



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE PSICOLOGÍA

División de Estudios Profesionales

Participación de los receptores D1 dopaminérgicos de la corteza perirrinal e hipocampo en la memoria de reconocimiento de objetos a corto y largo plazo.

TESIS

Que para obtener el título de

Licenciado en Psicología

presenta:

Luis Daniel Ortega García

Directora de Tesis

Dra. Ariana Israela Balderas Moreno



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

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

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

A mis padres. Porque aunque al nacer les puse una venda en los ojos y les agité violentamente la cabeza han estado ahí, llevándome y acompañándome en la dirección correcta. El miedo se va cuando estoy con ustedes, esa sensación de seguridad y de estar rodeado por su cariño me mantiene vivo, le da cuerda y calor a mi corazón. Los amo.

A Pauliva. Mi hermana, el ser que más amo en este mundo y la persona con los sentimientos más coloridos que conozco. Eres mi impulso, mi gravedad y mi atmósfera. Estás ahí y yo siempre estaré ahí para ti.

A toda mi familia. Porque aunque yo no los elegí, los lazos que nos unen van más allá de lo sanguíneo. Gracias.

A Abril. A veces las personas llegan y se quedan por casualidad. Tú y yo estábamos destinados. No puedo expresar con palabras todo eso que siento por ti, pero la música lo ha hecho de manera increíble todos estos años. Gracias por todo. Te veo y me veo y recuerdo: una voz tratando de contestar a otra voz.

A Caro, bambú. Porque si quisiera contar todas las risas que hemos tenido juntos me volvería aún más loco. Gracias por estar junto a mi.

A Pams. Por alternar conmigo el papel de brújula cuando el otro se pierde. Por todos esos aprendizajes que hemos tenido juntos. Por las memorias pasadas y futuras. Obrigado.

A Norma, mi maestra. Por haberme brindado una oportunidad y enseñarme todo lo que sabe de la música sin reserva alguna. Porque me siento muy afortunado de contar con su guía y por los millones de cosas que he aprendido, no sólo de música, sino de la vida. Estoy muy agradecido y lo estaré eternamente.

A Isra. Por haberme acompañado en este largo camino, tener la paciencia para guiarme atentamente y lograr que este trabajo brotara y diera frutos, muchas gracias.

A Analí y Karina, mis compañeras de laboratorio que colaboraron enormemente en este trabajo y me hicieron los ratos más amenos durante todo ese tiempo. Muchísimas gracias.

A mis amigos músicos, con los cuales he crecido y con los que seguro tocaré hasta el final de mis días: Edurne, Emilio, Karen, Mariel, Ana Karen, Abraham, Armín, Melanie, Sergio, Zulema, Miguel, Tonalli, Mario, Azul...

A mis amigos de la facultad, compañeros de viaje, de salón, de desvelos, de fiesta. Si se me olvida alguien por favor háganle justicia: Valeria, Vania, Daniel, Josely, Yazmín, Paola, Moni, Omar y hasta Jorge.

Cualquier final por más simbólico que sea, resuena. Se queda en los oídos zumbando y la sensación habita todo el cuerpo. A veces en el mundo hay tantas pequeñas resonancias que se mezclan y combinan, oscureciendo e iluminando el espíritu. Hay riesgo de confundirlas y perderse en el espectro. Pero así como una resonancia cae para volver a sonar, así como una frase puede ser el inicio o el final, este fin resuena para volver; imperceptible, taciturno.

Y en cuanto empiece a morir, renacerá. Como las hojas, como el día.

* * *

A Marcelino, mi abuelo.

...Et j'avoueray de bonne foy que j'aime beaucoup mieux **ce qui me touche** que ce qui me surprend.

François Couperin

Premier livre de pièces de Clavecin

1713

1. Resumen	7
2. Introducción y antecedentes	8
2.1. Memoria	8
2.1.1 El estudio de la memoria	8
2.1.2 Memoria de reconocimiento	13
2.2 Dopamina	16
2.2.1 Sistema dopaminérgico	16
2.3. Hipocampo	21
2.3.1 Anatomía	21
2.3.2 Participación en la memoria de reconocimiento.	22
2.4 Corteza Perirrinal	26
2.4.1 Anatomía	26
2.4.2 Participación en la memoria de reconocimiento	27
3. Justificación	29
4. Pregunta de Investigación	29
5. Objetivos	30
6. Hipótesis	30
7. Material y método	30
7.1 Sujetos	30
7.2 Cirugía	31
7.3 Microinyección	32
7.4 Aparatos experimentales	32
7.5 Habitación y procedimiento conductual	33
7.6 Grupos y fases experimentales	33
7.7 Histología	36
7.8 Análisis de datos	36
7.9 Consideraciones éticas	37
8. Resultados	38
9. Discusión	44
10. Conclusión	50
11. Referencias	51

1. Resumen

El propósito de esta investigación fue determinar la participación de los receptores dopaminérgicos D1 de la corteza perirrinal y el hipocampo en la memoria de reconocimiento de objetos de corto y largo plazo.

Diversas investigaciones han propuesto que existen redes neuronales distribuidas en estructuras del lóbulo temporal medial, como el hipocampo y la corteza perirrinal, que procesan distintas características durante el reconocimiento de un evento. El hipocampo se ha asociado con la recolección de información contextual, mientras que la corteza perirrinal se ha asociado con la familiaridad de los eventos.

Se utilizaron 77 ratas Wistar macho con un peso aproximado de 280 gramos, a las cuales se les implantaron cánulas bilateralmente en la corteza perirrinal o el hipocampo, a través de una cirugía estereotáxica para realizar la administración intracraneal del antagonista dopaminérgico D1, SCH23390.

Posterior a la administración del fármaco se realizó una prueba de memoria de reconocimiento de objetos. La fase de muestra de esta tarea consistió en exponer a los animales a dos objetos novedosos idénticos. Los animales fueron inyectados intracranealmente con el antagonista dopaminérgico SCH23390 en la corteza perirrinal o en el hipocampo quince minutos antes de la fase de muestra. 90 minutos o 24 horas después, los animales fueron expuestos a uno de los objetos presentados previamente (objeto familiar) y a un objeto novedoso. Dicha tarea se basa en la tendencia natural de los roedores para explorar durante más tiempo un objeto novedoso.

La acción del SCH23390 en la corteza perirrinal y no en el hipocampo dañó la memoria de reconocimiento de largo plazo, pero no la de corto plazo, sugiriendo que existe una participación dopaminérgica diferencial en el lóbulo temporal medial durante la consolidación de la memoria de reconocimiento.

2. Introducción y antecedentes

2.1. Memoria

2.1.1 El estudio de la memoria

El aprendizaje y la memoria son dos de las funciones cerebrales más complejas estudiadas actualmente por diversas disciplinas científicas, debido a que ambos procesos están involucrados en el procesamiento de la información cerebral y juegan un papel muy importante en la adaptación y supervivencia de los organismos.

El aprendizaje es un proceso continuo, que se refiere a la capacidad que tienen los organismos para adquirir nueva información y producir cambios importantes en su comportamiento y la memoria se define como la capacidad para almacenar información proveniente de la experiencia y recuperar esta información a lo largo del tiempo (Purves, 2004). El estudio de la participación de distintas estructuras cerebrales en procesos cognoscitivos, ha sido un tema de investigación recurrente en las últimas décadas por la psicología y las neurociencias.

En el estudio de la memoria, existen diversas posturas que tratan de explicar su funcionamiento. Históricamente, uno de los modelos más importantes fue propuesto por Tulving en 1982, el cual clasifica el procesamiento de memoria en dos grandes sistemas: la memoria semántica y la memoria episódica; posteriormente en 1985, Schacter nombró dos principales sistemas de almacenamiento de información: memoria declarativa y memoria no declarativa (citados en Squire, 2004).

La memoria declarativa se refiere a la capacidad de recolección de información acerca de hechos y eventos, éste es el tipo de memoria que se ve afectada en diversas amnesias y es dependiente de estructuras cerebrales como el lóbulo temporal medial y el diencefalo (Squire 2004). Así mismo, la memoria declarativa permite que el material recordado pueda ser contrastado y comparado, puesto que facilita la codificación de los recuerdos en términos de relaciones entre múltiples ítems y eventos (Squire, 2004).



Figura 1. Esquema taxonómico de los distintos sistemas de memoria de largo plazo. Se enlistan las estructuras cerebrales asociadas a cada subsistema (modificado de Squire, 2004).

La memoria es un proceso activo y complejo que implica al menos tres diferentes fases. La primera de ellas es la adquisición, que ocurre cuando la información ingresa al organismo para ser procesada y mantenida por un determinado período; la segunda, es la fase es la de consolidación, en la cual la

información previamente adquirida pasa de un estado lábil a uno estable, para lo cual es necesario que se lleve a cabo la síntesis de proteínas; y la tercera fase es la evocación, en donde la información es accesible y puede ser recuperada cuando se requiera (Nader y cols., 2000). Diversos estudios a nivel celular y molecular sugieren que estas fases pueden compartir mecanismos similares y que su activación en el tiempo puede ser secuencial o simultánea (Lattal y Abel, 2004).

Así mismo, la memoria también presenta componentes de duración y temporalidad. Purves (2009) enlista dos grandes divisiones de la memoria obedecen a este criterio: la memoria de corto plazo (MCP) y la memoria de largo plazo (MLP). Dentro de la memoria de corto plazo se pueden encontrar dos subcategorías: la memoria inmediata y la memoria de trabajo. La primera tiene una duración de apenas algunos segundos y es principalmente de tipo sensorial, la segunda puede llegar a durar hasta varios minutos y horas. La memoria de largo plazo se distingue por tener una duración mucho más larga: puede durar días, semanas o incluso toda la vida y se ha sugerido que a diferencia de la memoria de corto plazo, ésta requiere de la síntesis de proteínas para consolidarse.

En 1949 Gerard y Hebb propusieron el modelo del trazo dual de la memoria, sugiriendo que la estabilización de la actividad neuronal subyacente a la memoria de corto plazo da como consecuencia la memoria de largo plazo; sin embargo, investigaciones posteriores sugieren que algunos inhibidores de la síntesis de proteínas no evitan el aprendizaje de tareas, pero sí interrumpen la memoria, por lo tanto la fase de consolidación no está ligada de forma se-

cuencial y más bien, es un proceso que funciona de manera paralela e independiente (citado en McGaugh, 1996).

