theta

El ritmo theta en el dorso del hipocampo es la banda que oscila entre 4 y 8 Hz. La banda theta está relacionada con funciones cognitivas como la orientación espacial, memoria y aprendizaje (Buzsaki G, 2002; Nuñez & Buño, 2021). Las neuronas glutamatérgicas, colinérgicas y GABAérgicas provenientes del septum, la Banda Diagonal, CA3 y la corteza entorrinal son los principales generadores del ritmo theta que se registra en el hipocampo

dorsal (Buzsaki G, 2002; Nuñez & Buño, 2021). El septum envía proyecciones colinérgicas y GABAérgicas al hipocampo. La acetilcolina modula la excitabilidad de las neuronas hipocámpales y facilita la sincronización de las oscilaciones theta. Respecto a las proyecciones GABAérgicas, éstas pueden inhibir o sincronizar la actividad neuronal en el hipocampo, contribuyendo igualmente a la generación de ritmos theta (Buzsaki G, 2002). La actividad neuronal de las células piramidales de la región stratum oriens en CA1 se acopla con la fase de la banda theta producida por el septum. Por ejemplo, ciertas neuronas pueden disparar preferentemente durante la fase ascendente o descendente de la onda theta. Por lo que el acoplamiento de las neuronas piramidales de CA1 en la fase descendente se asocia con un proceso de recuperación de alguna memoria espacial. Mientras que el acoplamiento de las neuronas piramidales de CA1 durante la fase ascendente de la banda theta se asocia con el proceso de adquisición de una memoria espacial (Manns et al., 2007). Las oscilaciones theta en el hipocampo están estrechamente relacionadas con la navegación y la memoria espacial.

Potenciación a Largo Plazo (LTP)

La LTP es un mecanismo de plasticidad sináptica que se caracteriza por el aumento en la conexión sináptica entre dos neuronas como consecuencia de una estimulación eléctrica de alta frecuencia. La LTP es específica, ya que se ha demostrado que solo se aumenta la fuerza sináptica entre las sinapsis que fueron estimuladas. Es asociativa, ya que una estimulación débil de la pre-sinapsis induce la LTP si al mismo tiempo se despolariza la post-sinapsis. Asimismo, es cooperativa, la estimulación débil de una sinapsis pareada con la estimulación fuerte de otra sinapsis induce la LTP. Por esta razón, la LTP ha sido asociada con procesos de memoria y aprendizaje (Cobar et al., 2016).

La potenciación entre las sinapsis entre las neuronas de CA3 y el hipocampo dorsal, así como entre la corteza entorrinal y CA1, son cruciales para la plasticidad sináptica, el aprendizaje y la memoria. La estimulación de alta frecuencia de los axones de CA3 provoca una despolarización en las neuronas de CA1. Igualmente, la estimulación de alta frecuencia de los axones de las neuronas de la corteza entorrinal provoca una despolarización en las neuronas de CA1. La vía de CA3-CA1 es importante para la formación y consolidación de la memoria espacial. Mientras, que la vía de la corteza entorrinal-CA1 es fundamental para la integración de información sensorial.

Dopamina y memoria espacial

La dopamina en el hipocampo dorsal modula la formación de memorias espaciales. Las dos principales fuentes de dopamina en el dorso del hipocampo (CA1), son el Área Tegmental Ventral (VTA) y el Locus Coeruleus (LC; Figura 4). En este sentido, se sabe que la administración de un antagonista de los receptores tipo D1 en el hipocampo dorsal, antes de la adquisición, afecta la recuperación de una memoria espacial 6 horas después, pero no su recuperación 20 minutos después (O'Carroll et al., 2006). Por lo que la administración de un antagonista de los receptores dopaminérgicos tipo D1 en la adquisición de una memoria

espacial afecta la expresión de una memoria a largo plazo sin influir en la expresión a corto plazo (Broussard et al., 2016). En este sentido, la administración sistémica de un agonista de los receptores dopaminérgicos tipo D1 aumenta la retención de una memoria de largo plazo (Broussard et al., 2016). Asimismo, la liberación de dopamina en el hipocampo dorsal causada por la estimulación del LC promueve que una memoria de corto plazo se transforme en una memoria de largo plazo (Kempadoo et al., 2016). Igualmente, la fotoestimulación con optogenética de la vía VTA-CA1 durante la adquisición de una memoria espacial asociada a una recompensa promueve la retención de esta memoria (McNamara et al., 2014). Además, durante la consolidación, la administración de un antagonista dopaminérgico en el hipocampo dorsal hace que una memoria que se expresaba a largo plazo solo se exprese a corto plazo (Rossato et al., 2009). Por el contrario, la activación de los receptores dopaminérgicos tipo D1 permite que una memoria de corto plazo se transforme en una de largo plazo (Rossato et al., 2009).

Por otro lado, se sabe que la novedad aumenta la actividad en el VTA (Lisman & Grace, 2005) y en el LC (Takeuchi et al., 2016). Por lo que, se ha propuesto que la exposición a la novedad aumenta la retención de una memoria y que este efecto es modulado por el sistema dopaminérgico en el hipocampo (Duszkiewicz et al., 2019). En conclusión, un aumento de la dopamina en el dorso del hipocampo promueve la retención de la memoria, transformándola de una memoria de corto plazo a una memoria de largo plazo.

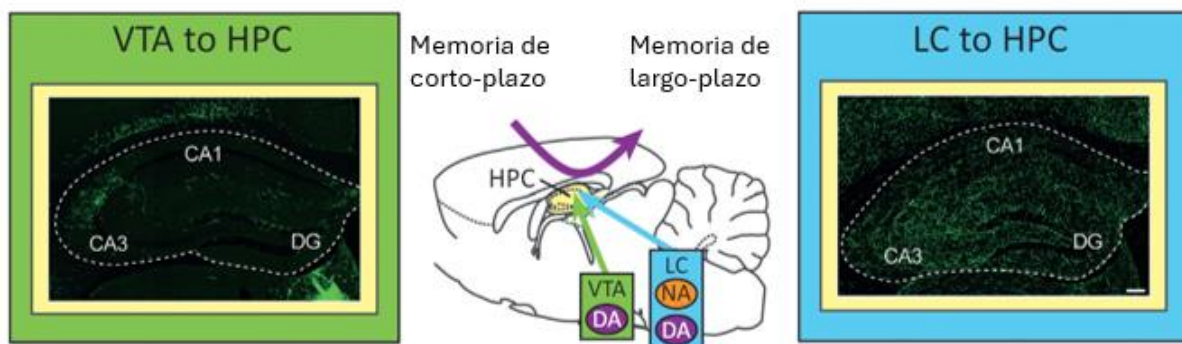


Figura 4. Innervación hacia el dorso del hipocampo desde el VTA y el LC. Un aumento de la liberación de dopamina en el dorso del hipocampo provoca que una memoria de corto plazo se transforme en una memoria de largo plazo. En la micrografía se puede observar la administración de un virus que marca en verde las proyecciones que provienen del VTA positivas a Th en el hipocampo de ratón (izquierda). Igualmente se administró un virus para marcar todas las protecciones positivas a Th provenientes del LC en el hipocampo (derecha). Además, el LC co-libera dopamina y noradrenalina (Tomado de Duszkiewicz et al., 2019).

Sistema Dopaminérgico en el hipocampo dorsal

La dopamina actúa en los receptores dopaminérgicos que están acoplados a proteínas G. Los receptores dopaminérgicos de tipo D1 se encuentran acoplados a $G_{\alpha s/olf}$ y activan la adenil ciclasa, que aumenta la expresión de cAMP, que a su vez aumenta la actividad de la PKA que finalmente aumenta la transcripción nuclear. En contraste, los receptores dopaminérgicos tipo D2 están acoplados a proteínas $G_{\alpha i,o}$ que inhiben la adenil ciclasa y por lo tanto disminuyen la expresión de cAMP (Klein et al., 2019).

Se ha propuesto que la distribución de receptores dopaminérgicos de tipo D1 en el hipocampo dorsal se encuentra en su mayoría en interneuronas GABAérgicas (Puighermanal et al., 2017). Asimismo, también se expresan receptores heterodímeros conformados por receptores de tipo D1 y tipo D2 (Puighermanal et al., 2017). Estos heterodímeros están acoplados a proteínas $G\alpha_q$, que aumentan la actividad de la fosfolipasa C, que aumenta la liberación de calcio intracelular y aumenta la actividad de la PKC. La regulación del sistema dopaminérgico es compleja y se ha demostrado que las terminales dopaminérgicas co-liberan junto con dopamina glutamato, GABA y noradrenalina (Tecuapetla et al., 2010; Ntamati y Luscher, 2016; Kempadoo et al., 2016). Y esta co-liberación participa en la modulación de diferentes procesos de memoria y aprendizaje (Eskenazi et al., 2021).

La dopamina modula la actividad sináptica en el hipocampo dorsal

La dopamina es un neuromodulador que regula la actividad neuronal y sináptica. En 1990 Frey y colaboradores, determinaron que la exposición de rebanadas hipocampales a antagonistas dopaminérgicos afectaba el mantenimiento de la LTP (Frey et al., 1990). En adición, demostraron que el protocolo de estimulación a alta frecuencia para la expresión de la LTP inducía la liberación de dopamina (Frey et al., 1990). La exposición de rebanadas del hipocampo a dopamina inhibe la inducción de la LTP con estimulación de alta frecuencia de la entrada de la corteza entorrinal al hipocampo dorsal. El hipocampo se ha dividido en dorsal y ventral dependiendo si queda en la región dorso-rostral del animal o caudo-ventral, tanto el hipocampo en su porción dorsal o ventral incluye a GD, CA1 y CA3 (Otmakhova y Lisman, 1998). Por el contrario, la exposición de rebanadas del hipocampo a dopamina aumenta la inducción de la LTP con estimulación de alta frecuencia de CA3 a CA1 en la capa de *stratum lacunosum-moleculare* (Otmakhova y Lisman, 1998). En este sentido, se sabe que la inhibición de la liberación de dopamina que proviene del LC en el hipocampo dorsal, impide la inducción de la LTP en la vía CA3 a CA1 (Gálvez-Marquéz et al., 2022). Por otro lado, la regulación del sistema dopaminérgico es compleja y se ha demostrado que las terminales dopaminérgicas co-liberan dopamina con glutamato, GABA y por otro lado las terminales noradrenérgicas también co-liberan dopamina y noradrenalina (Tecuapetla et al., 2010; Ntamati y Luscher, 2016; Kempadoo et al., 2016). Y se propone que esta co-liberación podría estar participando en la modulación de diferentes procesos de memoria y aprendizaje (Eskenazi et al., 2021; Tsetsenis et al., 2021; Tsetsenis et al., 2022).

Atractores

En el contexto de las neurociencias, un atractor se define como el conjunto de ensambles neuronales hacia los cuales tiende a evolucionar la dinámica de la población neuronal. Por lo tanto, un atractor se puede usar para modelar funciones cerebrales como la memoria (Miller, 2016). Los atractores pueden representar memorias porque pueden mantenerse estables incluso en ausencia de la entrada de información que los originó; tienen la capacidad de establecer un nuevo patrón de actividad neuronal asociado con información nueva; y cuando se presenta un componente de la memoria que lo formó, la actividad neuronal se sesga hacia

ese atractor, facilitando la recuperación de una memoria. Además, un sistema puede estar compuesto por varios atractores, lo cual otorga al cerebro un gran poder de almacenamiento de memoria (Miller P. 2016; Khona y Fiete, 2022).

En este contexto, Monasson y Rosay proponen un modelo basado en atractores, para explicar cómo codificamos varios espacios y como coexisten sus representaciones mentales, analizando cómo interactúan entre sí. Por lo tanto, los atractores dependen de patrones de actividad de grupos específicos de neuronas y podrían representar el número de espacios para los que un grupo de neuronas aumenta su tasa de disparo (Monasson y Rosay, 2013).

Planteamiento del Problema

Un aumento de dopamina en el hipocampo se ha relacionado con la mejora del desempeño cognitivo. En este sentido la elevación de la dopamina en el hipocampo causada por la exposición a la novedad ha sido propuesta como una estrategia para mejorar la memoria, basada en la evidencia de que los eventos novedosos crean recuerdos vívidos que perduran durante mucho tiempo. Por otro lado, niveles hiperdopaminérgicos pudieran estar asociados con la formación de memorias mal adaptativas, como la retención de memorias traumáticas.

No obstante, se desconoce cuál es el efecto del aumento de dopamina en el hipocampo dorsal tanto en una OLM-débil como en una OLM-fuerte. Por lo que, en el presente trabajo se analizó cuál era el efecto de aumentar la dopamina en el dorso del hipocampo en el desempeño de la OLM, de acuerdo con dos factores importantes en la formación de la memoria: la fase de la memoria y el tiempo de adquisición. Para esto se usó el compuesto enjaulado, Rubi-Dopa, que permite liberar dopamina con alta precisión espacio-temporal.

