



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**EFFECTO DEL SOBRE ENTRENAMIENTO Y LA
ADMINISTRACIÓN DEL AGONISTA DOPAMINÉRGICO SKF
38393 EN RATONES DE EDAD AVANZADA EN LA MEMORIA
ESPACIAL A LARGO PLAZO**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

P R E S E N T A:

JORGE ANTONIO ESCAJADILLO GONZÁLEZ

DIRECTOR DE TESIS :

DR. FEDERICO BERMÚDEZ RATTONI

MÉXICO, D.F. FEBRERO 2016





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

A mi familia

Agradecimientos

Chapter 1 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 bajo la dirección del Dr. Federico Bermúdez Rattoni. Con el apoyo económico del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología y de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico UNAM IN208616.

Agradezco a las Técnicas Académicas Dra. Israela Balderas Moreno y Q.F.B. Perla Moreno Castilla por el apoyo recibido durante la realización de este proyecto. Agradezco También el apoyo constante de Marisela Hernández Aguilar.

Febrero 2016

Agradecimientos

Agradezco antes que nadie a mi familia, sin su apoyo nada de esto habría sido posible, disculpen la tardanza.

Al Dr. Federico Bermúdez Rattoni, por abrirme las puertas de su laboratorio y darme la oportunidad de llevar a cabo esta tesis, además de ofrecerme su tutoría y consejos, parte invaluable de mi desarrollo académico.

Al jurado que me abrió un espacio en sus agendas y evaluó y enriqueció mi tesis, el Dr. Julio Morán, Dr. Francisco Sotres, Dra. Martha Escobar y Dra. Kioko Guzmán.

A mis amigos de toda la vida Alejandro Bárcenas, Emiliano García y Nicolás Reyes. **HD.**

Agradezco también a Sofía, Tomás, Tony, Pablo, Sofía y Elías, Daniel, Juan Pablo, Francisco, Diana, Sandra, Gabriela, Aline, Diego, Arturo, Lucía, Valeria, Marco, Ivan, Alfonso y todos con quienes compartí alegrías durante este periodo.

A mi compañeros de laboratorio que hacían divertidas las largas horas de trabajo, Daniel, Kioko, Aketzali, Lucía (x2), Consuelo, Lorelei, Susana y particularmente a Mónica con quien trabaje codo a codo durante el desarrollo de esta tesis.

Índice

Resumen.....	6
--------------	---

Capítulo 1

Breve historia del estudio de la memoria.....	7
El paciente H.M. y la taxonomía de la memoria.....	11
Categorías cualitativas de la memoria a largo plazo.....	14
Bases moleculares de la memoria.....	18
Fases de la formación de un trazo de memoria.....	22

Capítulo 2

Dopamina y memoria.....	27
Laberinto Acuático de Morris.....	34
Envejecimiento y memoria.....	36

Planteamiento del problema.....	39
---------------------------------	----

Hipótesis.....	39
----------------	----

Objetivos generales	39
---------------------------	----

Objetivos particulares.....	40
-----------------------------	----

Metodología

Modelo animal.....	40
Laberinto acuático de Morris.....	41
Administración del fármaco.....	43
Análisis de datos.....	44

Resultados.....	45
-----------------	----

Discusión.....	49
----------------	----

Conclusiones.....	56
-------------------	----

Bibliografía.....	57
-------------------	----

Resumen

La memoria es una de las funciones más importantes del cerebro, gracias a esta somos capaces de retener la información del medio que nos rodea y abstraerla para ser utilizada en situaciones similares o como marco de referencia durante la toma de decisiones.

A pesar de su importancia, la memoria es una de muchas funciones fisiológicas que se ve afectada con el envejecimiento natural de un organismo. Anteriormente se creía que este deterioro se limitaba a individuos particularmente viejos, sin embargo, evidencia reciente señala que el deterioro cognitivo relacionado con la edad empieza desde edades relativamente tempranas, si bien de forma mucho menos severa.