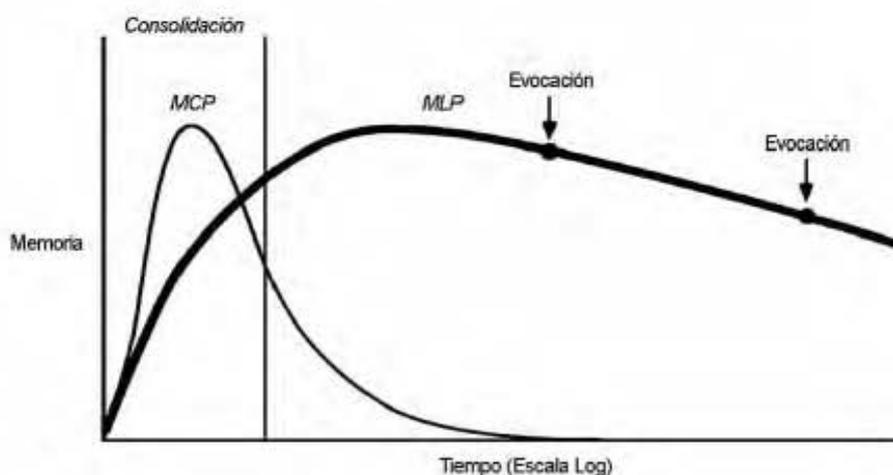


Figura 2. Curva temporal de la transición de la MCP a MLP. Se observa cómo el trazo de la memoria de corto plazo tiende a decaer con el paso del tiempo, mientras que la memoria de largo plazo puede perdurar más, una vez que se complete el proceso de consolidación. Los puntos señalados con la leyenda 'evocación' hacen referencia a la recuperación de la memoria a lo largo del tiempo (modificado de McGaugh, 1996).

Diversas investigaciones han demostrado que el correlato fisiológico de la MCP está relacionado con cambios en la plasticidad neuronal. La MCP almacena temporalmente una cantidad limitada de información recientemente adquirida y existe evidencia experimental de que este proceso requiere de modificaciones post-traduccionales a proteínas existentes, pero no de la síntesis de nuevas macromoléculas (Kandel, 2001).

La formación de la memoria de largo plazo implica la producción de cambios plásticos relativamente duraderos, como pueden ser: incremento en la densidad de los botones sinápticos, de la longitud y ramificaciones axónicas, así como del número de espinas dendríticas (Dudai, 2012). Para que estos cam-

bios puedan llevarse a cabo se ha propuesto que se requiere de varios procesos moleculares, pero principalmente de la síntesis de proteínas y de la activación de genes.

Abundante evidencia experimental demuestra que la administración sistémica o intracerebral de diversos inhibidores para la síntesis de proteínas bloquea la formación de la memoria a largo plazo en distintas tareas. Un experimento realizado por Huang y Kandel en 1995, demostró que la síntesis de proteínas es necesaria para la potenciación a largo plazo tardía, la cual se ha asociado con formación de memorias a largo plazo. En este experimento se utilizó anisomicina (un inhibidor de la síntesis de proteínas) en neuronas piramidales de la región CA1 del hipocampo, así como SCH23390, un antagonista de receptores D1/D5. Los hallazgos de este estudio demostraron que tanto la anisomicina como el SCH23390, bloquearon la potenciación a largo plazo de fase tardía mediante la inhibición de la síntesis de proteínas y el bloqueo de los receptores D1/D5 en el hipocampo.

2.1.2 Memoria de reconocimiento

En la memoria de largo plazo existe un subtipo llamado memoria de reconocimiento, la cual se define como la habilidad para discriminar la familiaridad de las cosas previamente experimentadas (Mandler, 1980; Brown y Aggleton, 2001). Se ha propuesto que este proceso de reconocimiento está conformado por al menos dos componentes funcionales, uno de los cuales está basado en el reconocimiento de la familiaridad de los estímulos y el otro, en el recuerdo de la información contextual (ya sea espacial o temporal) de los eventos (Mandler, 1980). También se ha propuesto que distintas regiones del lóbulo temporal medial contribuyen de manera diferencial a la memoria de reconocimiento (Murray y Richmond, 2001).

Existen diversas tareas que pueden utilizarse para profundizar en el estudio de los distintos tipos de memoria. En modelos animales, una actividad útil para el estudio de la memoria declarativa es la tarea de memoria de reconocimiento de objetos, la cual fue propuesta por Ennaceur y Delacour (1998) con ratas y está basada en la tendencia natural de los roedores por preferir estímulos novedosos sobre los familiares. Esta tarea consiste en colocar a los animales en una caja experimental durante un tiempo determinado, en la cual se encuentran dos objetos idénticos; se retira a los animales de la caja y posteriormente se les vuelve a introducir en la misma caja, pero esta vez con un objeto anteriormente presentado y uno novedoso. Las ratas pasan la mayor parte del tiempo explorando los objetos novedosos con respecto a los objetos familiares, ésta preferencia se observa en la mayoría de las ratas.

Se ha propuesto igualmente que esta tarea mantiene una cercana analogía con algunas pruebas utilizadas en humanos para evaluar la memoria de reconocimiento, que incluyen material verbal como palabras, frases e historias; y material no verbal como imágenes, objetos, fotografías y series de líneas y puntos (Reed y Squire, 1997). Un ejemplo de estas tareas en humanos consiste en presentar una serie de objetos en una primera fase y después de cierto tiempo se realiza una prueba de discriminación entre un objeto presentado en la primera fase (objeto familiar) y un objeto nuevo, en donde el participante debe reconocer el objeto familiar; pruebas que han demostrado ser muy efectivas para caracterizar los síndromes amnésicos, ya que proveen un índice de la severidad del daño de la memoria explícita (Reed y Squire, 1997).

En pacientes humanos, se ha observado que lesiones en estructuras cerebrales como el hipocampo pueden provocar distintos tipos de amnesia. En 1957 Scoville y Milner reportaron el caso del paciente H.M., en el cual después de la ablación del lóbulo temporal medial como tratamiento para una epilepsia crónica de este paciente, provocó déficits en ciertos procesos cognoscitivos, sobre todo en la memoria. Según estos autores, este tipo de lesiones producen un síndrome de amnesia anterógrada (el paciente es incapaz de formar nuevos recuerdos), siendo una de las principales características de este síndrome la pérdida de la memoria de reconocimiento.

Los primeros estudios enfocados a replicar el síndrome amnésico de H.M. sugerían que lesiones combinadas en el hipocampo y en la amígdala, eran las responsables de las afecciones en la memoria de reconocimiento, como

lo demostraron los experimentos realizados en monos con ablaciones en el lóbulo temporal medial (Mishkin, 1978). Sin embargo, posteriormente se demostró que el daño observado en la memoria de reconocimiento no estaba directamente relacionado con lesiones en el hipocampo y en la amígdala, sino con lesiones en las porciones anterior y posterior de las cortezas perirrinal y entorrinal (regiones subyacentes al hipocampo) (Murray y Mishkin, 1998).

Aunque ambas estructuras están implicadas en el sistema de memoria de reconocimiento, cada una se asocia a distintos procesos que pueden disociarse entre sí (Murray y Richmond, 2001). Evidencia arrojada por estudios con animales, indica que la corteza perirrinal está más involucrada en la discriminación de la familiaridad de los objetos, mientras que el sistema centrado en el hipocampo está más involucrado en el procesamiento de la información contextual (Brown y Agletton, 2001).

2.2 Dopamina

2.2.1 Sistema dopaminérgico

La dopamina es un neurotransmisor del grupo de las catecolaminas que también incluye a la epinefrina y norepinefrina. El 80% de las catecolaminas ubicadas en el sistema nervioso central corresponde a la dopamina. Su estructura está constituida por un grupo amino (un núcleo catecol compuesto por un anillo de benceno, unido a dos grupos hidroxilo) y una cadena de etilamina (Cooper, Bloom y Roth, 2003) (ver figura 3).

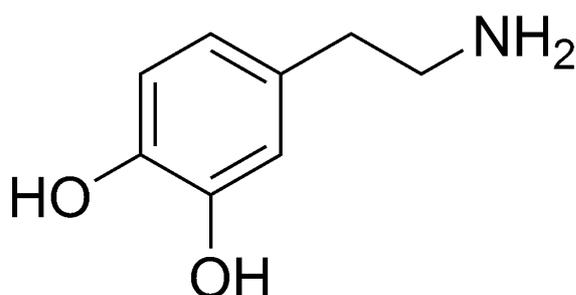


Figura 3. Arreglo molecular de la dopamina (modificado de Carlson, 2006).

La vía de síntesis para este neurotransmisor se inicia con la fenilalanina, ingresada al organismo a través de la dieta. Por medio de la acción de la enzima fenilalanina-hidroxilasa, este aminoácido se transforma en tirosina que posteriormente es transformada en L-3-4 dihidroxifenilalanina (L-Dopa); la descarboxilación de la L-Dopa mediante la enzima L-hidroxilasa de aminoácidos aromáticos da como resultado la síntesis de la dopamina (Cooper y cols., 2003).

El sistema dopaminérgico se agrupa en cuatro principales vías o subsistemas, los cuales se describen en Purves, 2004 (ver figura 4).

- *Vía Mesocortical.* Se origina en el área ventral tegmental (AVT) y proyecta hacia la corteza prefrontal. Participa en procesos de aprendizaje, memoria de trabajo, planeación, resolución de problemas y procesos atentos.
- *Vía Mesolímbica.* Se origina en el AVT, proyecta hacia el núcleo accumbens, el tubérculo olfatorio y otras regiones del sistema límbico. Participa en la codificación de la relevancia y el valor afectivo de los reforzadores, por lo que es de suma importancia para los procesos motivacionales. Su déficit se asocia también con distintas enfermedades como la esquizofrenia o el trastorno de déficit de atención con hiperactividad (TDAH).
- *Vía Nigro-estriatal.* Se origina en el mesencéfalo, en la sustancia nigra pars compacta y el AVT. Esta vía tiene participación en la conducta motora simple y compleja a través de los circuitos que conectan al tálamo, ganglios basales y corteza cerebral. Déficits en esta vía se asocian con la enfermedad de Parkinson.
- *Vía Tuberoinfundibular.* Se origina en el núcleo arcuato del hipocampo y proyecta hasta la región infundibular de la hipófisis.

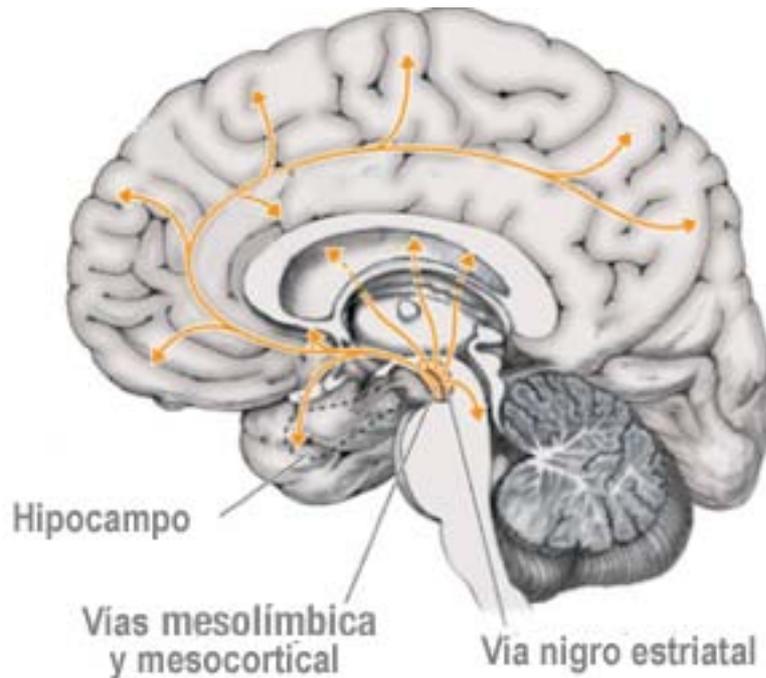


Figura 4. Esquema de las vías dopaminérgicas (modificado de Kalat, 2009).