Objetivo

Determinar el efecto del aumento de dopamina en el hipocampo dorsal en la modulación de memorias espaciales débiles y fuertes durante la adquisición, consolidación y recuperación de la memoria.

Objetivos particulares

- Determinar si la estimulación óptica de la molécula de Rubi-Dopa provoca un aumento de dopamina en el hipocampo dorsal.
- Verificar que un tiempo de adquisición de 5 minutos en la prueba de OLM establece una memoria débil, es decir que no puede ser recuperada 24 horas después.
- Evaluar si el protocolo de la OLM-débil con un tiempo de adquisición de 5 cinco minutos puede ser recuperada 1 hora después de la adquisición.
- Verificar si un tiempo de adquisición de 10 minutos en la prueba de OLM establece una memoria fuerte, que puede ser recuperada un día después.
- Determinar si el protocolo de la OLM-fuerte permite recuperar una memoria cinco días después a la adquisición.
- Determinar si el aumento de dopamina en el dorso del hipocampo durante la adquisición modula una OLM-débil y una OLM-fuerte.
- Establecer la dependencia de la activación de los receptores dopaminérgicos tipo D1, mediante la administración intra-hipocampal de un antagonista a los receptores dopaminérgicos de tipo D1, anterior al desenjaulamiento de dopamina en el dorso del hipocampo, en una OLM-débil y una OLM-fuerte.
- Posterior a 1 y 3 horas de la adquisición en el protocolo de la OLM-débil desenjaular dopamina en el dorso del hipocampo y evaluar el desempeño en la OLM.
- Posterior a 1 y 3 horas de la adquisición en el protocolo de la OLM-fuerte desenjaular dopamina en el dorso del hipocampo y evaluar el desempeño en la OLM.
- Evaluar el efecto del aumento de dopamina en el dorso del hipocampo durante la fase de recuperación, es decir donde uno de los objetos es cambiado de localización, de una OLM débil y fuerte.

Hipótesis

El aumento de dopamina en el dorso del hipocampo utilizando foto-farmacología modulará la recuperación de memorias espaciales débiles y fuertes en función de la fase de la memoria.

Metodología

En los experimentos presentados se utilizaron ratones macho de la cepa C57BL/6 de 3-4 meses (n=91). El Comité de Ética en Investigación del Instituto de Neurobiología de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) aprobó todos los procedimientos experimentales (Protocolo 130.A), siguiendo la legislación mexicana vigente NOM-062-ZOO-1999.

-Cirugía

Los ratones se colocaron en un estereotáxico con un adaptador de ratón y se mantuvieron bajo anestesia con isoflurano al 0,5%. Se implantó una cánula guía de microdiálisis (CMA/7 Microdiálisis, Solna, Suecia) o dos cánulas de calibre 22 (5 mm) en CA1 del hipocampo (DV -1,4 mm; AP 2,5; ML +/- 1,5, para microdiálisis la cánula fue insertada con un ángulo de 25° y asegurada con acrílico dental.

-Microdiálisis en el hipocampo dorsal

Se insertó una membrana de microdiálisis de 1 mm (CMA/7 Microdialysis, Solna, Suecia) en la cánula guía implantada en el hipocampo. La solución de Ringer MgCl₂ 12mM, NaCl 1.44 M, CaCl₂ 17 mM and KCl 48 mM) se perfundió con una bomba de microinfusión a 0,25 µL/min. Después de una hora de estabilización, se tomó una muestra basal (0hr). Después de 1 hora, se administró 1 µL de Rubi-Dopa (300 µM) a 0,25 µL/min. La estimulación óptica para la liberación de dopamina se realizó a través de un LED con una longitud de onda de 470 nm, acoplado a una fibra óptica y un generador de funciones digital (20 min, 20 Hz, 1000 mA, ciclo de trabajo 20 %, potencia promedio 4). Se tomó una muestra posterior a 1 hora de la administración/estimulación de la Rubi-Dopa. Las muestras se recolectaron en un vial que contenía una mezcla antioxidante (Ácido Ascórbico 25 mM, Na₂EDTA 27 mM, and Ácido Acético 1 M) y se almacenaron a -80 °C.

-Análisis de neurotransmisores por Electroforesis Capilar

Las muestras de líquido extracelular obtenidas por microdiálisis se modificaron molecularmente o se derivatizaron con 6µL 5-furoil quinolina-3-carbaldehído (FQ 16.67 mM, Molecular Probes; Invitrogen, USA), esta modificación molecular les permitió a las moléculas presentes en la muestra fluorescer. La reacción fue catalizada por un nucleófilo, en este caso 2µL KCN (24.5 mM) disuelto en un buffer de boratos (10 mM pH 9.2). Además, se añadió 1µL de un estándar interno (0.075 mM, O-methyl-L-threonine; Fluka, USA), que no está presente en muestras biológicas, permitiendo monitorear la reacción. Esta mezcla se incubó a 65°C por 15 minutos. Se usó un equipo de electroforesis capilar acoplado a un detector de

fluorescencia inducido por láser de argón a 488 nm (Beckman-Coulter PACE/MDQ, Glycoprotein System CA, EE. UU.), con el método de cromatografía electrocinética micelar. La mezcla se inyectó en un capilar hidrodinámicamente 0.5 psi por 5s. La separación ocurrió en un buffer (Boratos 35 mM, sodio dodecil sulfato 25 mM, y 13% metanol grado HPLC, pH 9.6) a 20 kV. Se obtuvieron electroferogramas que fueron analizados con el software 32Karat TM8.0 software (Beckman Coulter, USA). Los neurotransmisores fueron identificados con sus estándares de referencia y comparando el área bajo la curva se obtuvo la concentración (Guzmán-Ramos et al., 2010; Moreno-Castilla et al., 2016; 2017; Gálvez-Márquez, et al., 2022).

-Memoria de Localización de Objetos (OLM)

El protocolo Memoria de Localización de Objetos (OLM) se realizó de 10:00 a 14:00 horas durante la fase de sueño de los animales. Después de una semana de recuperación de la cirugía, los animales fueron habituados a la arena durante 10 minutos en 3 períodos separados por un día. La arena consistía en una caja de acrílico en forma de cilindro de 30 cm de diámetro y 50 cm de altura, donde se colocaba una clave contextual a 5 cm de la base del cilindro y la arena se llenaba de aserrín aproximadamente 2 cm de grosor. Un día después los animales entraron a la fase de adquisición donde se colocaron dos objetos (que eran frascos Gerber) de aproximadamente 5 cm de largo, 4 cm de ancho y 4 cm de altura, en la misma localización con respecto a la clave contextual, es decir localización 1 (L1) y localización 2 (L2), a 7 cm de la clave contextual dejando una separación entre cada objeto de 7 cm. Posteriormente, durante la fase de recuperación se usaron los mismos objetos solo que uno de ellos es cambiado de localización, desplazándolo 7 cm de su posición horizontal en el plano vertical respecto a la clave contextual. Por lo que los objetos se renombran en: el objeto en la localización familiar (LF) y el objeto en la localización novedosa (LN). En el caso del protocolo de memoria débil, OLM-débil, se dio un tiempo de adquisición de 5 minutos (min) y para el protocolo de memoria fuerte, OLM-fuerte, 10 min de adquisición. Veinticuatro horas después de la adquisición, en la recuperación, se mueve uno de los objetos y los animales exploran durante 5 minutos. Los periodos de Adquisición y Recuperación fueron videograbados para determinar el Índice de Reconocimiento. Durante la fase de estudio (adquisición, posterior a la adquisición o recuperación) se administró 0,5 µl de Rubi-Dopa a razón de 0,25 µl/min con bomba de inyección Hamilton y jeringa, en ambos hemisferios. La liberación controlada de dopamina se logró mediante un LED con una longitud de onda de 470 nm, acoplado a una fibra óptica y un generador de funciones digital (10 min, 20 Hz, 1000 mA, ciclo de trabajo 20 %).

-Determinación del Índice de Reconocimiento

Las sesiones de Entrenamiento y Recuperación fueron video-grabadas con cámara USB de uso comercial (640 × 360 píxeles, 30 Hz velocidad de adquisición). Las imágenes corresponden a una vista desde arriba de la arena para el protocolo de OLM. Todos los videos fueron recortados para entrenar una red neuronal en el DeepLabCut (DLC) versión 2.3.5 (Mathis et al., 2018). La arquitectura de la red MobileNet version 2 1.0 (Mathis et al., 2021), fue entrenada en una Windows 11 PC (Dell OptiPlex 7090 with Intel Core i7 CPU 2.90 GHz y 40 GB RAM) usando los parámetros del DLC. 740 marcos fueron marcados para el entrenamiento y se obtuvo un error de "test" de 2.54 y 4.26 píxeles después de 500k iteraciones. Para analizar los puntos que corresponden al cuerpo de los animales, la arena y los objetos, se escribieron scripts en MATLAB (MathWorks, Natick MA). Con la red neuronal se obtuvo la localización de la nariz de los animales y los objetos en todas las sesiones que

fueron videograbadas. Esta localización de la nariz se obtuvo en coordenadas “x” y “y” por cada marco, del video completo en formato “.csv” o tabla de Excel. Con esta tabla y con el script de MATLAB, se obtuvo la distancia de la nariz hacia los objetos en todo el video. Se consideró como exploración cuando la localización de la nariz estaba de 0 a 2 cm de alguno de los objetos. Es importante señalar que si se identificaba que la localización de la nariz se detectaba encima del área de los objetos no se consideró como exploración. El índice de reconocimiento fue obtenido cuantificando el número total de marcos que el animal exploraba el objeto LN entre el número total de marcos que el animal explora ambos objetos. Igualmente se obtuvo el índice de reconocimiento para el objeto en la LF, cuantificando el número total de marcos que el animal exploraba el LF entre el número total de marcos que el animal explora ambos objetos. Se presentó en forma de tabla el promedio del índice de reconocimiento para la fase de Adquisición para todos los experimentos. Con estos valores se concluyó que los animales no presentaron alguna preferencia por los objetos en la L1 y L2.

-Estadística

Todos los datos obtenidos fueron recolectados y tabulados en el software GraphPad Prism 6 ®. Se utilizó la Prueba pareada de los rangos con signo de Wilcoxon, para todos los experimentos de microdiálisis. Se usó la Prueba no pareada de suma de rangos de Wilcoxon para los experimentos de conducta. El nivel aceptado de valor de significación fue el valor de $p \leq 0,05$.

Resultados

Caracterización de la OLM débil y fuerte

Se ha demostrado que el paradigma de memoria de localización de objetos (OLM), es sensible a dos factores: al tiempo de adquisición y al intervalo de tiempo que se da entre la fase de adquisición y la fase de recuperación (Vogel-Ciernia & Wood, 2006). Por lo que, un tiempo de adquisición de 5 minutos y un intervalo de tiempo entre la adquisición y recuperación de 24 hrs, impide que los animales detecten un cambio contextual (Murai et al., 2009; Kempadoo et al., 2016). Por el contrario, un tiempo de adquisición de 5 minutos, pero un intervalo de tiempo entre la adquisición y la recuperación de 3 horas permite que un cambio en el espacio sea identificado (Murai et al., 2009). En el presente trabajo se replicó un protocolo para establecer una memoria débil, con una adquisición de 5 minutos y la fase de recuperación se estableció a 1 hora y a 24 horas después (Figura 5A). Este tiempo de adquisición no fue suficiente para que los animales exploraran más el objeto en la localización novedosa después de 24 hrs (Figura 5C, índice de reconocimiento para la localización novedosa después de 24 hrs: 52.47 ± 4.51). No obstante, en otro grupo de animales, se verificó que un entramiento de 5 minutos establece una OLM de corto plazo que puede ser recuperada 1 hora después (Figura 5; Murai et al., 2009). Se observó que el objeto en la localización novedosa presentaba un índice de reconocimiento significativamente mayor que el 50% (Figura 5C, índice de reconocimiento para la localización novedosa después de 1 hr: 59.00 ± 7.16). Por otro lado, la evidencia señala que un tiempo de entrenamiento de 10 minutos, establece una memoria fuerte, por lo que los animales exploran por más tiempo el objeto que es cambiado de localización 24 hrs después (Vogel-Ciernia & Wood, 2006; Kwapis

et al., 2019; Bolsius et al., 2023). Igualmente, se replicó el protocolo para establecer una memoria fuerte, con un tiempo de adquisición de 10 minutos, que puede ser recuperada 24 hrs después (Figura 5D). En este protocolo, los animales exploran más el objeto que es cambiado de localización, lo que quiere decir que detectan un cambio espacial (Figura 5F, índice de reconocimiento para la localización novedosa después de 24 hrs: 58.52 ± 7.16). Se desconocía, si esta memoria podía recuperarse días después. Por lo que, se dio un entrenamiento de 10 minutos y la fase de recuperación se dio 5 días después. En este caso los animales fueron incapaces de detectar un cambio espacial (Figura 5C, índice de reconocimiento para la localización novedosa después de 5 días: 51.82 ± 8.31). Con estos resultados se puede concluir que el tiempo que se da de adquisición determina si una memoria puede ser o no recuperada 24 horas después.