La acción de la dopamina está mediada por receptores metabotrópicos de siete dominios transmembranales y acoplados a proteínas G. Existen dos grandes tipos principales de receptores dopaminérgicos que se categorizan por su capacidad de estimular o inhibir la vía AMP cíclico – proteína-quinasa A:

- *Familia D₁-like*: Comprende a los receptores D₁ y D₅. Se caracteriza por incrementar la actividad de la adenilatociclasa por medio de la proteína G_s.
- *Familia D₂-like*: Está conformada por los receptores D₂, D₃ y D₄, acoplados a proteína G_i, por lo tanto la estimulación de estos receptores produce una inhibición de la adenilatociclasa. Además, impide la entrada de Ca⁺⁺ al interior de la membrana y fomenta la permeabilidad al K⁺.

La tabla 1 muestra a grandes rasgos la distribución de los receptores dopaminérgicos en el sistema nervioso central.

Receptor	Familia	Localización principal
D1	D ₁ -like	Estriado, corteza, corteza perirrinal, hipocampo
D2	D ₂ -like	Hipotálamo, hipocampo.
D3	D ₂ -like	Estriado, pars compacta de la sustancia nigra, pituitaria.
D4	D ₂ -like	Tubérculo olfatorio, núcleo accumbens, hipotálamo.
D5	D ₁ -like	Corteza frontal, médula espinal, mesencéfalo.

Tabla 1: Distribución de la mayor densidad de los receptores dopaminérgicos en el sistema nervioso central (modificado de Purves, 2004).

La dopamina es un neurotransmisor clave en la regulación de los procesos cognoscitivos, como la memoria, el aprendizaje, la motivación, la atención, etc. Durante los últimos años, diversas investigaciones han demostrado que la acción de los receptores dopaminérgicos puede mediar diferentes efectos en la memoria de reconocimiento (Lima y cols., 2011). También se ha evidenciado que en este tipo de memoria participa la vía dopaminérgica nigro-estriatal (Rossato y cols., 2009).

Un estudio realizado por Lima y colaboradores en 2011, indicó que la activación de los receptores D1 puede mejorar la consolidación de la memoria de reconocimiento de objetos. En dicho estudio, los investigadores administraron intraperitonealmente (i.p.) en ratas, dos fármacos agonistas dopaminérgicos: el SKF38393 para receptores D1 y quinpirol para receptores D2. Posterior a la inyección, las ratas fueron expuestas a una tarea de reconocimiento de objetos. Los resultados mostraron que la acción del SKF38393 potenciaba la

memoria de reconocimiento de largo plazo (24 y 72 horas post-entrenamiento), mientras que la acción del quinpirol no tuvo efectos sobre la memoria de reconocimiento. Así, los datos obtenidos sugirieron que hay una participación de los receptores D1 en la memoria de reconocimiento, al contrario de los D2, en los cuales no se encontraron efectos con la administración de este agonista sintético. Como parte de esa misma investigación y utilizando exactamente el mismo protocolo, Lima y colaboradores realizaron un segundo experimento pero esta vez administrando i.p. antagonistas de los receptores D1 (SCH23390) y D2 (raclopride), cuyos resultados demostraron un déficit en la memoria de reconocimiento cuando las ratas fueron inyectadas con SCH23390 pero no con raclopride. Esto demostró nuevamente que existe una participación diferencial de los receptores D1 en la formación de la memoria de reconocimiento.

Para investigar la participación de la dopamina en el condicionamiento de aversión al sabor en ratas, Guzmán-Ramos y colaboradores estudiaron en 2010, la liberación de dopamina y glutamato en la corteza insular (localizada igualmente en el lóbulo temporal medial) a través de microdiálisis *in vivo*. Tras estudiar la liberación de estos neurotransmisores bajo este paradigma, estos investigadores inyectaron antagonistas glutamatérgicos y dopaminérgicos para observar si la aversión al sabor permanecía tras bloquear la acción de los receptores. La dosis empleada por ellos fue la misma que se utilizó para el desarrollo de los experimentos en este trabajo, la cual fue de 1.0 μ l por hemisferio cerebral a una tasa de 1.0 μ l/min.

2.3. Hipocampo

2.3.1 Anatomía

El hipocampo es una estructura subcortical localizada en el lóbulo temporal medial y forma parte del sistema límbico. En el hipocampo se pueden distinguir tres regiones (ver figura 5).

- Giro dentado (GD): conformado en su mayoría por células granulares.
- Cuerno de Amón (CA): formado por neuronas piramidales e incluye las regiones CA1, CA2, CA3 y CA4.

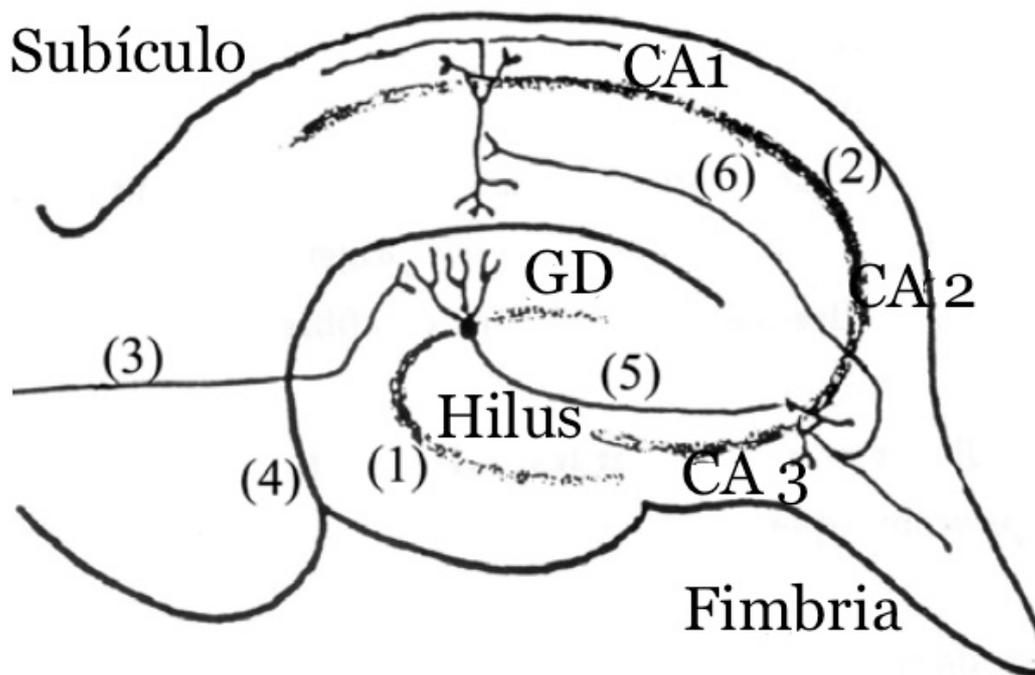


Figura 5: Esquema topográfico de un plano sagital del hipocampo. El hipocampo está conformado por dos regiones: el giro dentado (GD) y el cuerno de Amón (CA). El giro dentado tiene una forma de "V" o de "U". El CA es una estructura curva incrustada en el GD. El *hilus* corresponde a la porción interna del GD. La región CA está dividida en 4 subregiones: CA1, CA2, CA3 y CA4. La región CA1 es adyacente al subículo. La región CA3 es adyacente a la región fimbria/fórnix. CA2 es una pequeña región entre CA1 y CA3, y CA4 se encuentra localizada en el *hilus* del GD. (1) células granulares del GD, (2) células piramidales del CA, (3) vía perforante, (4) fisura hipocampal, (5) fibras musgosas, (6) colaterales de Schaeffer (modificado de Taupin, 2007).

Taupin (2007) describe la organización de las regiones hipocampales. Las células de las principales regiones del GD y CA tienen distinta morfología, tamaño y conexiones y la capa de células granulares es la principal capa del giro dentado. La capa de células piramidales es la capa principal del CA. Las principales vías del hipocampo están organizadas en un circuito trisináptico. El primer sitio de sinapsis corresponde a las aferencias principales del hipocampo, las células piramidales de la capa II de la corteza entorrinal; sus axones, las fibras perforantes, proyectan células granulares hacia la fisura hipocampal, la cual es una división natural que separa el DG de la región CA1. Las células granulares proyectan sus axones, las fibras musgosas, a las dendritas de las células piramidales de CA3, formando el segundo sitio de relevo del circuito. Las células piramidales de CA3 envían las colaterales de Schaeffer hacia las células piramidales de CA1 formando el tercer sitio de relevo del circuito trisináptico hipocampal. La organización trisináptica de las principales capas celulares del hipocampo desde la corteza entorrinal, viaja a través del hipocampo de manera unidireccional primeramente y el sistema fimbria-fórnix es la principal salida del hipocampo.

2.3.2 Participación en la memoria de reconocimiento.

El hipocampo es una estructura que está mayormente relacionada con la información contextual y espacial. Actualmente la literatura reporta que las neuronas hipocampales codifican la información de la posición en el espacio en ratas (Brown y Aggleton, 2001). Esta evidencia sugiere que el hipocampo tiene un rol en la memoria de reconocimiento, el cual involucra la información

con componentes asociativos y espaciales; es decir, recordar que un estímulo particular ocurrió en un lugar particular.

Estudios con lesiones en cerebros de ratas han corroborado esta hipótesis; por ejemplo, lesiones parciales e incluso la remoción total del hipocampo en ratas provocan altos déficits en el desempeño de tareas de navegación espacial y en tareas de memoria de trabajo espacial, en las cuales los animales deben discriminar lugares en donde previamente ya habían estado (Brown y Aggleton, 2001).

Balderas y colaboradores en 2008 estudiaron la participación de diversas estructuras del lóbulo temporal medial en la memoria de reconocimiento de contexto. Para esto, utilizaron un protocolo basado en el paradigma de preferencia de un objeto familiar en un contexto novedoso, en el cual se permitió que ratas exploraran libremente dos objetos diferentes en un contexto 1 (una caja cuadrada); 24 horas después las ratas se introdujeron al contexto 2 (una caja ovalada) con dos objetos idénticos (copias de alguno de los objetos presentados anteriormente) y se les permitió explorarlos libremente por 10 minutos. En la prueba de memoria se introdujeron nuevamente a las ratas al contexto 2 y se les permitió explorar libremente durante 3 minutos una copia del objeto previamente presentado en el contexto 2 y una copia del objeto presentado en el contexto 1, pero no presentado previamente en el contexto 2. Las ratas fueron inyectadas con anisomicina o solución vehículo en una de las siguientes estructuras del lóbulo temporal medial: corteza perirrinal, hipocampo, amígdala basolateral y corteza insular, con el objetivo de evaluar la consoli-

dación de la asociación de un objeto familiar presentado en un contexto novedoso.