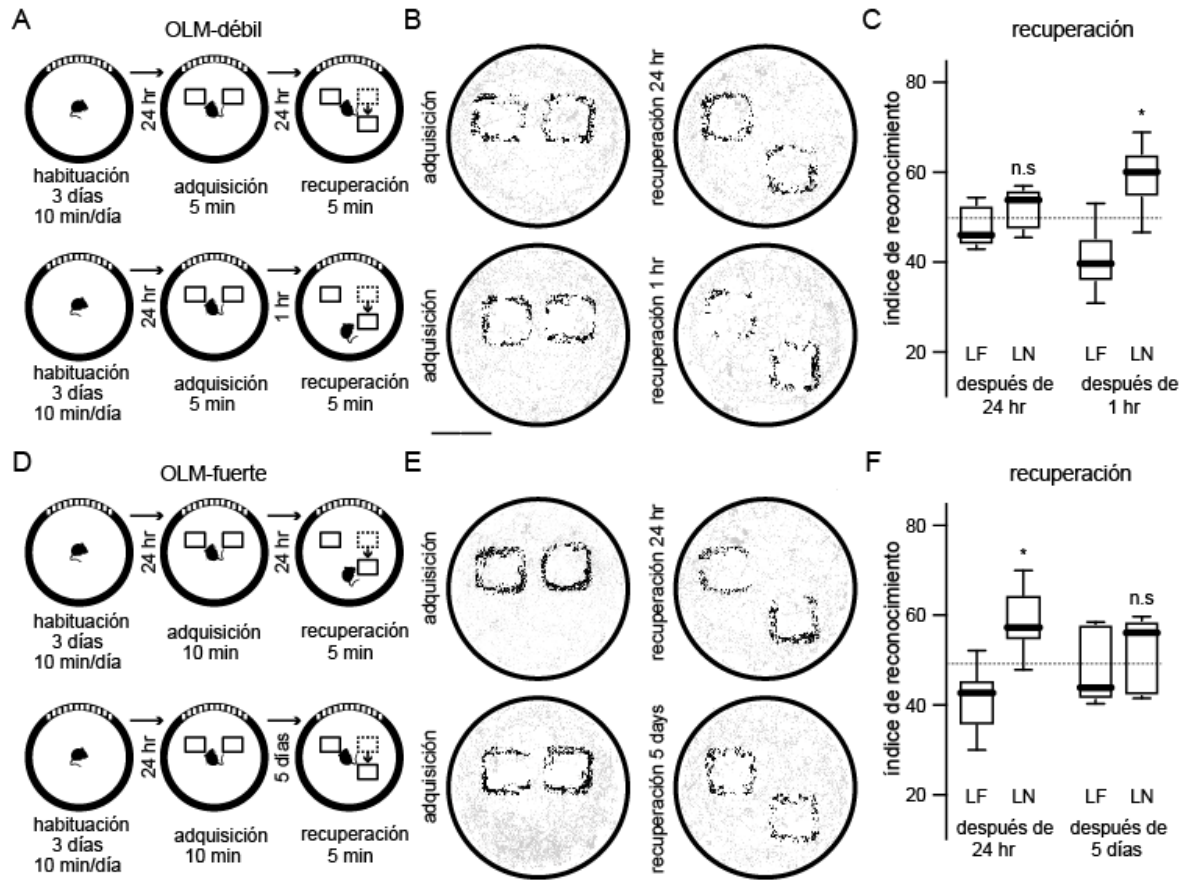


Figura 5. El tiempo de adquisición en la OLM determina la formación de una memoria débil o fuerte. **A.** Protocolo de OLM-débil con recuperación 24 hrs y una 1 hr después de la adquisición. **B.** Mapas espaciales representativas de la trayectoria de la nariz del ratón que se obtuvo de manera automática durante la adquisición y recuperación. Los puntos en gris representan la trayectoria que no se consideró como exploración de los objetos. Los puntos en negro representan la trayectoria que se consideró como exploración de los objetos. Escala: 10cm. **C.** Índice de Reconocimiento para el objeto en la localización familiar (LF) y el objeto en la localización novedosa (LN) durante la Recuperación a las 24 hrs ($p=0.2188$) indicando que el animal no identificó el cambio contextual, en contraste 1 hr después ($*p=0.0312$) la memoria contextual pudo ser recuperada. **D.** Protocolo de OLM-fuerte, con un periodo entre la adquisición y la recuperación de 24 hrs y 5 días. **E.** Trayectorias de la nariz representativas en la OLM-fuerte para ambos grupos experimentales. Escala: 10 cm. **F.** Índice de Reconocimiento durante la Recuperación 24 hrs ($*p=0.0312$) demuestra que la memoria se

puede recuperar, reflejado en que los animales exploran más el objeto en la LN, mientras que 5 días ($p=0.3750$) después la memoria no puede ser recuperada y los animales exploran ambos objetos por igual. Para todos los grupos experimentales se usó la prueba de suma de rangos de Wilcoxon ($n=7$ para cada grupo). Tomada de Velázquez-Delgado et al., 2024.

Aumento de la dopamina en el hipocampo dorsal durante la adquisición en la OLM-débil y la OLM-fuerte

Se determinaron los niveles extracelulares de dopamina y noradrenalina antes y después de la administración/estimulación óptica de Rubi-Dopa. Se utilizó un LED de 470 nm, con el cual se desenjauló dopamina de Rubi-Dopa (dopamina (basal; a.u.: 6.656 ± 2.206 ; dopamina después de 40 min del desenjaulamiento: 16.87 ± 3.02 ; $*p=0.0312$; $n=5$; Prueba de los rangos con signo de Wilcoxon), y este desenjaulamiento no afecta la transmisión de noradrenalina (noradrenalina (basal; a.u.: 4752 ± 2370 ; noradrenalina después de 40 min del desenjaulamiento: 4586 ± 2370 ; $p=0.3125$; $n=5$; Prueba de los rangos con signo de Wilcoxon). Estos resultados nos permiten concluir que la Rubi-Dopa nos permite aumentar la disposición de dopamina sin afectar la liberación de noradrenalina, como es el caso de la optogenética (Kempadoo et al., 2016; Galvéz-Márquez et al., 2022). Adicionalmente como control realizamos la administración/estimulación óptica de Rubi-Dopa pero la estimulación se realizó con un LED de 617 nm y cuantificamos los niveles extracelulares de dopamina (dopamina basal; a.u.): 2.672 ± 1.152 dopamina después de 40 min del desenjaulamiento: 3.248 ± 1.165 ; $p=0.3125$ (no es diferente del control); $n=5$; Prueba de los rangos con signo de Wilcoxon) y noradrenalina (noradrenalina basal; a.u.): 2348 ± 2464 ; noradrenalina después de 40 min del desenjaulamiento: 2369 ± 1589 ; $p=0.5$; $n=5$; Prueba de los rangos con signo de Wilcoxon). Estos resultados coinciden con otros trabajos donde se usa el compuesto enjaulado Rubi-Dopa y el desenjaulamiento ocurre con luz azul o verde, pero a mayores longitudes de onda como 617 nm el desenjaulamiento de dopamina no ocurre (Araya et al., 2013; Andino-Pavlovsky et al., 2017). Dichos resultados nos indican que la Rubi-Dopa se puede usar para desenjaular dopamina en el hipocampo dorsal con un protocolo de estimulación óptica y con un LED 470 nm.

Después de comprobar que con un LED de 470 nm y un protocolo de estimulación óptica se desenjaula efectivamente dopamina de Rubi-Dopa, se evaluó el efecto de un aumento de dopamina en el dorso del hipocampo durante la fase de adquisición. Se desenjauló dopamina de la molécula Rubi-Dopa 5 minutos antes de que los animales fueran expuestos a un protocolo de OLM-débil con un tiempo de adquisición de 5 minutos y 24 hrs después ocurrió la fase de Recuperación (Figura 6A). Un aumento de dopamina en el hipocampo dorsal permite que los animales exploren más el objeto que es cambiado de localización (Figura 6C, índice de reconocimiento para la localización novedosa después de 24 hrs: 60.28 ± 9.15) lo que muestra que un aumento de dopamina aumenta la retención de la OLM-débil. En otro grupo de animales se administró un antagonista a los receptores dopaminérgicos tipo D1 SCH23390 y posteriormente se desenjauló dopamina en el hipocampo dorsal antes de que los animales entrarán en la fase de adquisición, en el protocolo de la OLM-débil con una recuperación de 1 hora después (Figura 6A). En este experimento, los animales exploran más el objeto en la localización novedosa (Figura 6C, índice de reconocimiento para la localización novedosa después de 1 hr: 59.58 ± 8.78). Con estos resultados se puede concluir que la

memoria de corto plazo es independiente de la modulación de dopamina. En este sentido se ha demostrado que el antagonista a los receptores tipo D1 SCH23390 tiene una acción de hasta por 3 horas posterior a su administración (Epping-Jordan et al., 1998).

Posteriormente, se evaluó el efecto que tenía la liberación controlada de dopamina en el hipocampo dorsal en un protocolo que establece una OLM-fuerte con un tiempo de adquisición de 10 minutos y la fase de recuperación ocurrió 24 hrs después (Figura 6D). Se determinó que los animales no exploraron por más tiempo el objeto en la localización novedosa, por el contrario, exploraron por más tiempo el objeto en la localización familiar (Figura 6F, índice de reconocimiento para la localización familiar después de 24 hrs: 58.93 ± 8.18). Este efecto es dependiente de la activación de los receptores dopaminérgicos tipo D1 ya que posterior a la administración de un antagonista de los receptores dopaminérgicos tipo D1 el aumento de dopamina no promueve una mayor preferencia por el objeto en la localización familiar. Sin embargo, tampoco tiene preferencia por el objeto en la localización novedosa (Figura 6F, índice de reconocimiento para la localización novedosa después de 24 hrs: 50.56 ± 10.26). Estos resultados indican que el aumento de dopamina durante la adquisición de la OLM-fuerte produce su efecto principalmente a través de los receptores dopaminérgicos de tipo D1. Por otro lado, el bloqueo de estos receptores impide que la información espacial adquirida se retenga por 24 horas por lo cual los animales no pueden reconocer un cambio espacial (Figura 6F).

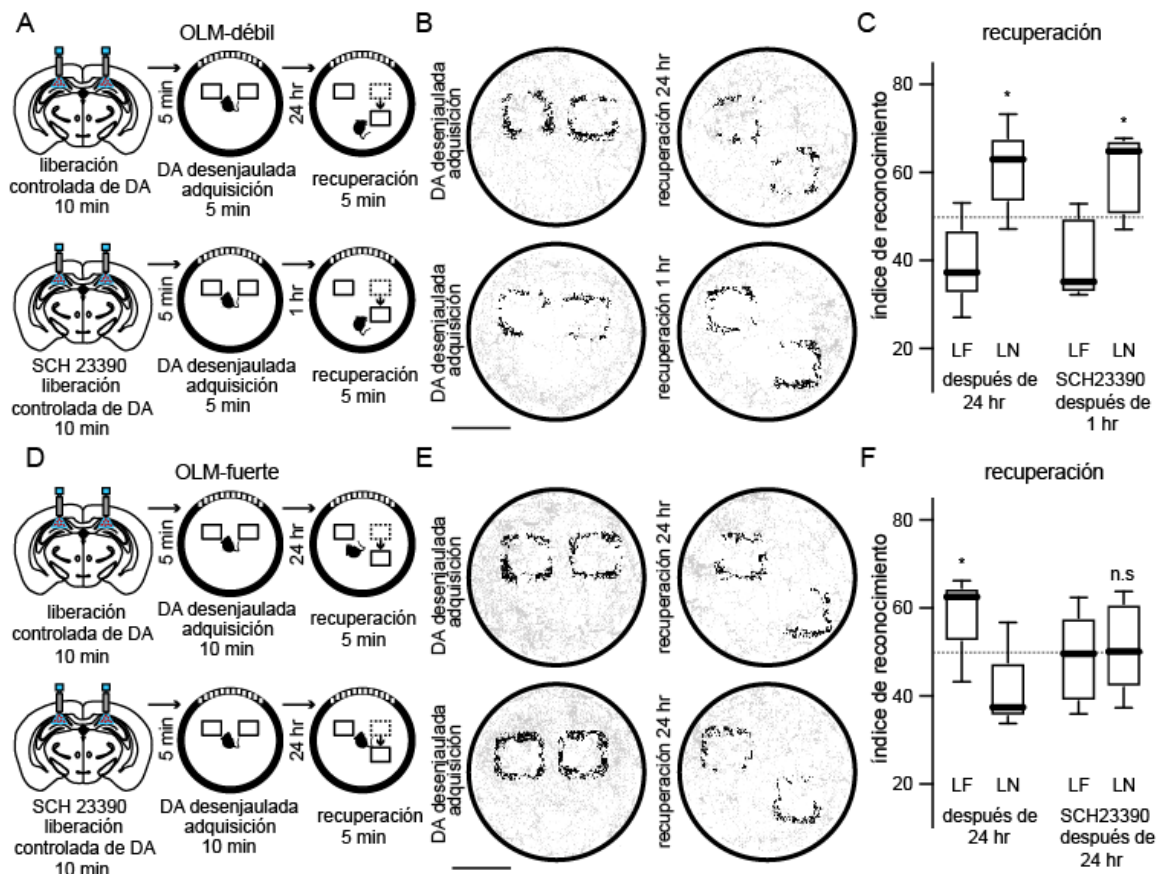


Figura 6. Aumento de dopamina en el dorso del hipocampo durante la Adquisición.