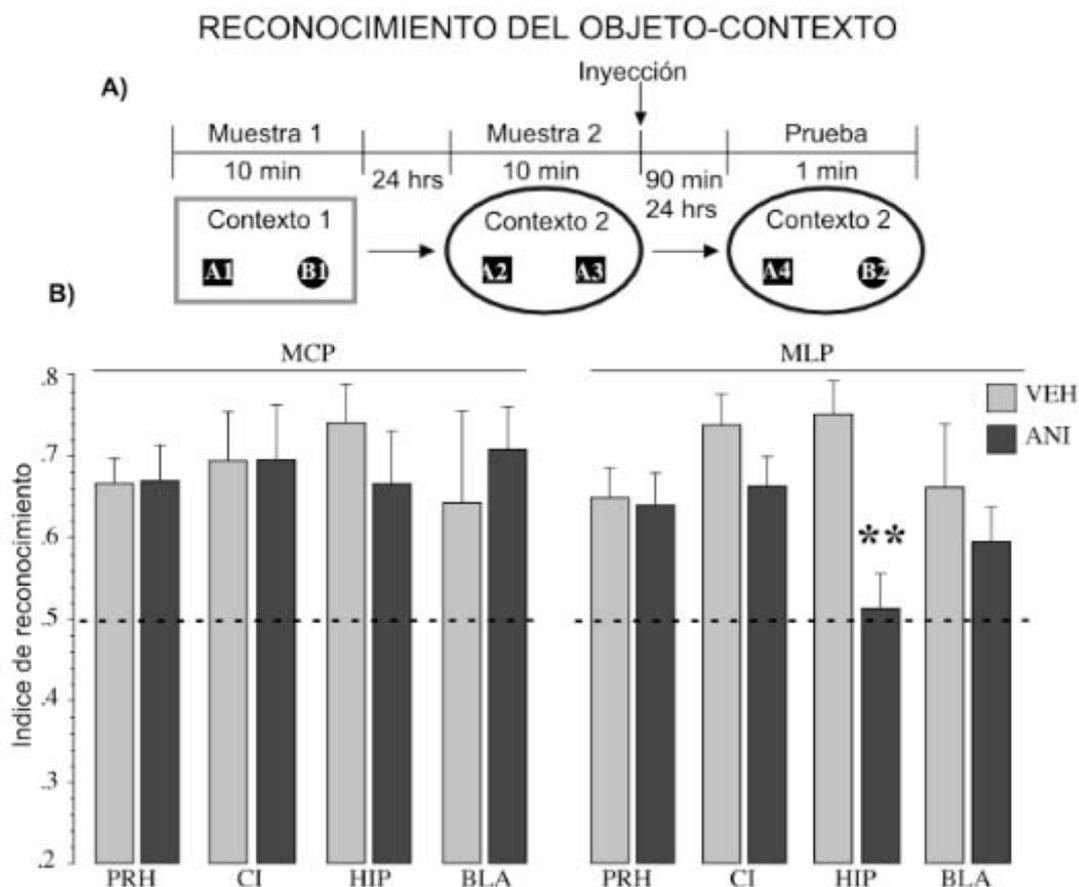


Figura 6. (A) Representación esquemática del protocolo experimental utilizado, a los 90 min (MCP) y 24 h (MLP). (B) Índice de reconocimiento en la prueba de memoria de reconocimiento de la tarea de objeto-contexto. Durante la prueba todos los grupos experimentales fueron capaces de reconocer el objeto familiar en un contexto novedoso excepto por el grupo inyectado con anisomicina en el hipocampo, en el cual, el índice de reconocimiento fue muy cercano a la media hipotética (línea punteada) para ambos objetos (modificado de Balderas y cols., 2008).

Los resultados de este experimento indicaron que únicamente el grupo inyectado con anisomicina en el hipocampo mostró un déficit en el reconocimiento de un objeto familiar en un contexto novedoso a largo plazo. La inyección de

la anisomicina en el hipocampo dorsal bloqueó la memoria de reconocimiento de contextos. Este efecto no se observó en los otros grupos, incluyendo en el grupo de la corteza perirrinal, aportando evidencia a la hipótesis de que el hipocampo participa en el reconocimiento de información contextual más que en el reconocimiento de la familiaridad.

2.4 Corteza Perirrinal

2.4.1 Anatomía

La corteza perirrinal es una estructura subcortical situada en el lóbulo temporal medial, específicamente en las áreas 35 y 36 de Brodmann. Recibe información de todas las regiones sensoriales y juega un gran papel en la memoria de reconocimiento. Está rodeada por las cortezas perirrinal, entorrinal y postrinal, así como por la formación hipocampal (Brown y Aggleton, 2001) (ver figura 7).

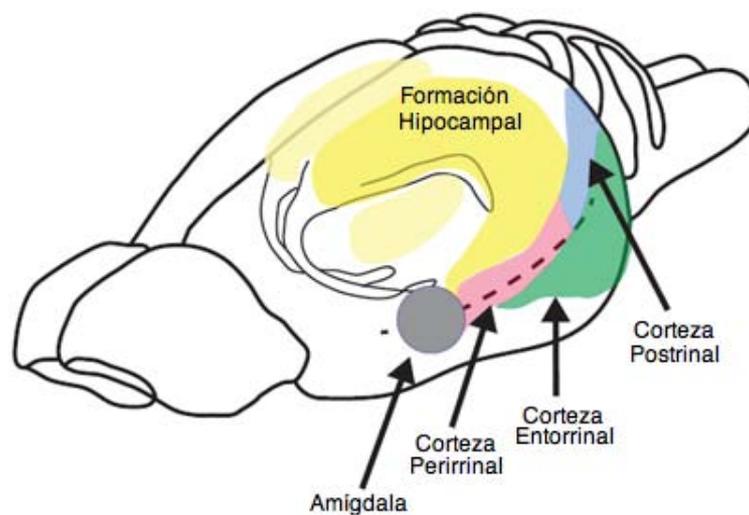


Figura 7. Localización anatómica de la corteza perirrinal en el cerebro de rata (modificado de Murray y Richmond, 2001)

Se han descrito aferencias hacia la corteza orbitofrontal y prefrontal medial, así como a diversas estructuras subcorticales como los ganglios basales, el tálamo, el cerebro medio y la amígdala. Asimismo, la corteza perirrinal tiene conexiones directas con la región CA1 del hipocampo y con el subículo. La

corteza perirrinal proyecta también hacia las neuronas piramidales distales de CA1.

2.4.2 Participación en la memoria de reconocimiento

Como ya se mencionó, la corteza perirrinal juega un papel fundamental en la memoria de reconocimiento. En estudios con electrofisiología se ha observado que la tasa de disparo de las neuronas de la corteza perirrinal disminuye significativamente ante la presencia de estímulos familiares, con respecto a la tasa de disparo observada durante la presentación de un estímulo novedoso (Li y cols., 1993). Esta evidencia sugiere que la corteza perirrinal está relacionada con la discriminación de la familiaridad y la novedad de los estímulos individuales.

Investigaciones con lesiones en la corteza perirrinal demuestran también que existen déficits en la discriminación de objetos novedosos y familiares. A diferencia del hipocampo, la corteza perirrinal tiene poca participación al resolver tareas con información contextual o espacial. Estas lesiones pueden afectar por ejemplo, a la memoria de reconocimiento táctil y olfativa (Brown y Aggleton, 2001).

Actualmente, existe controversia entre la participación del hipocampo y la corteza perirrinal en la memoria de reconocimiento. Como ya se ha mencionado, los hallazgos de diversos estudios sugieren que la corteza perirrinal está altamente involucrada en la recolección de elementos de familiaridad pero no en la de elementos de información contextual, mientras que el hipocampo desempeña un papel importante cuando la memoria de reconocimiento involucra información que tiene un componente asociativo o espacial que parece

no ser necesario para la discriminación de la familiaridad (Ennaceur y cols., 1996; Bussey y cols., 1999; Mumby y cols., 2002; Winters y cols., 2004). Sin embargo, algunos trabajos sugieren que al ser la memoria de reconocimiento de objetos una tarea de discriminación de los estímulos, el hipocampo debe estar igualmente involucrado en procesos de discriminación de la familiaridad (Rossato e Izquierdo, 2007; Squire y cols., 2007).

3. Justificación

En esta investigación se estudió la participación de los receptores dopaminérgicos D1 de dos estructuras involucradas en la formación de la memoria de reconocimiento: el hipocampo y la corteza perirrinal. Como se mencionó en la introducción, actualmente existe evidencia que demuestra la participación de los receptores dopaminérgicos D1 en la formación de la memoria de reconocimiento de objetos con inyecciones intraperitoneales; sin embargo, por tratarse de aplicaciones periféricas no puede saberse con certeza cuáles estructuras cerebrales están involucradas. Hasta hoy, existen pocas investigaciones en las que se haya realizado una administración local de sustancias en el hipocampo para estudiar la participación de esta estructura en la memoria de reconocimiento (Rossato y cols., 2014; Furini y cols., 2014), sin embargo no existe algún trabajo en el que se haya administrado sustancias localmente, tanto en el hipocampo como en la corteza perirrinal para evaluar la participación de los receptores dopaminérgicos de ambas estructuras en la consolidación de la memoria de reconocimiento.

4. Pregunta de Investigación

¿Cuál es la participación de los receptores D1 en la corteza perirrinal y el hipocampo en la formación de la memoria de reconocimiento de objetos de corto y largo plazo?

5. Objetivos

Objetivo general

Analizar la participación de los receptores D1 de la corteza perirrinal y el hipocampo, durante la formación de la memoria de reconocimiento de objetos de corto y largo plazo a través de la administración intracraneal de un antagonista dopaminérgico sintético.

Objetivo específico

Analizar la participación de los receptores D1 de la corteza perirrinal y el hipocampo, utilizando la prueba de memoria de reconocimiento de objetos en roedores, 90 minutos y 24 horas después de la administración de SCH23390.

6. Hipótesis

El bloqueo de los receptores dopaminérgicos D1 afecta la consolidación de la memoria de reconocimiento de objetos de largo plazo en la corteza perirrinal pero no en el hipocampo.

El bloqueo de los receptores dopaminérgicos D1 no afecta la memoria de reconocimientos de corto plazo en la corteza peirrinal o en el hipocampo.

7. Material y método

7.1 Sujetos

Se utilizaron 77 ratas Wistar macho provenientes del bioterio del Instituto de Fisiología Celular con un peso aproximado de 280 gramos y una edad aproximada de 3 meses. Fueron habituadas al bioterio de la División de Neuro-

ciencias de este Insitituto durante 5 días antes del comienzo de los procedimientos experimentales, abastecidas de comida y agua *ad libitum* y se mantuvieron en cajas de acrílico estándar con aserrín en la base. El ciclo de luz-obscuridad fue controlado con una duración de 12 horas, siendo el ciclo de luz de 7 a 19 hrs. Todos los experimentos se realizaron en el ciclo de luz. La temperatura del bioterio y los cuartos experimentales se mantuvo a 22 °C.

7.2 Cirugía

Se realizó una cirugía estereotáxica para implantar cánulas guías bilateralmente en la corteza perirrinal o en el hipocampo, para posteriormente administrar a través de éstas, el fármaco antagonista de los receptores D1, SCH23390 o la solución vehículo.