A. Protocolo de liberación controlada de dopamina en el hipocampo durante la adquisición en dos diferentes grupos. Grupo 1: recuperación 24 hrs después (arriba). Grupo 2: recuperación después de 1 hr, previa administración del antagonista a los receptores dopaminérgicos tipo D1 SCH 23390 (abajo). **B.** Trayectorias de la nariz de los animales en los grupos presentados

en A. Escala: 10 cm **C.** Los animales a los que se les elevó la DA durante la adquisición en un protocolo de OLM-débil exploraron más el objeto en LN (* $p=0.0312$) indicando que la dopamina contribuyó a la formación de una memoria a largo plazo que puede ser recuperada 24 hrs después. Por el contrario, después de una hora, la memoria se recuperó incluso después de la administración del inhibidor a receptores tipo D1 SCH 23390, sugiriendo que la memoria de corto plazo es independiente de la modulación dopaminérgica. **D.** Protocolo de OLM-fuerte y aumento de dopamina en el hipocampo durante la adquisición en dos diferentes grupos. Grupo 1: recuperación 24 hrs después (arriba). Grupo 2: recuperación después de 24 hrs, previa administración del antagonista a los receptores dopaminérgicos tipo D1 SCH 23390 (abajo). **E.** Trayectoria de la nariz de los animales representativas para los grupos descritos en D. Escala: 10 cm. **F.** Los animales exploraron más el objeto en la LF (* $p=0.0469$), indicando que la dopamina afectó la exploración del objeto en la LN. En contraste, la administración del SCH 23390 causó que los animales exploraran ambos objetos por igual ($p=0.09375$), reflejando que las memorias a largo plazo son dependientes de la modulación dopaminérgica. Para todos los grupos experimentales se usó la prueba de suma de rangos de Wilcoxon ($n=7$ para cada grupo). Tomada de Velázquez-Delgado et al., 2024.

Se aumentó dopamina en el dorso del hipocampo durante la adquisición en una memoria fuerte y se dio un intervalo de cinco días para la fase de Recuperación. Durante la recuperación 5 días después, el animal es capaz de recuperar el espacio familiar y detectar un cambio espacial, por lo que en esta fase el animal prefiere explorar por más tiempo el objeto que se cambió de localización (Figura 7; FL: 43.34 ± 6.38 , NL: 56.66 ± 6.38 ; * $p=0.0041$; Figura 7C). Esto nos permite concluir que un aumento de dopamina durante la fase de adquisición fija la memoria del contexto familiar permitiendo que perdure hasta 5 días, donde el animal puede recuperar la memoria y detectar que hubo un cambio en el espacio.

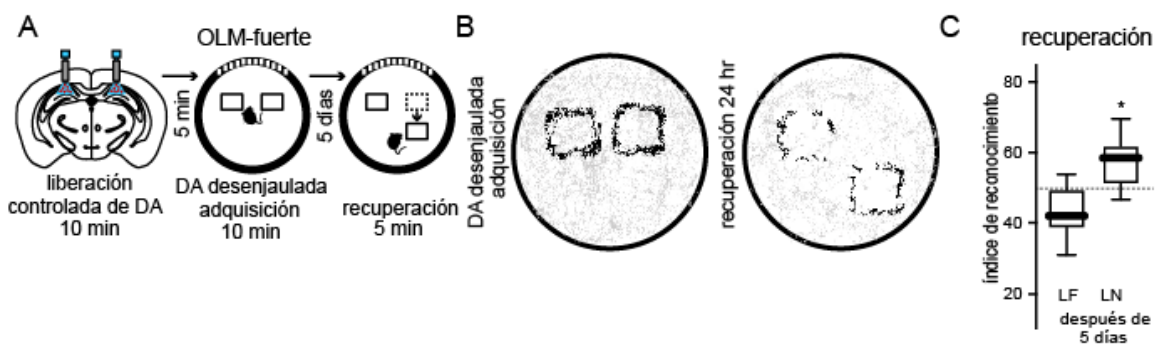


Figura 7. Aumento de dopamina en el dorso del hipocampo durante la Adquisición en la memoria fuerte permite su recuperación 5 días después. **A.** Protocolo de liberación controlada de dopamina en el hipocampo durante la adquisición en una OLM-fuerte y la fase de recuperación ocurre 5 días después. **B.** Trayectorias de la nariz de los animales en los grupos presentados en A. Escala: 10 cm **C.** Los animales exploraron más el objeto en la LN (* $p=0.0469$), indicando que la dopamina permite la recuperación de una memoria espacial 5 días después. Para todos los grupos experimentales se usó la prueba de suma de rangos de Wilcoxon ($n=7$ para cada grupo). Tomada de Velázquez-Delgado et al., 2024.

Adicionalmente, con el objetivo de verificar que los efectos observados en la Figura 6C no se debían a la administración del fármaco y la estimulación óptica, se administró solución salina y se aplicó la estimulación óptica, antes descrita (Figura 8A). Se observó que ni la

administración del vehículo ni la estimulación óptica tienen efecto sobre la OLM-débil (Figura 8B, C).

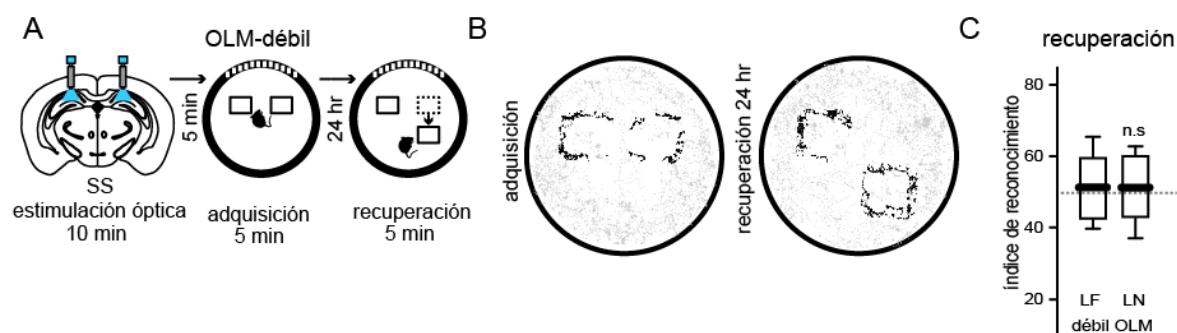


Figura 8. Administración de Solución Salina intrahipocampal de manera bilateral y estimulación óptica con el LED de 470 nm. **A.** Administración de solución salina intrahipocampal y estimulación óptica con el LED de 470 nm y protocolo de OLM-débil. **B.** Trayectorias de la nariz de los animales en los grupos presentados en A. Escala: 10 cm **C.** Los animales exploraron ambos objetos por igual ($p=0.9375$) reflejando que la estimulación óptica no tiene ningún efecto sobre la OLM-débil y que el efecto observado en la Figura 3C se debe al aumento de la dopamina en el dorso del hipocampo. Para todos los grupos experimentales se usó la prueba de suma de rangos de Wilcoxon ($n=7$ para cada grupo). Tomada de Velázquez-Delgado et al., 2024.

Un aumento de dopamina posterior a la adquisición impide que los animales exploren más el objeto en la localización novedosa en una OLM-fuerte

Los resultados anteriormente presentados sugieren que el aumento de dopamina después de la etapa de adquisición podría tener efectos diferentes dependiendo de si la memoria es fuerte o débil, ya que la formación de la memoria débil fue independiente de la activación de los receptores dopaminérgicos tipo D1. Por lo que, se aumentó la dopamina en el dorso del hipocampo, 1 hr y 3 hrs después de un protocolo que forma una OLM-débil (Figura 9A). Un aumento de dopamina 1 hr después de la adquisición no provoca que la memoria se recupere 24 hrs después (Figura 9C, índice de reconocimiento para la localización novedosa después de 1 hr de la adquisición se desajusta dopamina: 49.78 ± 7.48). Igualmente, un aumento de dopamina 3 hrs después de la adquisición no permite que el animal recupere una memoria débil 24 hrs después (Figura 9C, índice de reconocimiento para la localización novedosa después de 3 hrs de la adquisición se desajusta dopamina: 51.33 ± 14.08). En otros dos grupos de animales se evaluó un aumento de dopamina posterior a 1 hr y a 3 hrs después de la adquisición en una OLM fuerte (Figura 9D). Un aumento de dopamina posterior a 1 hr de la adquisición en una memoria fuerte impide que los animales exploren más el objeto que fue cambiado de localización (Figura 9F, índice de reconocimiento para la localización novedosa después de 1 hr de la adquisición se desajusta dopamina: 44.20 ± 5.55). Asimismo, un aumento de dopamina 3 hrs después de la adquisición en una OLM fuerte impide que los animales exploren más el objeto en la localización novedosa (Figura 9F, índice de reconocimiento para la localización novedosa después de 1 hr de la adquisición se desajusta

dopamina: 48.25 ± 8.02). Estos resultados sugieren que una elevación de dopamina en el dorso del hipocampo posterior a la adquisición modula principalmente las conexiones sinápticas recién formadas (Asok et al., 2019). En conclusión, un aumento de dopamina posterior a la adquisición en memorias de corto plazo no las afecta ya que son independientes de mecanismos dopaminérgicos. Por el contrario, un aumento de dopamina posterior a la adquisición impide que los animales exploren por más tiempo el objeto en la localización novedosa en un protocolo de la OLM-fuerte.

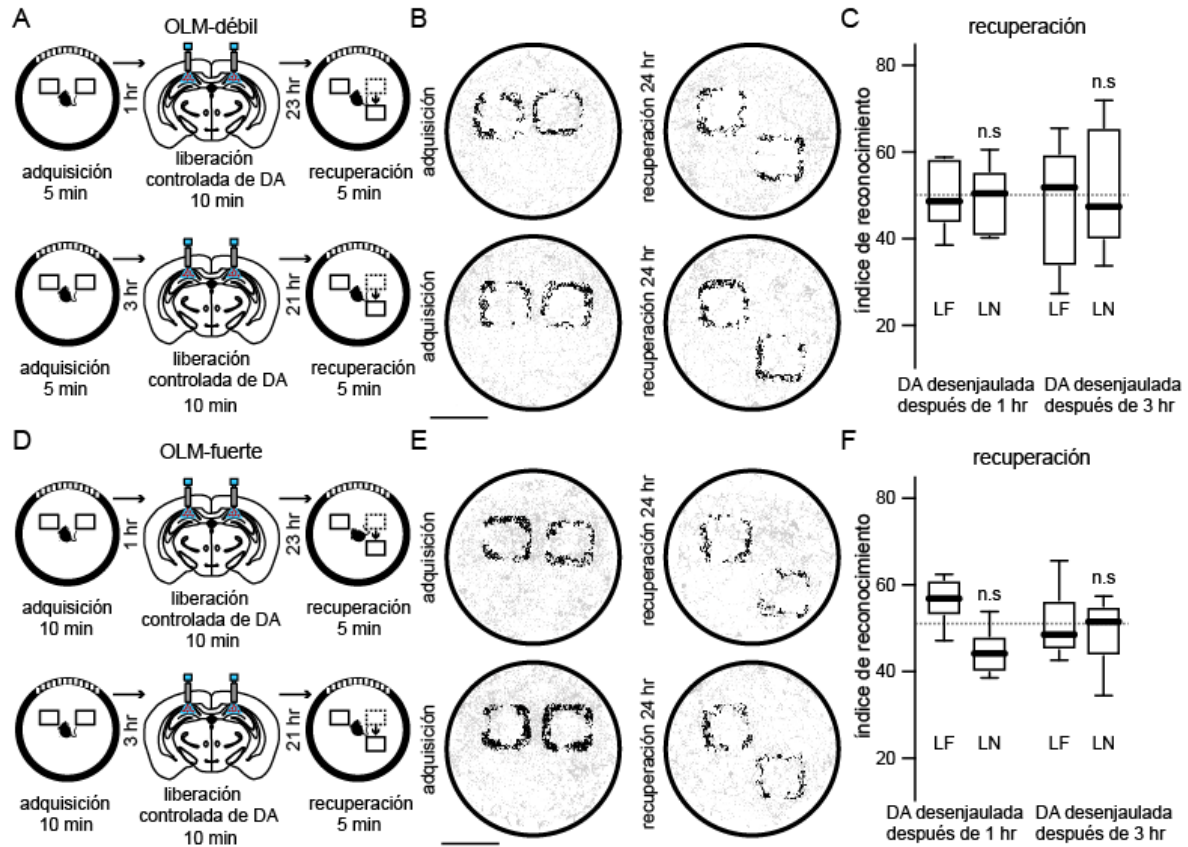


Figura 9. Aumento de dopamina en el dorso del hipocampo después de la adquisición de OLMs. **A.** Aumento de dopamina en el dorso del hipocampo 1 hr (arriba) y 3 hrs (abajo) después de la adquisición de una memoria débil. **B.** Trayectorias representativas de la nariz de los ratones. Escala: 10 cm. **C.** El aumento de dopamina 1 hr ($p=0.9999$) y 3 hrs después de la adquisición de una memoria débil ($p=0.9375$) no permite la recuperación de éstas 24 hrs después. **D.** Aumento de dopamina en el dorso del hipocampo 1 hr y 3 hrs después de la adquisición de una memoria fuerte. **E.** Trayectorias representativas de la nariz. Escala: 10 cm. **F.** El aumento de dopamina 1 hr ($p=0.0781$) y 3 hrs ($p=0.8125$) posterior a la adquisición impide la identificación de un cambio en el espacio en una memoria fuerte. Para todos los grupos experimentales se usó la prueba de suma de rangos de Wilcoxon ($n=7$ para cada grupo). Tomada de Velázquez-Delgado et al., 2024.