La anestesia empleada para la cirugía consistió en una mezcla de ketamina (0.3 ml) y xilazina (0.15 ml) administrada i.p.

Se realizaron los trépanos en el cráneo para colocar las cánulas intracranalmente con las siguientes coordenadas estereotáxicas:

Estructura	Anteroposterior	Lateral	Dorsoventral
Cx Perirrinal	-3 mm	± 6.5 mm	-5 mm
Hipocampo	-3.6 mm	± 3 mm	-2.3 mm

Tabla 2: Coordenadas para la colocación de las cánulas intracraneales, con referencia en bregma (Paxinos y Watson, 1986).

Las cánulas se fijaron al cráneo con cemento dental mediante dos tornillos, 2 mm arriba del centro de la inyección. Se colocó un mandril en cada cánula

para evitar que se taparan. Posterior a la cirugía, el tiempo de recuperación fue de 13 días antes de realizar la habituación y el protocolo conductual.

7.3 Microinyección

Se utilizaron bombas de microinyección con jeringas Hamilton de 10.0 μ l para la administración bilateral del fármaco o de la solución vehículo. El volumen total inyectado para cada rata fue de 1.0 μ l por hemisferio cerebral, a una tasa de 1.0 μ l/min dejando un minuto extra para la difusión del fármaco antes de retirar los microinyectores (Guzmán-Ramos y cols., 2010).

En los grupos controles se administró 1.0 μ l de solución vehículo intracraneal y bilateralmente, mientras que en los grupos experimentales se administró 1.0 μ l de SCH23390 intracraneal y bilateralmente.

7.4 Aparatos experimentales

Se utilizaron 4 cajas experimentales de madera pintadas de color gris de 40 x 40 x 60 cm con el piso cubierto con aserrín. Todas las cajas se mantuvieron en el mismo cuarto experimental, con las mismas condiciones de luz y temperatura. Se colocó una videocámara por encima de las cajas para grabar todas las sesiones.

Los objetos a discriminar fueron focos blancos (6 cm de diámetro y 11 cm de largo) y frascos transparentes de vidrio (5.5 cm de diámetro y 5 cm de alto). Todos los objetos se fijaron al piso de las cajas con velcro para evitar ser desplazados por las ratas. Los objetos se colocaron en las esquinas traseras de las cajas a 10 cm de las paredes. Para evitar señales olfativas entre cada

ensayo los objetos se limpiaron minuciosamente con etanol al 70% y el aserrín de las cajas se revolvió entre cada ensayo.

7.5 Habitación y procedimiento conductual

Posterior al tiempo de recuperación de la cirugía, los animales fueron habituados a las cajas experimentales durante 5 días por 3 minutos, teniendo un minuto de manipulación por parte del experimentador antes y después de ser introducidos a las cajas. Cada rata fue asignada a una sola caja durante todo el procedimiento.

La habitación y los experimentos se realizaron a las 10 am. Los animales fueron trasladados del bioterio al cuarto experimental una hora antes del procedimiento conductual y fueron devueltos una hora y media después, con el fin de evitar situaciones de estrés que pudieran afectar la ejecución de la tarea, así como la consolidación de la misma.

7.6 Grupos y fases experimentales

La investigación se dividió en 2 experimentos. En el experimento 1 se estudió la participación de los receptores D1 en la tarea de memoria de reconocimiento de objetos de corto plazo (MCP), tanto en del hipocampo (Hip) como de la corteza perirrinal (Prh). Existieron 4 grupos experimentales para dicha fase de la investigación:

- MCP-Prh-Veh: Grupo control (vehículo) para la corteza perirrinal (n=7).
- MCP-Prh-SCH: Grupo experimental (SCH23390) para la corteza perirrinal (n=9).

- MCP-Hip-Veh: Grupo control (vehículo) para el hipocampo (n=8).
- MCP-Hip-SCH: Grupo experimental (SCH23390) para el hipocampo (n=7).

En el experimento 2 se estudió la participación de los receptores D1 de la corteza perirrinal (Prh) y del hipocampo (Hip) durante la consolidación de la memoria de reconocimiento de objetos (memoria de largo plazo, MLP). De la misma manera, existieron 4 grupos experimentales para esta fase de la investigación:

- MLP-Prh-Veh: Grupo control (vehículo) para la corteza perirrinal (n=15).
- MLP-Prh-SCH: Grupo experimental (SCH23390) para la corteza perirrinal (n=15).
- MLP-Hip-Veh: Grupo control (vehículo) para el hipocampo (n=8).
- MLP-Hip-SCH: Grupo experimental (SCH23390) para el hipocampo (n=8).

Todos los experimentos se realizaron con grupos independientes, es decir, cada rata fue implantada únicamente para una región cerebral y sólo tuvo una prueba de memoria.

Protocolo experimental de la tarea de memoria de reconocimiento de objetos

1. Fase de muestra

Después de los cinco días de habituación los animales fueron colocados en las cajas experimentales con dos objetos similares. La fase de muestra tuvo una duración de 5 minutos y toda la sesión fue videograbada para su análisis posterior (ver figura 8).

Después de la presentación de los objetos en la fase de muestra, el intervalo de presentación entre los objetos familiares y los novedosos fue de 90 minutos para el experimento 1 y 24 horas para el experimento 2 (ver figura 8).

2. Prueba de memoria

Los animales se introdujeron nuevamente a las cajas experimentales con un objeto familiar y un objeto novedoso. Esta fase tuvo una duración de 1 minuto y toda la sesión fue videograbada para su análisis posterior.

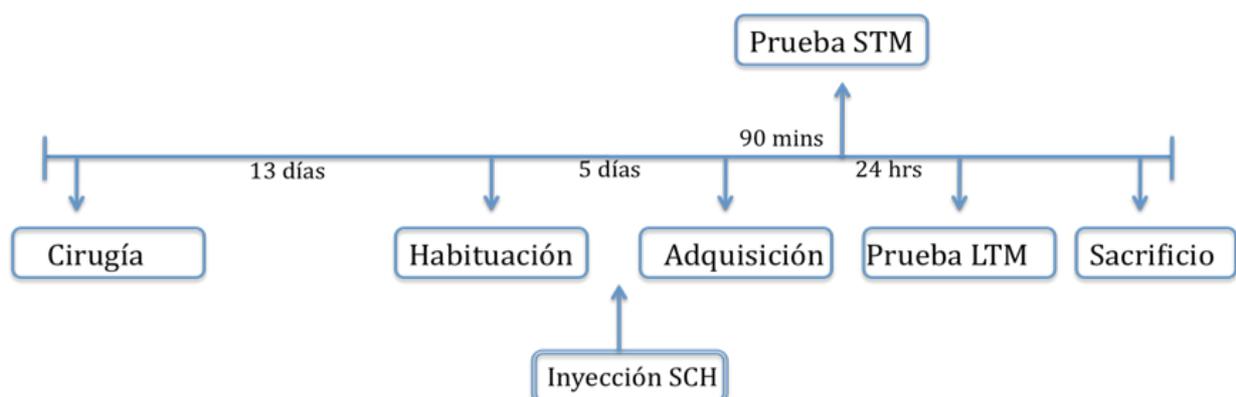


Figura 8. Esquematización temporal del protocolo de memoria de reconocimiento de objetos utilizado en esta investigación.

7.7 Histología

Al finalizar los experimentos los animales fueron sacrificados con una sobredosis de pentobarbital sódico y perfundidos intracardiácamente con solución salina al 0.9%. Se removieron los cerebros, los cuales fueron guardados individualmente en formaldehído al 4% y conservados a una temperatura de 4 °C y después transferidos a sacarosa al 30%. Se cortaron secciones de 40 µm de grosor, las cuales fueron teñidas con violeta de cresilo y analizadas a través de microscopía de luz. Todos los animales incluidos en el análisis estadístico tenían las cánulas en la región de interés.

7.8 Análisis de datos

La conducta exploratoria fue cronometrada y se calculó el índice de reconocimiento, entendido como el tiempo de exploración del objeto novedoso en función del tiempo total de exploración de ambos objetos (tiempo de exploración del objeto novedoso / tiempo de exploración del objeto familiar + tiempo de exploración del objeto novedoso). Un índice igual a 0.5 indicó que no había preferencia por ninguno de los objetos, mientras que un índice estadísticamente mayor a 0.5 mostró que existía preferencia por alguno de los objetos (Balderas y cols., 2008).

Los datos se recopilaron y se analizaron empleando el software Statview. Se utilizó una prueba *t* de student no pareada para determinar las diferencias estadísticas entre las dos condiciones, vehículo o fármaco. Para determinar si un grupo era diferente del nivel de ejecución al azar se utilizó la prueba *t* de

una muestra para así conocer si los índices de reconocimiento eran distintos a 0.5.

Se realizó igualmente una prueba ANOVA de dos vías para corroborar si existía una interacción entre los tiempos de exploración de las diferentes condiciones del experimento (fármaco y estructura cerebral).

Para corroborar que los datos cumplieran con los parámetros de normalidad y homogeneidad se utilizó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk y la prueba de homogeneidad de varianzas.

7.9 Consideraciones éticas

Se realizó el mayor esfuerzo para evitar el sufrimiento y malestar de los animales empleados en esta investigación. Todos los procedimientos quirúrgicos se realizaron bajo anestesia profunda y se brindó un tiempo de recuperación de 13 días para iniciar los experimentos.

Todas las normativas y consideraciones éticas utilizadas en esta investigación estuvieron basadas en la guía de uso y cuidado de animales de laboratorio del Consejo Nacional de Investigación (National Research Council) de Estados Unidos (2011), aprobada por el comité institucional para el cuidado y uso de los animales de laboratorio del Instituto de Fisiología Celular de la UNAM.

8. Resultados

La prueba de normalidad de Shapiro-Wilk reveló que la distribución de los datos correspondió a una distribución normal [$W=0.9472$, $p=0.009$].

Así mismo, la prueba de homogeneidad de varianzas corroboró que los datos eran homogéneos [$F=1.3289$, $p=0.0434$].

Experimento 1.

Se obtuvieron los índices de reconocimiento para los objetos familiar y novedoso. Un índice de reconocimiento igual a 0.5 indicaba que no existía una preferencia por alguno de los objetos, mientras que un índice mayor a 0.5 indicó una preferencia por ese objeto. Como ya se mencionó, para realizar la comparación de los índices de reconocimiento entre grupos se utilizó una prueba t de student no pareada. La figura 9 muestra los índices de reconocimiento para los 4 grupos en el experimento de memoria de corto plazo.