El aumento de dopamina en el hipocampo dorsal durante la fase de recuperación no modula ni la OLM-débil ni la OLM-fuerte

Se desenjauló dopamina en el dorso del hipocampo, en la OLM para evaluar su efecto durante la fase de recuperación en una OLM débil y fuerte (Figura 10A). Un aumento de dopamina en el dorso del hipocampo en la fase recuperación, no permite que una memoria débil pueda ser recuperada 24 hrs después (Figura 10C, índice de reconocimiento para la localización novedosa después de 24 hrs: 52.7 ± 7.42). Asimismo, el aumento de dopamina en el hipocampo durante la Recuperación en una memoria fuerte (Figura 10C), no tuvo efecto sobre la recuperación de la memoria por lo cual los animales exploraron más el objeto que es cambiado de localización, detectando un cambio espacial (Figura 10F, índice de reconocimiento para la localización novedosa después de 24 hrs: 60.09 ± 5.18). En conclusión, la liberación controlada de dopamina en la fase de Recuperación no tiene ningún efecto sobre la memoria espacial, ni en la memoria fuerte ni en la memoria débil.

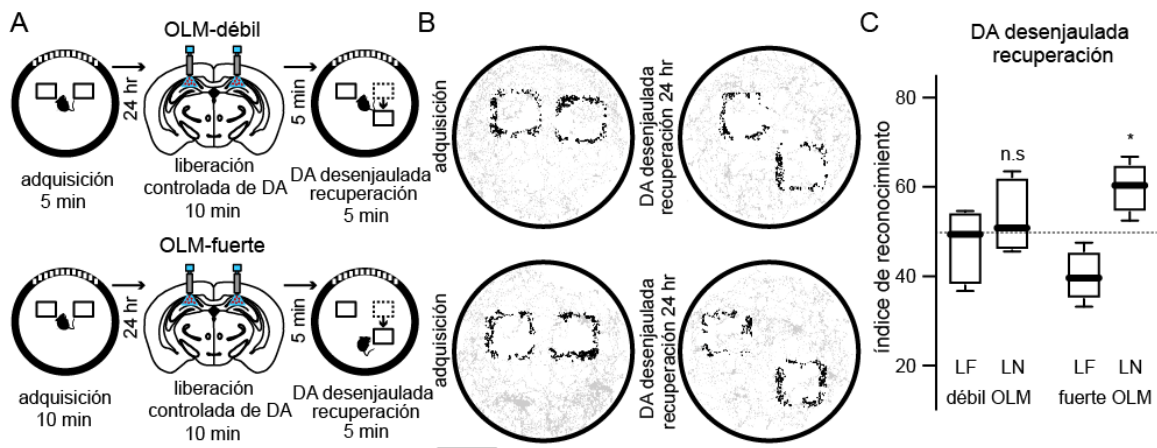


Figura 10. Aumento de dopamina en el dorso del hipocampo durante la Recuperación. **A.** Aumento de dopamina en el dorso del hipocampo durante la Recuperación en una memoria débil y en una memoria fuerte. **B.** Trayectorias representativas de la nariz. Escala: 10 cm. **C.** Un aumento de dopamina durante la recuperación no tiene ningún efecto, por lo que en una memoria débil los animales exploran ambos objetos por igual ($p=0.6875$) y en la memoria fuerte los animales siguen explorando por más tiempo el objeto en la LN ($*p=0.0156$). Para todos los grupos experimentales se usó la prueba de suma de rangos de Wilcoxon ($n=7$ para cada grupo). Tomada de Velázquez-Delgado et al., 2024.

Grupo	Localización 1	Localización 2
OLM-débil	51.98±5.267	48.02±5.267
OLM-débil recuperación 24 horas después	46.12±8.837	53.88±8.837
OLM-fuerte	50.50±4.824	49.50±4.824
OLM-fuerte recuperación 5 días después	48.87±4.432	51.13±4.432
OLM-débil Rubi-Dopa durante la adquisición	47.59±5.836	52.41±5.836
OLM-débil SCH+Rubi-Dopa durante la adquisición	49.26±3.020	50.74±3.020
OLM-fuerte Rubi-Dopa durante la adquisición	47.87±7.441	52.13±7.441
OLM-fuerte SCH+Rubi-Dopa durante la adquisición	50.54±5.378	49.46±5.378
OLM-fuerte Rubi-Dopa durante la adquisición y recuperación 5 días después	52.44±4.731	47.56±4.731
OLM-débil estimulación óptica con LED	54.15±6.488	45.85±6.488
OLM-débil Rubi-Dopa después de 1 hr de la adquisición	53.49±4.443	46.51±4.443
OLM-débil Rubi-Dopa después de 3 hr de la adquisición	50.37±4.623	49.63±4.623
OLM-fuerte Rubi-Dopa después de 1 hr de la adquisición	50.94±7.421	49.06±7.421
OLM-fuerte Rubi-Dopa después de 3 hr de la adquisición	52.19±2.070	47.81±2.070
OLM-débil Rubi-Dopa durante la recuperación	51.21±3.666	48.79±3.666
OLM-fuerte Rubi-Dopa durante la recuperación	51.16±3.549	47.79±3.549

Figura 11. Promedio y desviación estándar del Índice de Reconocimiento durante la fase de Adquisición para todos los experimentos.

Discusión

Nuestros experimentos demuestran que un aumento de dopamina en el dorso del hipocampo durante la adquisición de la OLM-débil y de la OLM-fuerte, generan efectos dicotómicos. Mientras que en el caso de la OLM-débil se retiene la memoria, mejorando el desempeño de los animales un día después, en el caso de la OLM-fuerte esta retención de la memoria causa que los animales prefieran el objeto en la localización familiar.

Modulación dopaminérgica de las memorias espaciales débiles

El paradigma de OLM se basa en la medición sistemática de la exploración de dos objetos conocidos en un ambiente familiar aprovechando la curiosidad de los ratones por explorar más los objetos que han sido movidos de lugar. Por lo que se espera que los animales exploren más el objeto en la localización novedosa. Se ha demostrado que manipulando el tiempo de adquisición del paradigma de OLM se puede establecer una memoria débil o fuerte. Es decir, con un tiempo de adquisición de 5 minutos, se establece una memoria débil, que 24 hrs después no puede ser recuperada (Murai et al., 2009; Vogel-Ciernia & Wood, 2014; Kempadoo et al., 2016; Velázquez-Delgado et al., 2024). Asimismo, la prueba de OLM es sensible al intervalo de tiempo que existe entre la adquisición y la recuperación (Murai et al., 2009). En la presente tesis, se estableció una OLM-débil con un tiempo de adquisición de 5 minutos (Figura 5A), se observó que esta memoria no podía ser recuperada un día más tarde, sin embargo, se sí podía ser recuperada 1 hora después (Figura 5C).

Además, se sabe que la dopamina inhibe la depotenciación de la LTP en el dorso del hipocampo lo cual podría entenderse como un aumento en la duración de las memorias (Otmakhova y Lisman, 1998). Se observó que un aumento de dopamina en el hipocampo dorsal permite que una OLM-débil pueda ser recuperada un día después (Figura 6C). En este trabajo también evaluamos el efecto de un aumento de dopamina 1 hora y 3 horas después de la adquisición de una memoria débil (Figura 9A). El aumento de dopamina en el dorso del

hipocampo 1 hora y 3 horas después de la adquisición no promueve la retención a largo plazo de la OLM-débil, reflejado en que los animales exploran ambos objetos por igual (Figura 9B, C). Por lo tanto, la dopamina tiene que aumentar durante la adquisición de la memoria débil para que se induzca la potenciación a largo plazo, que promueve que una memoria se retenga (Otmakhova y Lisman, 1996). Hasta ahora se desconocía si un aumento de dopamina durante la fase de recuperación podría rescatar una OLM-débil (Figura 10A). Los resultados de este trabajo muestran que un aumento de dopamina durante la fase de recuperación en un protocolo de OLM-débil fue incapaz de recuperar la memoria 24 horas después, lo cual se ve reflejado como la preferencia de ambos objetos por igual (Figura 10B, C). En conclusión, el aumento de dopamina en el hipocampo dorsal aumenta la retención de una OLM-débil a largo plazo únicamente cuando dicho aumento ocurre durante el proceso de adquisición.

Modulación dopaminérgica de memorias espaciales fuertes

Un tiempo de adquisición de 10 minutos permite establecer una OLM fuerte que se recupera un día después (Vogel-Ciernia & Wood, 2014; Bolsius et al., 2023; Velázquez-Delgado et al., 2024). En nuestros resultados se observa que un aumento de dopamina en el hipocampo dorsal durante la adquisición de una OLM-fuerte, provoca que los animales prefieran explorar el objeto ubicado en la localización familiar en lugar del objeto en la localización novedosa (Figura 6D, E, F). Este efecto es dependiente de la activación de los receptores dopaminérgicos tipo D1, ya que la administración de un antagonista a los receptores dopaminérgicos de tipo D1 revierte el efecto observado en la Figura 6F. Por otro lado, la preferencia por el objeto en la localización familiar en el protocolo de la OLM-fuerte observado en la Figura 6F, no se debe simplemente a un aumento de dopamina que comprometa la OLM-fuerte ya que este mismo aumento posibilita que esta memoria fuerte pueda ser recuperada cinco días después de la adquisición (Figura 7). El aumento de dopamina en el hipocampo dorsal durante la adquisición retiene la memoria hasta 5 días después y los animales son capaces de identificar la novedad contextual (Figura 7). Las memorias se transforman con el tiempo, volviéndose más difíciles de recuperar y susceptibles de extinguirse. Un aumento de dopamina en el dorso del hipocampo permite retener una memoria. En este sentido, se ha demostrado que un aumento de dopamina en el hipocampo dorsal disminuye la entrada sináptica proveniente de la corteza entorrinal (Otmakhova y Lisman, 1999) mientras que aumenta la entrada sináptica proveniente de CA3 (Otmakhova y Lisman, 1998). Por lo tanto, durante la recuperación de una memoria anormalmente fuerte, los patrones de actividad de los ensambles neuronales hipocampales podrían estar sesgados a reflejar la información que proviene de CA3 (Kesner y Rolls, 2014), provocando que los animales prefieran visitar el objeto en la localización familiar. Es importante resaltar que la preferencia por la localización familiar en la OLM-fuerte coincide con una posible saturación de la potenciación a largo plazo que ha sido reportada anteriormente (Moser et al., 1998).

No obstante, se desconocía el efecto de un aumento de dopamina en el dorso del hipocampo en la ventana de consolidación en la OLM-fuerte. Un aumento de dopamina en el dorso del hipocampo durante la consolidación de una OLM-fuerte (Figura 9D), impide que los animales exploren más el objeto en la localización novedosa. Por lo que, los animales exploran ambos objetos por igual (Figura 9E, F). Estos resultados sugieren que, en una OLM-fuerte, los ensambles neuronales que no están asociados a la formación de la OLM se activan “fuera de línea”, es decir en ausencia de la información que los formó, por ejemplo, durante el sueño, por lo que interfieren con la OLM previamente formada durante la adquisición (Colgin et al., 2008).

Igualmente, se desconocía el efecto de un aumento de dopamina en la recuperación en una memoria fuerte (Figura 10D). En la OLM-fuerte un aumento de dopamina durante la recuperación, no tiene ningún efecto, ya que se observó que los animales siguen presentando una preferencia por el objeto en la localización novedosa (Figura 10E, F). Con estos resultados, podemos concluir que un aumento de dopamina durante la recuperación no tiene un efecto sobre una memoria espacial.

El aumento de dopamina en el hipocampo involucra la activación de ensambles neuronales

Se ha sugerido que los engramas de la memoria están conformados por un grupo de ensambles neuronales distribuidos en varios núcleos cerebrales, en donde cada ensamble neuronal codifica distintas componentes de la memoria (Ghandour et al., 2019; Carrillo-Reid, 2022). Los ensambles neuronales son grupos de neuronas que se co-activan en una misma ventana de tiempo y que están codificando diferentes características del ambiente (Goode et al., 2020). Entonces, dependiendo de la ventana del tiempo en que se aumente la dopamina, ésta puede tener efecto en la codificación de ciertos componentes de la memoria espacial. Sin embargo, se desconoce como este efecto está representado a nivel neuronal. Nuestros experimentos demuestran que el aumento de dopamina en el dorso del hipocampo aumenta la potencia de la banda theta y del componente aperiódico (Figura 12), sugiriendo el aumento en la actividad de ensambles neuronales (Carrillo-Reid et al., 2011; Buzsaki et al., 2012). Como resultado, en el caso de una memoria débil, la reactivación de los ensambles neuronales que estuvieron activos durante la codificación de la memoria podría hacer que las neuronas activas participen en la OLM por medio del aumento de la excitabilidad intrínseca y de la conectividad sináptica (Dragoi et al., 2003; Abraham, 2008; Chen et al., 2020). Por el contrario, en el caso de una memoria fuerte, un aumento de dopamina en el hipocampo podría aumentar la estabilidad de los ensambles neuronales que estuvieron activos durante la adquisición de la memoria. Provocando la fijación de la memoria por medio de la reactivación anormal de un ensamble neuronal. Estos resultados proponen que un aumento de dopamina aumenta la activación de ensambles neuronales y el efecto en el comportamiento será dependiente de la fuerza con la que la memoria se estableció durante la fase de adquisición.

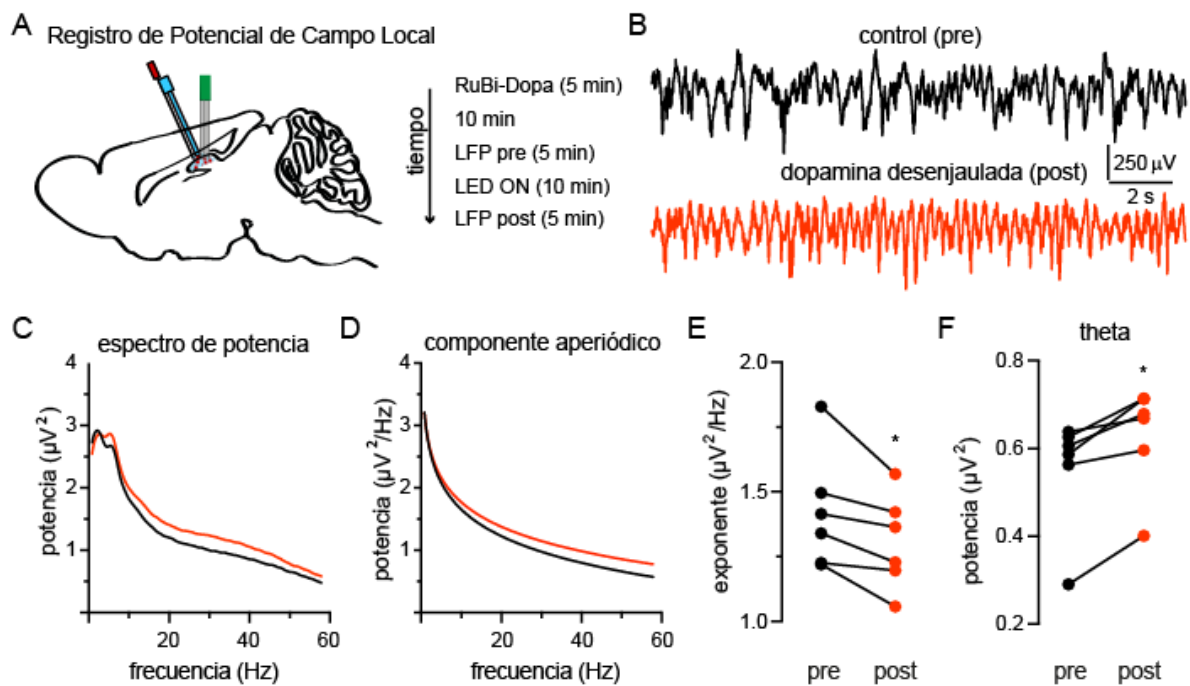


Figura 12. Efecto del aumento de dopamina en el registro del potencial de campo local en el dorso del hipocampo. **A.** Esquema temporal sobre el registro del potencial de campo local en el dorso del hipocampo antes y después a la liberación controlada de dopamina por medio de luz utilizando Rubi-Dopa. **B.** Registro del potencial local de campo en el hipocampo antes (negro) y diez minutos después del desenchaulamiento de dopamina (rojo). **C.** Espectro de potencia del registro del potencial local de campo en el hipocampo antes (negro) y diez minutos después del desenchaulamiento de dopamina (rojo). Se observa un aparente aumento en muchas frecuencias causado por el desenchaulamiento de dopamina lo que se ve reflejado como un desplazamiento positivo en la amplitud en el espectro de potencia. **D.** Parametrización del espectro de potencia en componentes aperiódicos y periódicos antes (negro) y después (rojo) del desenchaulamiento de dopamina. Hay un desplazamiento positivo en el componente aperiódico causado por el desenchaulamiento de dopamina que es más prominente después de una frecuencia de 10 Hz. **E.** El exponente del componente aperiódico disminuye después del desenchaulamiento de dopamina (* $p=0.0312$). **F.** La potencia de la banda theta aumenta posterior al desenchaulamiento de dopamina lo que sugiere el aumento en la actividad de ensambles neuronales específicos (* $p=0.0312$). Tomada de Velázquez-Delgado et al., 2024.

La modulación dopaminérgica de los estados atractores subyacen el fortalecimiento de memorias espaciales

La representación del entorno en el hipocampo puede ser entendida como diferentes señales del medio ambiente que convergen entre si dando lugar a estados conocidos como atractores. De esta manera, durante la fase de adquisición un grupo de ensambles neuronales podrían interactuar para generar un atractor que representa un ambiente particular. En el caso de que exista un cambio en el ambiente (como la localización de un objeto), deberá ocurrir un

remapeo de la representación del entorno que incorpore los cambios en el ambiente por medio de la incorporación de ensambles neuronales nuevos al atractor original (Marks et al., 2022). Por lo tanto, la incapacidad de identificar un cambio espacial en el grupo de la OLM-débil podría entenderse como la generación subóptima de un atractor que no se logra formar un mapa contextual. Al contrario, en el caso de una memoria fuerte la actividad neuronal permite la formación de un atractor que permite que la memoria pueda ser recuperada. En el presente trabajo, se propone que un aumento de dopamina en la OLM-débil durante la adquisición favorece la generación de un atractor estable y en el caso de una OLM-fuerte el aumento de dopamina fija el atractor original impidiendo el remapeo necesario por cambios en el ambiente. Por otro lado, durante la consolidación de la memoria fuerte un aumento de dopamina podría estar generando la formación de un atractor que no está relacionado con la OLM original debido a la activación de grupos de neuronas aleatorios que no están directamente relacionados con el entorno (Colgin et al., 2008). Ha sido demostrado que los ensambles neuronales pueden intercalarse entre atractores que son representaciones mentales de diferentes memorias espaciales (Monasson y Rosay, 2013, 2014). Lo que sugiere que la modulación dopaminérgica permite la transición entre diferentes atractores por medio del aumento en la fuerza sináptica y la actividad neuronal, lo cual está en función de la fuerza con la que se establece la memoria. Por lo que el aumento de dopamina durante la formación de una OLM-débil permite generar un atractor estable y en el caso de una OLM-fuerte impide la modificación del atractor incluso ante un cambio en el entorno.

Elevación de dopamina en el hipocampo como estrategia para aumentar el desempeño cognitivo

Se ha demostrado que un aumento de dopamina en el dorso del hipocampo aumenta la retención de una memoria (O'Carroll et al., 2006; Rossato et al., 2009; Bethus et al., 2010). Un aumento de dopamina en el dorso del hipocampo provoca: que una memoria de corto plazo pueda ser transformada en una memoria de largo plazo (Kempadoo et al., 2016) y aumenta la inducción de la LTP (Li et al., 2003).

Recientemente, se ha demostrado una disminución en la liberación de dopamina en el dorso del hipocampo que proviene del VTA, en un modelo murino de la enfermedad de Alzheimer (Nobili et al., 2017). Además, la administración de un agonista dopaminérgico a los receptores D1 previo a la prueba de OLM impide que los animales exploren por más tiempo el objeto en la localización novedosa (Hotte et al., 2005). Adicionalmente, el metilfenidato (fármaco que aumenta la disponibilidad de dopamina en el espacio extracelular) se ha usado para favorecer la estimulación cognitiva, debido a su prescripción como tratamiento en el trastorno por déficit de atención (Urban et al., 2014). Por otro lado, hay evidencia que señala, que un aumento en la liberación de dopamina genera memorias mal adaptativas, como las adicciones (Wise & Robble, 2020), el trastorno por estrés postraumático o las fobias (Osorio-Gómez et al., 2023) que se caracterizan por una recuperación aberrante de la memoria (Ryan & Frankland, 2022) y afectan la plasticidad neuronal (Schultz, 2016). De acuerdo con nuestros resultados los protocolos donde se aumentan los niveles de dopamina sistémicamente, como el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas, deberían considerar diversos aspectos de las memorias para evitar déficits cognitivos. Experimentos futuros basados en este trabajo podrían ser de utilidad para entender el papel de la dopamina en patologías dependientes del hipocampo.

Conclusión

Estos experimentos demuestran que el aumento de dopamina en el dorso del hipocampo puede modular las memorias espaciales débiles y fuertes. El efecto conductual observado de dicha modulación depende de la fase de la memoria en la cual la dopamina estuvo elevada. Si la dopamina se eleva durante la fase de adquisición, se produce un reforzamiento de la memoria que en el caso de la OLM-débil permite la exploración por más tiempo del objeto en el lugar novedoso, mientras que en el caso de la OLM-fuerte se promueve la exploración anormal del objeto en el lugar familiar. Por otro lado, el aumento de dopamina durante la consolidación de una OLM-fuerte interfiere con dicha memoria evitando la exploración subsecuente del objeto en el lugar novedoso. En conclusión, el aumento de dopamina en el hipocampo mejora la retención de la OLM-débil, pero fija la OLM-fuerte evitando que éstas últimas puedan ser modificadas por cambios en el entorno.

Resultados

Se estableció un protocolo OLM-débil con un tiempo de adquisición de 5 minutos y se dio una fase de recuperación 24 horas después, pero los animales son incapaces de reconocer el cambio contextual. Sin embargo, si la fase de recuperación ocurre 1 hora después los animales son capaces de reconocer el cambio contextual.

Se estableció un protocolo OLM-fuerte con un tiempo de adquisición de 10 minutos y se dio una fase de recuperación 24 horas después, los animales son capaces de reconocer el cambio contextual. Sin embargo, si la fase de recuperación ocurre 5 días después los animales son capaces de reconocer el cambio contextual.

Se desenjaulo dopamina en el hipocampo dorsal durante la fase de adquisición en un protocolo de la OLM-débil y 24 horas después en la fase de recuperación los animales son capaces de detectar un cambio contextual.

Se administró SCH 23390 y se desenjaulo dopamina en el hipocampo dorsal durante la fase de adquisición en un protocolo de la OLM-débil y 1 hora después en la fase de recuperación los animales son capaces de detectar un cambio contextual.

Se desenjaulo dopamina en el hipocampo dorsal durante la fase de adquisición en un protocolo de la OLM-fuerte y 24 horas después en la fase de recuperación los animales exploran por más tiempo el objeto en la localización familiar.

Se administró SCH 23390 y se desenjaulo dopamina en el hipocampo dorsal durante la fase de adquisición en un protocolo de la OLM-fuerte y 24 horas después en la fase de recuperación los animales son incapaces de detectar un cambio contextual y exploran ambos objetos por igual.

Se desenjaulo dopamina posterior 1 y 3 horas después de la adquisición en una OLM-débil y 24 horas después durante la fase de recuperación los animales exploran ambos objetos por igual, por lo cual no reconocieron el cambio contextual.

Se desenjaulo dopamina posterior 1 y 3 horas después de la adquisición en una OLM-fuerte y 24 horas después durante la fase de recuperación los animales exploran ambos objetos por igual, por lo cual no reconocieron el cambio contextual.

Se desenjaulo dopamina en la fase de recuperación en un protocolo de la OLM-débil y los animales siguen explorando ambos objetos por igual.

Se desenjaulo dopamina en la fase de recuperación en un protocolo de la OLM-fuerte y los animales siguen explorando por más tiempo el objeto en la localización novedosa.