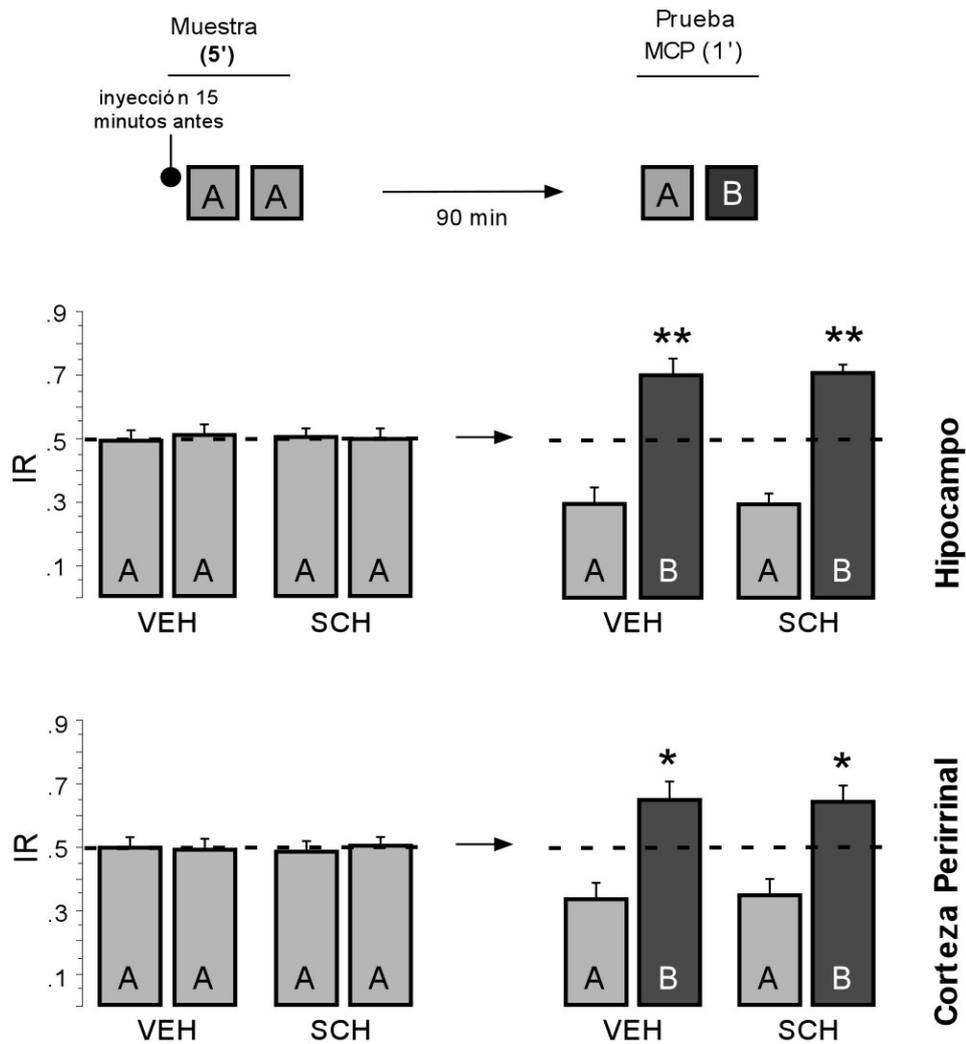


Figura 9. Se muestran los índices de reconocimiento para los objetos familiar A y novedoso B \pm error estándar. En la fase de muestra las ratas fueron expuestas a dos objetos idénticos A-A por cinco minutos y la prueba de memoria fue realizada 90 minutos después de la fase de muestra. En la prueba se presentó un objeto familiar A y uno novedoso B. Todos los grupos mostraron una preferencia por explorar el objeto novedoso tras una administración intracra- neal de SCH23390 (SCH) o solución vehículo (veh) 15 minutos antes de la prueba. * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$.

Durante la fase de muestra todos los grupos mostraron tiempos de exploración similares para cada uno de los objetos idénticos (ver tabla 2). La prueba t de una muestra no mostró diferencias entre los tiempos de exploración de ambos objetos en ninguno de los grupos:

- MCP-Prh-Veh ($p = 0.97$)
- MCP-Prh-SCH ($p = 0.77$)

- MCP-Hip-Veh ($p = 0.74$)
- MCP-Hip-SCH ($p = 0.93$).

Durante la fase de prueba (90 minutos después de la fase de muestra) la prueba t de una muestra mostró que la preferencia por el objeto novedoso fue diferente del nivel de azar ($IR=0.5$) en todos los grupos:

- MCP-Prh-Veh ($p < 0.02$)
- MCP-Prh-SCH ($p < 0.02$)
- MCP-Hip-Veh ($p < 0.01$)
- MCP-Hip-SCH ($p < 0.001$)

Así mismo, se realizó una prueba ANOVA de dos vías, la cual no reveló un efecto significativo en el tiempo de exploración en ninguno de los grupos. Esta prueba no reveló efectos significativos para el fármaco [$F_{(1,27)} = 0.010$, $p=0.92$], estructura [$F_{(1,27)} = 1.24$, $p = 0.27$] o para la interacción del fármaco y la estructura [$F_{(1,27)} = 0.01$], $p = 0.91$].

Estos resultados indicaron que la actividad de los receptores D1 en la corteza perirrinal o el hipocampo no participan en la memoria de reconocimiento de corto plazo y mostraron también que las ratas fueron capaces de adquirir información sobre los objetos con la presencia del antagonista dopaminérgico.

Experimento 2

Se obtuvieron los índices de reconocimiento para los objetos familiar y novedoso. Para la comparación de los índices de reconocimiento se utilizó una prueba t no pareada. La figura 10 muestra los índices de reconocimiento para los 4 grupos en el experimento de memoria de largo plazo.

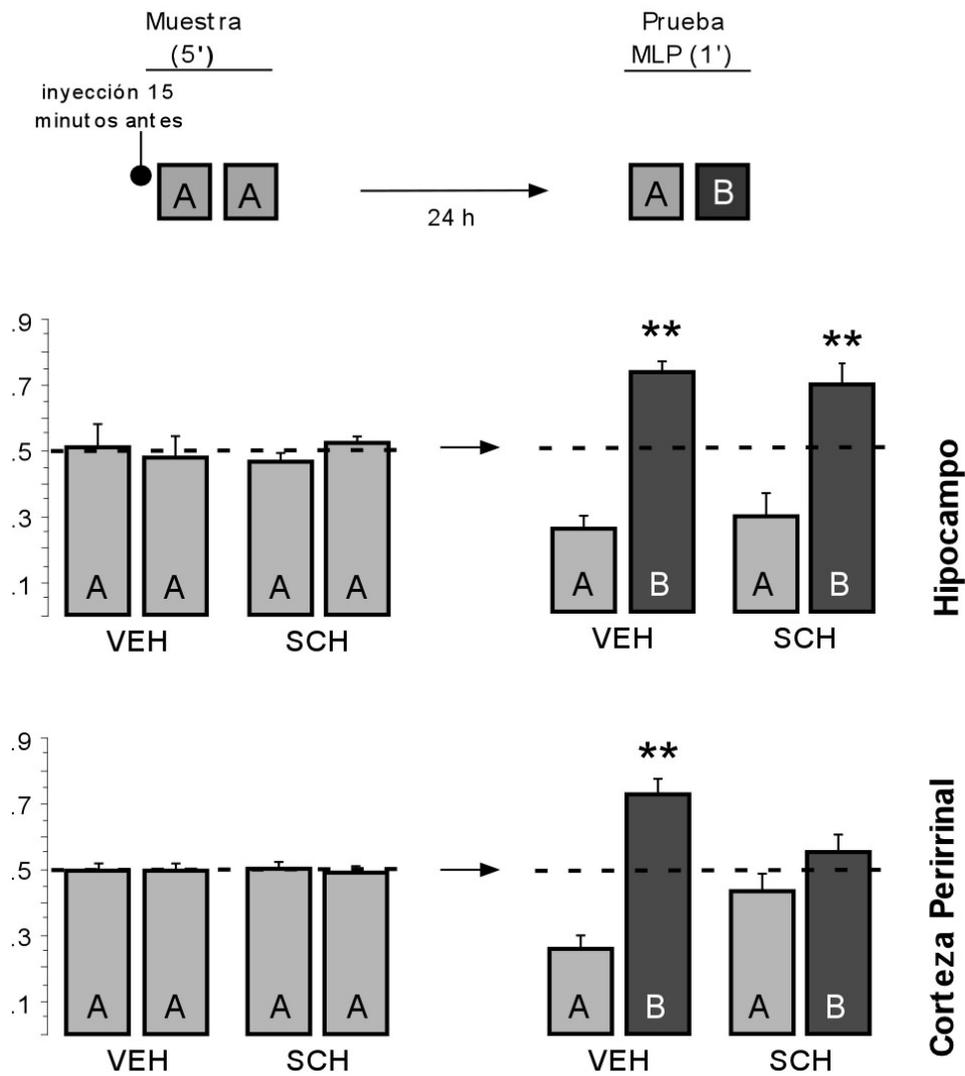


Figura 10. Se muestran los índices de reconocimiento para los objetos familiar A y novedoso B \pm error estándar. En la fase de muestra las ratas fueron expuestas a dos objetos idénticos A-A por cinco minutos y la prueba de memoria fue realizada 24 horas después de la fase de muestra. En esta prueba se presentó un objeto familiar A y uno novedoso B. Todos los grupos mostraron una preferencia por explorar el objeto novedoso tras una inyección intracra-Neal de SCH23390 (SCH) o solución vehículo (veh) 15 minutos antes de la fase de muestra, excepto el grupo inyectado con el antagonista dopaminérgico en la corteza perirral (MLP-Prh-SCH). * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$.

Durante la fase de muestra, todos los grupos mostraron tiempos de exploración similares para cada uno de los objetos idénticos (ver tabla 3). La prueba *t* de una muestra no mostró diferencias entre los tiempos de exploración de ambos objetos en ninguno de los grupos:

MLP-Prh-Veh ($p = 0.63$).

MLP-Prh-SCH ($p = 0.66$).

MLP-Hip-Veh ($p = 0.81$).

MLP-Hip-SCH ($p = 0.29$).

Durante la fase de prueba (24 horas después de la fase de muestra), la prueba *t* de una muestra mostró que la preferencia por el objeto novedoso fue diferente del nivel de azar ($IR = 0.5$) en todos los grupos, excepto en el grupo experimental con infusión de SCH23390 en la corteza perirrinal.

MLP-Prh-Veh ($p < 0.001$).

MLP-Prh-SCH ($p = 0.25$).

MLP-Hip-Veh ($p < 0.001$).

MLP-Hip-SCH ($p = 0.01$).

Una de las pruebas *t* no pareada indicó diferencias entre los tratamientos (vehículo vs. SCH23390) para la corteza perirrinal ($t_{(29)} = 2.31$, $p < 0.03$), pero no para el hipocampo ($t_{(14)} = 0.53$, $p = 0.60$).

La prueba ANOVA de dos vías reveló un efecto significativo debido al fármaco [$F_{(1,42)} = 4.7, p = 0.03$] pero no así para las estructuras [$F_{(1,42)} = 1.92, p = 0.17$] o para la interacción de fármaco y estructura [$F_{(1,42)} = 1.93, p = 0.17$].

Estos resultados sugieren que el antagonista dopaminérgico SCH23390 tuvo efectos sobre la consolidación de la memoria de reconocimiento cuando es infundido en la corteza perirrinial, pero no en el hipocampo.