Bibliografía

Abraham, W. C. (2008). Metaplasticity: tuning synapses and networks for plasticity. *Nat Rev Neurosci*, 9(5), 387. <https://doi.org/10.1038/nrn2356>

Andino-Pavlovsky, V., Souza, A. C., Scheffer-Teixeira, R., Tort, A. B. L., Etchenique, R., & Ribeiro, S. (2017). Dopamine Modulates Delta-Gamma Phase-Amplitude Coupling in the Prefrontal Cortex of Behaving Rats. *Front Neural Circuits*, 11, 29. <https://doi.org/10.3389/fncir.2017.00029>

Araya, R., Andino-Pavlovsky, V., Yuste, R., & Etchenique, R. (2013). Two-photon optical interrogation of individual dendritic spines with caged dopamine. *ACS Chem Neurosci*, 4(8), 1163-1167. <https://doi.org/10.1021/cn4000692>

Asok, A., Leroy, F., Rayman, J. B., & Kandel, E. R. (2019). Molecular Mechanisms of the Memory Trace. *Trends Neurosci*, 42(1), 14-22. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2018.10.005>

Assini, F. L., Duzzioni, M., & Takahashi, R. N. (2009). Object location memory in mice: pharmacological validation and further evidence of hippocampal CA1 participation. *Behav Brain Res*, 204(1), 206-211. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2009.06.005>

Blandini F, Armentero MT. Dopamine receptor agonists for Parkinson's disease. *Expert Opin Investig Drugs*. 2014 Mar;23(3):387-410. doi: 10.1517/13543784.2014.869209. Epub 2013 Dec 9. PMID: 24313341

Bolsius, Y. G., Heckman, P. R. A., Paraciani, C., Wilhelm, S., Raven, F., Meijer, E. L., . . . Havekes, R. (2023). Recovering object-location memories after sleep deprivation-induced amnesia. *Curr Biol*, 33(2), 298-308.e295. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2022.12.006>

Broussard, J. I., Yang, K., Levine, A. T., Tsetsenis, T., Jenson, D., Cao, F., . . . Dani, J. A. (2016). Dopamine Regulates Aversive Contextual Learning and Associated In Vivo Synaptic Plasticity in the Hippocampus. *Cell Rep*, 14(8), 1930-1939. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.01.070>

Buzsáki G. (2002). Theta oscillations in the hippocampus. *Neuron*. Jan 31;33(3):325-40. doi: 10.1016/s0896-6273(02)00586-x. PMID: 11832222.

Buzsáki, G., & Moser, E. I. (2013). Memory, navigation and theta rhythm in the hippocampal-entorhinal system. *Nat Neurosci*, 16(2), 130-138. <https://doi.org/10.1038/nn.3304>

Carrillo-Reid, L. (2022). Neuronal ensembles in memory processes. *Semin Cell Dev Biol*, 125, 136-143. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2021.04.004>

Carrillo-Reid, L., Han, S., Yang, W., Akrouh, A., & Yuste, R. (2019). Controlling Visually Guided Behavior by Holographic Recalling of Cortical Ensembles. *Cell*, 178(2), 447-457.e445. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.05.045>

- Carrillo-Reid, L., Hernández-López, S., Tapia, D., Galarraga, E., & Vargas, J. (2011). Dopaminergic modulation of the striatal microcircuit: receptor-specific configuration of cell assemblies. *J Neurosci*, 31(42), 14972-14983. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3226-11.2011>
- Chen, L., Cummings, K. A., Mau, W., Zaki, Y., Dong, Z., Rabinowitz, S., . . . Cai, D. J. (2020). The role of intrinsic excitability in the evolution of memory: Significance in memory allocation, consolidation, and updating. *Neurobiol Learn Mem*, 173, 107266. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2020.107266>
- Cobar, L. F., Yuan, L., & Tashiro, A. (2017). Place cells and long-term potentiation in the hippocampus. *Neurobiol Learn Mem*, 138, 206-214. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2016.10.010>
- Cohen, N., Pell, L., Edelson, M. G., Ben-Yakov, A., Pine, A., & Dudai, Y. (2015). Peri-encoding predictors of memory encoding and consolidation. *Neurosci Biobehav Rev*, 50, 128-142. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.11.002>
- Colgin, L. L., Moser, E. I., & Moser, M. B. (2008). Understanding memory through hippocampal remapping. *Trends Neurosci*, 31(9), 469-477. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2008.06.008>
- Corkin, S. (2002). What's new with the amnesic patient H.M.? *Nat Rev Neurosci*, 3(2), 153-160. <https://doi.org/10.1038/nrn726>
- Dragoi, G., Harris, K. D., & Buzsáki, G. (2003). Place representation within hippocampal networks is modified by long-term potentiation. *Neuron*, 39(5), 843-853. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(03\)00465-3](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(03)00465-3)
- Dudai, Y., Karni, A., & Born, J. (2015). The Consolidation and Transformation of Memory. *Neuron*, 88(1), 20-32. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.09.004>
- Duszkiewicz AJ, McNamara CG, Takeuchi T, Genzel L. Novelty and Dopaminergic Modulation of Memory Persistence: A Tale of Two Systems. *Trends Neurosci*. 2019 Feb;42(2):102-114. doi: 10.1016/j.tins.2018.10.002. Epub 2018 Nov 16. PMID: 30455050; PMCID: PMC6352318
- Edelmann E, Lessmann V. Dopaminergic innervation and modulation of hippocampal networks. *Cell Tissue Res*. 2018 Sep;373(3):711-727. doi: 10.1007/s00441-018-2800-7. Epub 2018 Feb 22. PMID: 29470647
- Ellis-Davies, G. C. (2007). Caged compounds: photorelease technology for control of cellular chemistry and physiology. *Nat Methods*, 4(8), 619-628. <https://doi.org/10.1038/nmeth1072>
- Eskenazi, D., Malave, L., Mingote, S., Yetnikoff, L., Ztaou, S., Velicu, V., . . . Chuhma, N. (2021). Dopamine Neurons That Cotransmit Glutamate, From Synapses to Circuits to Behavior. *Front Neural Circuits*, 15, 665386. <https://doi.org/10.3389/fncir.2021.665386>
- Frankland, P. W., & Bontempi, B. (2005). The organization of recent and remote memories. *Nat Rev Neurosci*, 6(2), 119-130. <https://doi.org/10.1038/nrn1607>

Frankland, P. W., Josselyn, S. A., & Köhler, S. (2019). The neurobiological foundation of memory retrieval. *Nat Neurosci*, 22(10), 1576-1585. <https://doi.org/10.1038/s41593-019-0493-1>

Ghandour, K., Ohkawa, N., Fung, C. C. A., Asai, H., Saitoh, Y., Takekawa, T., . . . Inokuchi, K. (2019). Orchestrated ensemble activities constitute a hippocampal memory engram. *Nat Commun*, 10(1), 2637. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10683-2>

Guskjolen, A., & Cembrowski, M. S. (2023). Engram neurons: Encoding, consolidation, retrieval, and forgetting of memory. *Mol Psychiatry*, 28(8), 3207-3219. <https://doi.org/10.1038/s41380-023-02137-5>

Guskjolen, A., Kenney, J. W., de la Parra, J., Yeung, B. A., Josselyn, S. A., & Frankland, P. W. (2018). Recovery of "Lost" Infant Memories in Mice. *Curr Biol*, 28(14), 2283-2290.e2283. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.05.059>

Gálvez-Márquez, D. K., Salgado-Méñez, M., Moreno-Castilla, P., Rodríguez-Durán, L., Escobar, M. L., Tecuapetla, F., & Bermudez-Rattoni, F. (2022). Spatial contextual recognition memory updating is modulated by dopamine release in the dorsal hippocampus from the locus coeruleus. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 119(49), e2208254119. <https://doi.org/10.1073/pnas.2208254119>

Hebb, D. O. (1949). *The organization of behavior; a neuropsychological theory*. Wiley.

Hotte, M., Naudon, L., & Jay, T. M. (2005). Modulation of recognition and temporal order memory retrieval by dopamine D1 receptor in rats. *Neurobiol Learn Mem*, 84(2), 85-92. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2005.04.002>

Iwasaki S, Sasaki T, Ikegaya Y. Hippocampal beta oscillations predict mouse object-location associative memory performance. *Hippocampus*. 2021 May;31(5):503-511. doi: 10.1002/hipo.23311. Epub 2021 Feb 8. PMID: 33556218

Josselyn, S. A., & Frankland, P. W. (2018). Memory Allocation: Mechanisms and Function. *Annu Rev Neurosci*, 41, 389-413. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-080317-061956>

Kandel, E. R., Dudai, Y., & Mayford, M. R. (2014). The molecular and systems biology of memory. *Cell*, 157(1), 163-186. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.03.001>

Kempadoo KA, Mosharov EV, Choi SJ, Sulzer D, Kandel ER. (2016) Dopamine release from the locus coeruleus to the dorsal hippocampus promotes spatial learning and memory. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016 Dec 20;113(51):14835-14840. doi: 10.1073/pnas.1616515114

Kesner, R. P., & Rolls, E. T. (2015). A computational theory of hippocampal function, and tests of the theory: new developments. *Neurosci Biobehav Rev*, 48, 92-147. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.11.009>

Khona, M., & Fiete, I. R. (2022). Attractor and integrator networks in the brain. *Nat Rev Neurosci*, 23(12), 744-766. <https://doi.org/10.1038/s41583-022-00642-0>

Klein, M.O., Battagello, D.S., Cardoso, A.R. et al. (2019). Dopamine: Functions, Signaling, and Association with Neurological Diseases. *Cell Mol Neurobiol* 39, 31–59. <https://doi.org/10.1007/s10571-018-0632-3>

Kramar, C. P., Chefer, V. I., Wise, R. A., Medina, J. H., & Barbano, M. F. (2014). Dopamine in the dorsal hippocampus impairs the late consolidation of cocaine-associated memory. *Neuropsychopharmacology*, 39(7), 1645-1653. <https://doi.org/10.1038/npp.2014.11>

Kwapis, J. L., Alaghband, Y., Keiser, A. A., Dong, T. N., Michael, C. M., Rhee, D., . . . Wood, M. A. (2020). Aging mice show impaired memory updating in the novel OUL updating paradigm. *Neuropsychopharmacology*, 45(2), 337-346. <https://doi.org/10.1038/s41386-019-0438-0>

Lesburguères, E., Gobbo, O. L., Alaux-Cantin, S., Hambucken, A., Trifilieff, P., & Bontempi, B. (2011). Early tagging of cortical networks is required for the formation of enduring associative memory. *Science*, 331(6019), 924-928. <https://doi.org/10.1126/science.1196164>

Lewis, P. A., & Bendor, D. (2019). How Targeted Memory Reactivation Promotes the Selective Strengthening of Memories in Sleep. *Curr Biol*, 29(18), R906-R912. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.08.019>

Lisman, J. E., & Grace, A. A. (2005). The hippocampal-VTA loop: controlling the entry of information into long-term memory. *Neuron*, 46(5), 703-713. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2005.05.002>

Liu, X., Ramirez, S., & Tonegawa, S. (2014). Inception of a false memory by optogenetic manipulation of a hippocampal memory engram. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 369(1633), 20130142. <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0142>

Low IIC, Williams AH, Campbell MG, Linderman SW, Giocomo LM. Dynamic and reversible remapping of network representations in an unchanging environment. *Neuron*. 2022 Mar 2;110(5):903. doi: 10.1016/j.neuron.2022.02.006. Erratum for: *Neuron*. 2021 Sep 15;109(18):2967-2980.e11. PMID: 35240064; PMCID: PMC8939888

Manns, J. R., Howard, M. W., & Eichenbaum, H. (2007). Gradual changes in hippocampal activity support remembering the order of events. *Neuron*, 56(3), 530-540. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2007.08.017>

Marks, W. D., Yokose, J., Kitamura, T., & Ogawa, S. K. (2022). Neuronal Ensembles Organize Activity to Generate Contextual Memory. *Front Behav Neurosci*, 16, 805132. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2022.805132>

Martin, K. C., & Kosik, K. S. (2002). Synaptic tagging -- who's it? *Nat Rev Neurosci*, 3(10), 813-820. <https://doi.org/10.1038/nrn942>

Mathis A, Mamidanna P, Cury KM, Abe T, Murthy VN, Mathis MW, Bethge M. (2018). DeepLabCut: markerless pose estimation of user-defined body parts with deep learning. *Nat*

Neurosci. 2018 Sep;21(9):1281-1289. doi: 10.1038/s41593-018-0209-y. Epub 2018 Aug 20. PMID: 30127430

McGaugh, J. L. (2000). Memory--a century of consolidation. *Science*, 287(5451), 248-251. <https://doi.org/10.1126/science.287.5451.248>

McNamara, C. G., & Dupret, D. (2017). Two sources of dopamine for the hippocampus. *Trends Neurosci*, 40(7), 383-384. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2017.05.005>

McNamara, C. G., Tejero-Cantero, Á., Trouche, S., Campo-Urriza, N., & Dupret, D. (2014). Dopaminergic neurons promote hippocampal reactivation and spatial memory persistence. *Nat Neurosci*, 17(12), 1658-1660. <https://doi.org/10.1038/nn.3843>

Miller, P. (2016). Dynamical systems, attractors, and neural circuits. *F1000Res*, 5. <https://doi.org/10.12688/f1000research.7698.1>

Monasson R. & Rosay, S. (2013). Crosstalk and transitions between multiple spatial maps in an attractor neural network of the hippocampus: phase diagram. *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys* 87:062813

Monasson R. & Rosay, S. (2014). Crosstalk and transitions between multiple spatial maps in an attractor neural network of the hippocampus: collective motion of the activity. *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys* 87:032803

Monasson R. & Rosay, S. (2015). Transitions between Spatial Attractors in Place-Cell Models *Phys Rev Lett* 115:098101

Moncada, D., & Viola, H. (2007). Induction of long-term memory by exposure to novelty requires protein synthesis: evidence for a behavioral tagging. *J Neurosci*, 27(28), 7476-7481. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1083-07.2007>

Moreno-Castilla P, Rodriguez-Duran LF, Guzman-Ramos K, Barcenas-Femat A, Escobar ML, Bermudez-Rattoni F. (2016). Dopaminergic neurotransmission dysfunction induced by amyloid- β transforms cortical long-term potentiation into long-term depression and produces memory impairment. *Neurobiol Aging*. (2016) May;41:187-199. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2016.02.021. Epub 2016 Mar 3. PMID: 27103531

Moser, E. I., Krobot, K. A., Moser, M. B., & Morris, R. G. (1998). Impaired spatial learning after saturation of long-term potentiation. *Science*, 281(5385), 2038-2042. <https://doi.org/10.1126/science.281.5385.2038>

Moser, E. I., Kropff, E., & Moser, M. B. (2008). Place cells, grid cells, and the brain's spatial representation system. *Annu Rev Neurosci*, 31, 69-89. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.31.061307.090723>

Moser, M. B., Rowland, D. C., & Moser, E. I. (2015). Place cells, grid cells, and memory. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 7(2), a021808. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a021808>

- Muzzio IA, Levita L, Kulkarni J, Monaco J, Kentros C, Stead M, Abbott LF, Kandel ER. (2009). Attention enhances the retrieval and stability of visuospatial and olfactory representations in the dorsal hippocampus. *PLoS Biol.* 2009 Jun 30;7(6):e1000140. doi: 10.1371/journal.pbio.1000140. Epub 2009 Jun 30. Erratum in: *PLoS Biol.* 2010;8(10). doi: 10.1371/annotation/5e28240c-6186-43eb-b319-79c391d9468a
- Navailles, S., Bioulac, B., Gross, C., & De Deurwaerdère, P. (2010). Serotonergic neurons mediate ectopic release of dopamine induced by L-DOPA in a rat model of Parkinson's disease. *Neurobiol Dis*, 38(1), 136-143. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2010.01.012>
- Nicolelis, M. A., & Lebedev, M. A. (2009). Principles of neural ensemble physiology underlying the operation of brain-machine interfaces. *Nat Rev Neurosci*, 10(7), 530-540. <https://doi.org/10.1038/nrn2653>
- Nobili, A., Latagliata, E. C., Viscomi, M. T., Cavallucci, V., Cutuli, D., Giacobazzo, G., . . . D'Amelio, M. (2017). Dopamine neuronal loss contributes to memory and reward dysfunction in a model of Alzheimer's disease. *Nat Commun*, 8, 14727. <https://doi.org/10.1038/ncomms14727>
- Ntamati, N. R., Creed, M., Achargui, R., & Lüscher, C. (2018). Periaqueductal efferents to dopamine and GABA neurons of the VTA. *PLoS One*, 13(1), e0190297. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190297>
- Núñez, A., & Buño, W. (2021). The Theta Rhythm of the Hippocampus: From Neuronal and Circuit Mechanisms to Behavior. *Front Cell Neurosci*, 15, 649262. <https://doi.org/10.3389/fncel.2021.649262>
- Nyberg, L. (2017). Functional brain imaging of episodic memory decline in ageing. *J Intern Med*, 281(1), 65-74. <https://doi.org/10.1111/joim.12533>
- O'Carroll, C. M., Martin, S. J., Sandin, J., Frenguelli, B., & Morris, R. G. (2006). Dopaminergic modulation of the persistence of one-trial hippocampus-dependent memory. *Learn Mem*, 13(6), 760-769. <https://doi.org/10.1101/lm.321006>
- O'Keefe, J., & Dostrovsky, J. (1971). The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. *Brain Res*, 34(1), 171-175. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(71\)90358-1](https://doi.org/10.1016/0006-8993(71)90358-1)
- Osorio-Gómez D, Miranda MI, Guzmán-Ramos K, Bermúdez-Rattoni F. (2023). Transforming experiences: Neurobiology of memory updating/editing. *Front Syst Neurosci.* 2023 Feb 21;17:1103770. doi: 10.3389/fnsys.2023.1103770. PMID: 36896148; PMCID: PMC9989287
- Otmakhova, N. A., & Lisman, J. E. (1996). D1/D5 dopamine receptor activation increases the magnitude of early long-term potentiation at CA1 hippocampal synapses. *J Neurosci*, 16(23), 7478-7486. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.16-23-07478.1996>

Otmakhova, N. A., & Lisman, J. E. (1998). D1/D5 dopamine receptors inhibit depotentiation at CA1 synapses via cAMP-dependent mechanism. *J Neurosci*, 18(4), 1270-1279. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.18-04-01270.1998>

Otmakhova, N. A., & Lisman, J. E. (1999). Dopamine selectively inhibits the direct cortical pathway to the CA1 hippocampal region. *J Neurosci*, 19(4), 1437-1445. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.19-04-01437.1999>

Pittolo, S., Yokoyama, S., Willoughby, D. D., Taylor, C. R., Reitman, M. E., Tse, V., . . . Poskanzer, K. E. (2022). Dopamine activates astrocytes in prefrontal cortex via α 1-adrenergic receptors. *Cell Rep*, 40(13), 111426. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.111426>

Rolls ET, Treves A. (1994). Neural networks in the brain involved in memory and recall. *Prog Brain Res*. 1994;102:335-41. doi: 10.1016/S0079-6123(08)60550-6. PMID: 7800823

Ross, T. W., & Easton, A. (2022). The Hippocampal Horizon: Constructing and Segmenting Experience for Episodic Memory. *Neurosci Biobehav Rev*, 132, 181-196. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2021.11.038>

Rossato, J. I., Bevilacqua, L. R., Izquierdo, I., Medina, J. H., & Cammarota, M. (2009). Dopamine controls persistence of long-term memory storage. *Science*, 325(5943), 1017-1020. <https://doi.org/10.1126/science.1172545>

Roy, D. S., Park, Y. G., Kim, M. E., Zhang, Y., Ogawa, S. K., DiNapoli, N., . . . Tonegawa, S. (2022). Brain-wide mapping reveals that engrams for a single memory are distributed across multiple brain regions. *Nat Commun*, 13(1), 1799. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-29384-4>

Ryan, T. J., & Frankland, P. W. (2022). Forgetting as a form of adaptive engram cell plasticity. *Nat Rev Neurosci*, 23(3), 173-186. <https://doi.org/10.1038/s41583-021-00548-3>

Ryan, T. J., Roy, D. S., Pignatelli, M., Arons, A., & Tonegawa, S. (2015). Memory. Engram cells retain memory under retrograde amnesia. *Science*, 348(6238), 1007-1013. <https://doi.org/10.1126/science.aaa5542>

Schultz, W. (2016). Dopamine reward prediction-error signalling: a two-component response. *Nat Rev Neurosci*, 17(3), 183-195. <https://doi.org/10.1038/nrn.2015.26>

Sekeres, M. J., Winocur, G., & Moscovitch, M. (2018). The hippocampus and related neocortical structures in memory transformation. *Neurosci Lett*, 680, 39-53. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2018.05.006>

Semon RW. 1921. *The Mneme*. London: G. Allen & Unwin. 304 pp

Takeuchi, T., Duszkievicz, A. J., Sonneborn, A., Spooner, P. A., Yamasaki, M., Watanabe, M., . . . Morris, R. G. (2016). Locus coeruleus and dopaminergic consolidation of everyday memory. *Nature*, 537(7620), 357-362. <https://doi.org/10.1038/nature19325>

Talati R, Baker WL, Patel AA, Reinhart K, Coleman CI. Adding a dopamine agonist to preexisting levodopa therapy vs. levodopa therapy alone in advanced Parkinson's disease: a meta analysis. *Int J Clin Pract*. 2009 Apr;63(4):613-23. doi: 10.1111/j.1742-1241.2009.02027.x. Epub 2009 Feb 16. PMID: 19222614

Tecuapetla, F., Patel, J. C., Xenias, H., English, D., Tadros, I., Shah, F., . . . Koos, T. (2010). Glutamatergic signaling by mesolimbic dopamine neurons in the nucleus accumbens. *J Neurosci*, 30(20), 7105-7110. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0265-10.2010>

Tonegawa, S., Morrissey, M. D., & Kitamura, T. (2018). The role of engram cells in the systems consolidation of memory. *Nat Rev Neurosci*, 19(8), 485-498. <https://doi.org/10.1038/s41583-018-0031-2>

Tsetsenis, T., Badyna, J. K., Li, R., & Dani, J. A. (2022). Activation of a Locus Coeruleus to Dorsal Hippocampus Noradrenergic Circuit Facilitates Associative Learning. *Front Cell Neurosci*, 16, 887679. <https://doi.org/10.3389/fncel.2022.887679>

Tsetsenis, T., Badyna, J. K., Wilson, J. A., Zhang, X., Krizman, E. N., Subramaniam, M., . . . Dani, J. A. (2021). Midbrain dopaminergic innervation of the hippocampus is sufficient to modulate formation of aversive memories. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 118(40). <https://doi.org/10.1073/pnas.2111069118>

Tsodyks M., Sejnowski. (1995). Associative memory and hippocampal place cells. *International Journal of Neural Systems. Supplementary Issue*, 1995:81-86.

Tulving, E., & Markowitsch, H. J. (1998). Episodic and declarative memory: role of the hippocampus. *Hippocampus*, 8(3), 198-204. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-1063\(1998\)8:3<198::AID-HIPO2>3.0.CO;2-G](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1063(1998)8:3<198::AID-HIPO2>3.0.CO;2-G)

Urban, K. R., & Gao, W. J. (2014). Performance enhancement at the cost of potential brain plasticity: neural ramifications of nootropic drugs in the healthy developing brain. *Front Syst Neurosci*, 8, 38. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2014.00038>

Vago, D.R., Wallenstein, G.V., Morris., L.S. (2014). Hippocampus. *Encyclopedia of the Neurological Sciences (Second Edition)*, Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385157-4.01151-9>

Vogel-Ciernia A, Wood MA. Examining object location and object recognition memory in mice. *Curr Protoc Neurosci*. 2014 Oct 8;69:8.31.1-17. doi: 10.1002/0471142301.ns0831s69. PMID: 25297693; PMCID: PMC4219523

Velázquez-Delgado, C., Perez-Becerra, J., Calderon, V., Hernandez-Ortiz, E., Bermudez-Rattoni, F., & Carrillo-Reid, L. (2024). Paradoxical boosting of weak and strong spatial memories by hippocampal dopamine uncaging. *eNeuro*. <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0469-23.2024>

Voon V, Mehta AR, Hallett M. Impulse control disorders in Parkinson's disease: recent advances. *Curr Opin Neurol*. 2011 Aug;24(4):324-30. doi: 10.1097/WCO.0b013e3283489687. PMID: 21725242; PMCID: PMC3154756

Wise RA. Dopamine, learning and motivation. *Nat Rev Neurosci*. 2004 Jun;5(6):483-94. doi: 10.1038/nrn1406. PMID: 15152198

Yuste, R. (2015). From the neuron doctrine to neural networks. *Nat Rev Neurosci*, 16(8), 487-497. <https://doi.org/10.1038/nrn3962>

Yuste R, Cossart R, Yaksi E. Neuronal ensembles: Building blocks of neural circuits. *Neuron*. 2024 Mar 20;112(6):875-892. doi: 10.1016/j.neuron.2023.12.008

Zamora-Ursulo, M. A., Perez-Becerra, J., Tellez, L. A., Sadari, N., & Carrillo-Reid, L. (2023). Reversal of pathological motor behavior in a model of Parkinson's disease by striatal dopamine uncaging. *PLoS One*, 18(8), e0290317. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0290317>

Zayat L, Filevich O, Baraldo LM, Etchenique R. Ruthenium polypyridyl phototriggers: from beginnings to perspectives. *Philos Trans A Math Phys Eng Sci*. 2013 Jun 17;371(1995):20120330. doi: 10.1098/rsta.2012.0330. PMID: 23776299