Así mismo, se contabilizó el tiempo total de exploración para todas las fases de la investigación, el cual fue similar para los grupos de la corteza perirrinial y el hipocampo, así como para los grupos control y experimentales. Estos resultados sugieren que la infusión de SCH23390 en la corteza perirrinial o el hipocampo no modificó los procesos motores o motivacionales.

La tabla 3 muestra el tiempo total de exploración en los experimentos.

	MCP		MLP		
	Vehículo	SCH23390	Vehículo	SCH23390	
A	24.7 ± 5.8	21 ± 3.0	17.6 ± 5.8	24.6 ± 4.2	Hipocampo
	$t_{13} = 0.55 \quad p = 0.59$		$t_{14} = 1.48 \quad p = 0.18$		
	MCP		MLP		
	Vehículo	SCH23390	Vehículo	SCH23390	
C	28.0 ± 6.0	18.9 ± 3.1	32.5 ± 3.7	24.9 ± 4.2	Corteza perirrinial
	$t_{14} = 1.43 \quad p = 0.18$		$t_{28} = 1.34 \quad p = 0.19$		

Tabla 3. Tiempos de exploración totales en segundos ± error estándar. A y B son los tiempos de exploración para el hipocampo en las pruebas de corto y largo plazo respectivamente. C) y D son los tiempos de exploración para la corteza perirrinial de corto y largo plazo respectivamente. Una prueba t no pareada mostró que no hay diferencias entre los grupos inyectados con el fármaco o el vehículo.

9. Discusión

Los resultados de esta investigación permiten estudiar el rol de la dopamina en la formación de la memoria.

Se ha sugerido en estudios previos que los receptores dopaminérgicos D_{1-like} pueden modular la plasticidad neuronal y los mecanismos mediante los cuales la memoria de largo plazo es almacenada (Huang y Kandel, 1995; Lisman y cols., 2011). Existe evidencia de que la acción de los receptores dopaminérgicos D1 interviene en la consolidación de la memoria de reconocimiento. Lima y colaboradores (2011) mostraron que inyecciones sistémicas de antagonistas o agonistas dopaminérgicos D1 pueden influir en la consolidación de la memoria de objetos, incrementándola o disminuyéndola. De igual manera, estos resultados descartan la participación de los receptores dopaminérgicos D2 en la formación de este tipo de memoria.

Otros estudios también han mostrado que la actividad de los receptores D1 está involucrada en eventos plásticos, como lo es la potenciación a largo plazo (PLP) de fase tardía, relacionada a la consolidación de la memoria. La conclusión de estos estudios sugiere que la actividad de estos receptores puede estar involucrada en la síntesis de proteínas necesaria para la PLP de fase tardía (Huang y Kandel, 1995).

Estudios anteriores que trabajaron con inyecciones periféricas de agonistas o antagonistas dopaminérgicos dan un primer acercamiento a la participación de los receptores D1 en la consolidación de la memoria de reconocimiento (Besheer y cols., 1999; Lima y cols., 2011).

Este trabajo concuerda con los resultados presentados en 1999 por Besheer y colaboradores. En dicha investigación se utilizó igualmente la tarea de memoria de reconocimiento de objetos en ratas, previamente inyectando i.p. solución salina, SCH23390 o eticlopride (un antagonista de receptores dopamínicos D_{2-like}). En la fase de muestra todos los grupos de roedores pasaron el mismo tiempo explorando ambos objetos similares; sin embargo en la prueba de memoria, únicamente los grupos inyectados con solución vehículo y eticlopride pasaron más tiempo explorando el objeto novedoso, mientras que el grupo inyectado con SCH2390 no discriminó entre el objeto familiar y el novedoso, como se aprecia en la figura 11.

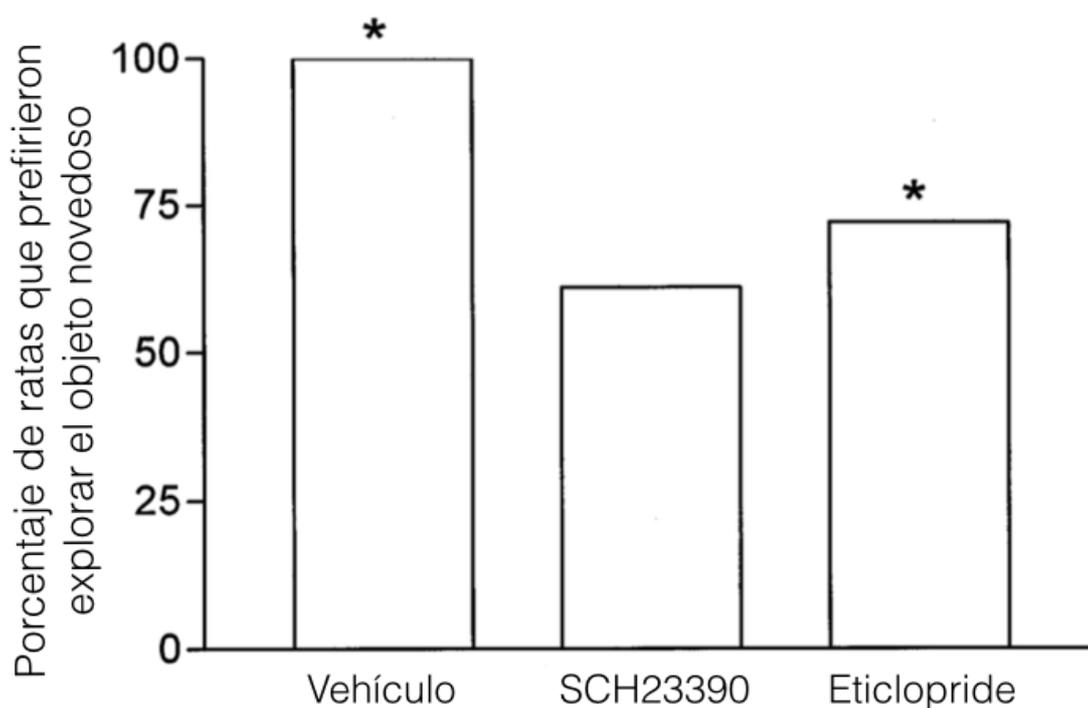


Figura 11. Muestra el porcentaje de ratas que pasaron más del 50% del tiempo de exploración con el objeto novedoso durante la tarea de memoria de reconocimiento de objetos después de un tratamiento con solución salina, SCH23390 (0.1 mg/kg) o eticlopride (0.3 mg/kg) (modificado de Besheer y cols., 1999).

Estos resultados concuerdan y son un antecedente primordial que sustenta esta investigación. Besheer y colaboradores descartan la participación de los receptores *D_{2-like}* en la consolidación de la memoria de reconocimiento, al demostrar que no existe un efecto significativo tras la administración de un antagonista D2 como es el eticlopride. Empero, la participación de los receptores D1 se ve claramente afectada cuando se administra un antagonista D1 (SCH23390) produciendo un efecto amnésico en los roedores inyectados con este fármaco, al no pasar más tiempo explorando el objeto novedoso en la fase de prueba. Una desventaja de trabajar con la administración periférica de algún fármaco es que no se puede saber con certeza qué estructuras cerebrales están participando en los procesos de consolidación de dicha memoria.

En otros estudios realizados por Lima y colaboradores en 2011, se puede apreciar también la participación de los receptores D1 en la consolidación de la memoria de reconocimiento. Utilizando el protocolo de memoria de reconocimiento de objetos, estos investigadores encontraron que puede existir una potenciación en este tipo de memoria al administrar un agonista dopaminérgico D1 intraperitonealmente. Para dicha investigación, se utilizaron agonistas D1 y D2 a distintas dosis para de nuevo investigar la participación de ambos receptores en la memoria de reconocimiento. Los resultados mostraron que existe una potenciación de la memoria a las 24 horas e incluso 72 horas después de la presentación de los objetos idénticos cuando se administró a las ratas el agonista dopaminérgico D1 SKF38393; sin embargo, esta potenciación no sucedió cuando se administró el agonista dopaminérgico D2 quinpiro-

le. La figura 12 muestra los efectos del SKF38393 en la consolidación de la memoria de reconocimiento.

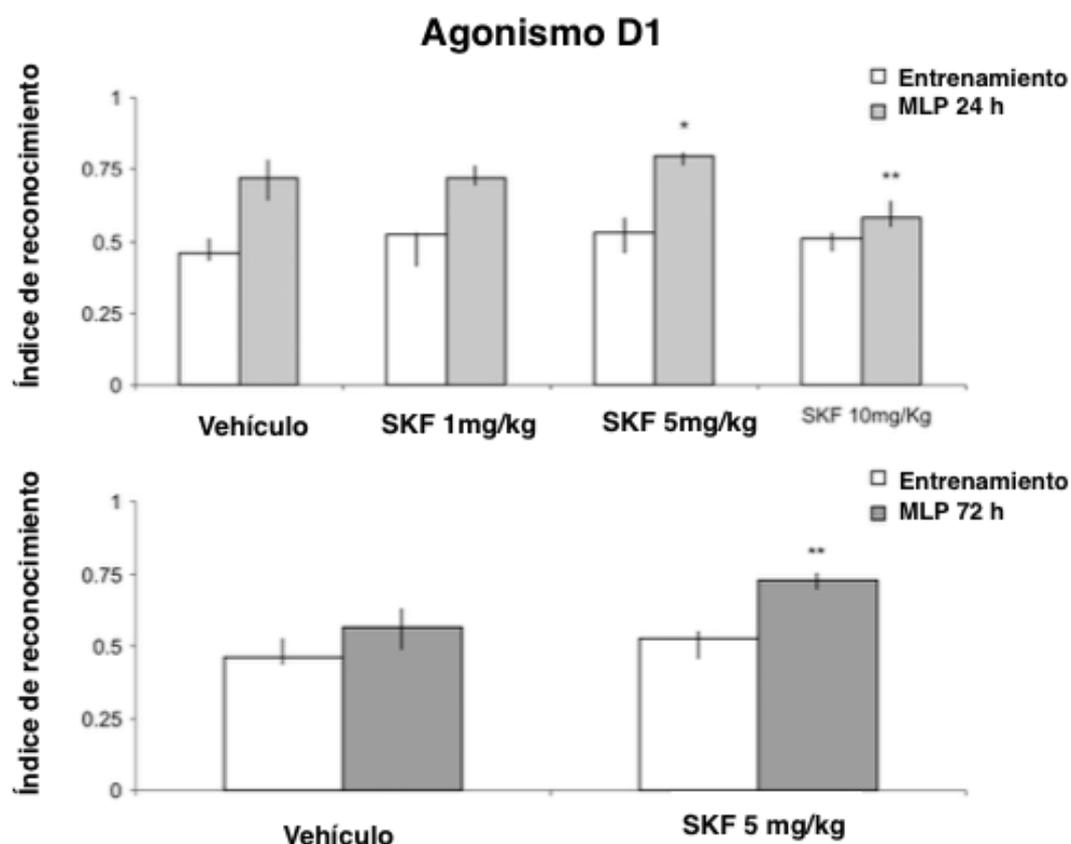


Figura 12. Efectos de la administración sistémica postentrenamiento del agonista dopaminérgico D1 SKF38393 en la consolidación de la memoria de reconocimiento. La gráfica A muestra la prueba realizada 24 horas después de la fase de muestra y la gráfica B 72 horas después (modificado de Lima y cols., 2011).

La gráfica anterior muestra que existe una potenciación de la memoria de reconocimiento de objetos 24 horas después de la fase de muestra tras una administración periférica del agonista SKF38393 a 5 mg/kg. Existe un efecto paradójico cuando se administra el agonista SKF38393 a dosis mayores, probablemente porque el efecto de este fármaco produce un patrón de U invertida en una curva dosis-respuesta, como explican los autores de esta investigación. Asimismo, estos autores reportan una persistencia del efecto po-

tenciador de la memoria 72 horas después de la fase de muestra, cuando el SKF23390 es administrado a una dosis de 5 mg/kg intraperitonealmente. De nuevo, estos resultados demuestran que existe una participación de los receptores dopaminérgicos D1 en la consolidación de la memoria de reconocimiento a largo plazo.

Los autores de esta investigación no reportaron efectos sobre la memoria de reconocimiento utilizando antagonistas dopaminérgicos, tanto D1 como D2. Estos resultados contrastan con los presentados en esta tesis, debido probablemente a las condiciones que se utilizaron en el estudio de Lima y colaboradores, puesto que en el protocolo empleado por ellos se suministraba una dosis de fármaco que no fue suficiente para causar un daño en la memoria.

En la literatura actual es ampliamente aceptado que la memoria de reconocimiento posee al menos, dos componentes: el juicio de familiaridad y la recolección de información contextual (Brown y Aggleton, 2001; Yonelinas y cols., 2002). Un gran número de estudios sugiere que la corteza perirrinal y el hipocampo contribuyen diferencialmente a estos componentes. Por ejemplo, varios estudios reportan que la corteza perirrinal es necesaria para la consolidación de la información sobre los objetos (Winters y Bussey, 2004; Balderas, 2008), mientras que el hipocampo es necesario para la consolidación de la información contextual relacionada con los objetos (Balderas, 2008; Hardt y cols., 2010).

En esta investigación se estudiaron dos estructuras subcorticales que se sabe, participan en la memoria de reconocimiento: el hipocampo y la corteza perirrinal. Al realizar inyecciones intracraneales directamente en estas estruc-

turas, se puede estudiar de una manera más clara la participación de ambas y más específicamente, la participación de los receptores D1 en la memoria de reconocimiento. A través de esta investigación se encontró que la corteza perirrinal y el hipocampo tienen una participación diferencial en la consolidación de la memoria de reconocimiento de objetos. Los resultados indican que la actividad de estos receptores en la corteza perirrinal es necesaria para la consolidación de la memoria de reconocimiento de objetos, mientras que la actividad de estos receptores no es necesaria en el hipocampo.

Para futuras investigaciones se podrían estudiar los efectos de un agonista dopaminérgico D1 como lo es el SKF38393 en la memoria de reconocimiento en la corteza perirrinal y el hipocampo, ya que los estudios que se han realizado con este fármaco han sido únicamente a través de una administración periférica. Una administración local podría aportar más información sobre la participación de ambas estructuras estudiadas en esta investigación en la consolidación de la memoria de reconocimiento. Así mismo, es necesario realizar investigaciones a nivel molecular para conocer los mecanismos mediante los cuales los receptores D1 están involucrados en la consolidación de la memoria de reconocimiento en la corteza perirrinal.

Los estudios presentados en este capítulo podrían abrir el paso a una serie de investigaciones más completas sobre la participación del sistema dopaminérgico en la memoria de reconocimiento y estudiar su comportamiento en diversas patologías neurodegenerativas como las demencias.

10. Conclusión

La administración del SCH23390 y su efecto antagonista en los receptores D1 de la corteza perirrinal y el hipocampo, permitió estudiar la relación de estos receptores con la formación de la memoria de reconocimiento.

El bloqueo de estos receptores no tuvo ningún efecto en la tarea de memoria de reconocimiento a corto plazo en ninguna de las dos estructuras, pues los animales fueron capaces de discriminar el objeto novedoso del familiar.

En la prueba de memoria de largo plazo los animales que fueron inyectados con SCH23390 en el hipocampo fueron capaces de discriminar ambos objetos, sin embargo aquellos que fueron inyectados en la corteza perirrinal no pudieron diferenciar el objeto familiar del novedoso, al explorar ambos objetos por la misma cantidad de tiempo.

Los resultados de esta investigación sugieren que existe una participación diferencial de la corteza perirrinal y el hipocampo en el procesamiento de la información requerida para la consolidación de la memoria de reconocimiento, a través de la acción de los receptores dopaminérgicos D1 de ambas estructuras, en donde la corteza perirrinal es necesaria para el almacenamiento de este tipo de información a largo plazo, pero el hipocampo no.

11. Referencias

Balderas I., Bermúdez F., Rodríguez C., Salgado P. (2008). *The consolidation of object and context recognition memory involves different regions of the temporal lobe*. Learning & Memory 15: 618-624.

Besheer J., Jensen H., Bevins R. (1999). *Dopamine antagonism in a novel-object recognition and a novel-object place conditioning preparation with rats*. Behavioural Brain Research 103: 35-44.

Brown M., Aggleton J. (2001). *Recognition memory: What are the roles of the perirhinal cortex and hippocampus?* Nature Review Neuroscience 2: 51-61.

Bussey T., Muir J., Aggleton J. (1999). *Functionally dissociating aspects of event memory: the effects of combined perirhinal and postrhinal cortex lesions on object and place memory in the rat*. Journal of Neuroscience 19: 495-502.

Carlson N. (2006). *Fisiología de la conducta*. España: Pearson.

Cooper R., Bloom E., Roth H. (2003). *The biochemical basis of Neuropharmacology*. New York: Oxford University Press.

Dudai Y. (2012). *The restless engram: Consolidations never end*. Annual review of Neuroscience 35: 227-247.

Ennaceur A., Neave N., Aggleton J. (1996). Neurotoxic lesions of the perirhinal cortex do not mimic the behavioural effects of fornix transection in the rat. Behavioral Brain Research 80: 9-25.

Ennaceur A., Delacour J. (1998). *A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats*. Behavioural Brain Research 31: 47-59.

Furini C., Myskiw J., Schmidt B., Marconedes L., Izquierdo I. (2014). D1 and D5 dopamine receptors participate on the consolidation of two different memories. Behavioral Brain Research 271: 212-217.

Guzmán-Ramos K., Osorio-Gómez D., Moreno-Castilla P., Bermúdez-Rattoni F. (2010). *Off-line concomitant release of dopamine and glutamate involvement in taste-memory consolidation*. Journal of Neurochemistry 114: 226-236.

Hardt O., Naudon L, Jay T. (2010). *PKMzeta maintains 1-day and 6-day old long-term object location but not object identity memory in dorsal hippocampus*. Hippocampus 20: 691-695.

Huang Y., Kandel E. (1995). *D1/D5 receptor agonist induce a protein synthesis-dependent late potentiation in the CA1 region of the hippocampus*. Proceedings on the National Academy of Sciences USA 92: 2446-2450.

Kalat J. (2009). *Psicología Biológica*. España: Ediciones Paraninfo.

Kandel E. (2001). *Principles of Neural Science*. Estados Unidos: McGraw-Hill.

Lattal K., Abel T. (2004). *Behavioral impairments caused by injections of the protein synthesis inhibitor anisomycin after contextual retrieval reverse with time*. Proceedings on the National Academy of Sciences USA 101: 4667-4272.

Li L., Miller E., Desimone R. (1993). *The representation of stimulus familiarity in anterior inferior temporal cortex*. Journal of Neurophysiology 96: 1918-1929.

Lima M., Torres J., Athaide V., Siciliani F., Schroder N. (2011). *Modulatory influence of dopamine receptors on consolidation of object recognition memory*. Neurobiology Learning and Memory 95: 305-310.

Lisman J., Grace A, Duzel E. (2011). *A neoHebbian framework for episodic memory: role of dopamine-dependant late LTP*. Trends in Neurosciences 34: 536-547.

Mandler G. (1980). *The judgment of previous occurrence*. Psychological Review 87:252-271.

McGaugh J. (1996). *Time depending processes in memory storage*. Science 153:1351-1358.

Mishkin M. (1978). *Memory in monkeys severely impaired by combined but not by separate removal of amygdala and hippocampus*. Nature 273: 297-298.

Murray E., Mishkin M. (1998). *Object recognition and location memory in monkeys with excitotoxic lesions of the amygdala and hippocampus*. Journal of Neuroscience 18: 6568-6582.

Murray E., Richmond B. (2001). *Role of perirhinal cortex in object perception, memory and associations*. Current Opinion in Neurobiology 11: 188-193.

Mumby D., Gaskin S., Glenn M., Schramek T., Lehman H. (2002). *Hippocampal damage and exploratory preferences in rats: memory for places, objects and contexts*. *Learning and Memory* 9: 49-57.

Nader K., Schaffe E., LeDoux E. (2000). *The labile nature of consolidation theory*. *Nature Review Neuroscience* 1: 216-219.

National Research Council (2011). *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*. Washington: National Academies Press.

Paxinos G., Watson C. (1986). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. San Diego: Academic Press.

Purves D. (2004). *Neuroscience*. Nueva York: Sinauer Associates.

Reed J., Squire L. (1997). *Why amnesic patients perform well on recognition memory tests*. *Behavioral Neuroscience* 111: 1163-1170.

Rossato J., Izquierdo I. (2007). *On the role of hippocampal protein synthesis in the consolidation and reconsolidation of object recognition memory*. *Learning and Memory* 14: 36-46.

Rossato J., Bevilaqua L., Izquierdo I., Camarota M. (2009). *Dopamine controls persistence of long-term memory storage*. Science 325: 1017-1020.

Rossato J., Köhler C., Radiske A., Lima R., Bevilaqua L., Cammarota M. (2014). *State-dependent effect of dopamine D1/D5 receptors inactivation on memory destabilization and reconsolidation*. Behavioral Brain Research 285: 194-199.

Scoville W., Milner B. (1957). *Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions*. Journal of Neurology 20: 11-21.

Squire L. (2004). *Memory systems of the brain: A brief history and current perspective*. Neurobiology of Learning and Memory 82: 171-177.

Squire L., Zola-Morgan J., Clark R. (2007). *Recognition memory and the medial temporal lobe: a new perspective*. Nature Review Neuroscience 8: 872-883.

Taupin P. (2007). *The Hippocampus*. Nueva York: Nova Biomedical Books. pp. 7-8.

Winters B., Bussey T. (2004). *Double dissociation between the effects of perirhinal cortex and hippocampal lesions on tests of object recognition and spatial memory: Heterogeneity of function within the temporal lobe*. Journal of Neuroscience 24: 5901-5908.

Yonelinas A., Kroll N, Quamme J, Lazzara M., Sauve J., Widaman K., Knight R. (2002). *Effects of extensive temporal lobe damage or mild hypoxia on recollection and familiarity*. Nat. Neurosci 5: 1236-1241.