A raíz de esto varios grupos de investigación se han dado a la tarea de encontrar posibles culpables del deterioro cognitivo y posibles terapias que pudiesen aminorar el efecto de este sobre la vida de los individuos afectados. Se ha identificado al sobre entrenamiento como un buen candidato a una especie de terapia preventiva que amortigua el efecto del envejecimiento sobre la cognición. Aunado a esto estudios en cerebros humanos de edad avanzada han demostrado un deterioro dopaminérgico importante que podría correlacionar en cierta medida con el déficit observado.

A raíz de esto nos dimos a la tarea de probar animales de edad avanzada en un protocolo de memoria espacial, el laberinto acuático de Morris, tanto en un protocolo tradicional de entrenamiento de cuatro días como en uno de nueve días, con la intención de encontrar una mejoría en su desempeño. Además los ratones fueron tratados con el agonista dopaminérgico SKF38393 a esperas de aminorar el posible deterioro dopaminérgico y mejorar la conducta de estos animales. El fármaco fue inyectado por vía intraperitoneal inmediatamente después de cada sesión de entrenamiento.

Los resultados demuestran que el entrenamiento prolongado tiene un claro efecto sobre el desempeño de ratones jóvenes, no así de animales envejecidos. La estimulación dopaminérgica tiene un efecto positivo sobre el desempeño de animales viejos comparados con los controles de solución salina, sin embargo este mismo tratamiento afecta de manera negativa el desempeño de ratones jóvenes.

Concluimos entonces que la dosis administrada puede complementar déficits dopaminérgicos que pueden estar afectando el desempeño de animales viejos, mientras que en animales jóvenes esta misma dosis puede estar desencadenando una respuesta homeostática que desensibiliza a las neuronas afectadas y empeora el desempeño de estos ratones.

“For when we define, we
seem in danger of circumscribing nature within the
bounds of our own notions”

*From A Philosophical Enquiry into
the Origin of Our Ideas of the Sublime
and Beautiful*

Edmund Burke

Capítulo 1

Breve historia del estudio de la memoria

Una de las funciones más importantes del cerebro, uno de los órganos más particulares y complejos del cuerpo humano, es la creación y retención de imágenes representativas del mundo que lo rodea, utilizando información proporcionada por la gran variedad de sistemas sensoriales a su disposición, con el objetivo de adaptar la conducta a las tribulaciones de dicho mundo. A este proceso se le conoce como aprendizaje en la fase de creación de representaciones y memoria a la retención de dichas representaciones a lo largo del tiempo (Dudai, 2002).

El estudio del aprendizaje y la memoria puede dividirse en dos niveles igualmente importantes: conductual, es decir la forma en que actúa un organismo en pos de su entorno (Chance, 2001) y el nivel al cual se codifica la información de la cual emerge la conducta, es decir, las relaciones celulares y moleculares que se llevan a cabo en el cerebro a raíz de la experiencia. Ambos niveles se estudian desde puntos de vista diferentes, sin embargo, están íntimamente entrelazados entre ellos y el estudio de la memoria requiere de ambos para llegar a conclusiones empíricas satisfactorias (Dudai, 2002). Aunado a esto, la memoria no se compone de un solo sistema fisiológico, sino de un conjunto de funciones cerebrales repartidas a lo largo y ancho del encéfalo que se

dedican a clasificar, codificar, almacenar y recuperar información recabada de la experiencia (Carrillo-Mora, 2010): el sabor de una fruta, la voz de un ser querido o el olor de una flor, por mencionar ejemplos sencillos.

Por tanto, el estudio de la memoria es altamente complejo e históricamente es relativamente reciente; Hermann Ebbinghaus, a finales del siglo XIX, fue el primer psicólogo en proponer el estudio experimental de funciones cognitivas “superiores” particularmente la memoria: usándose a sí mismo como sujeto de estudio estandarizó personalmente una prueba de retención de sílabas sin sentido, logrando así describir conceptos actualmente en uso como la curva de aprendizaje y en yuxtaposición, la curva de olvido (Wozniak, 1999).

Ebbinghaus sería el primero de una serie de psicólogos dedicados al estudio experimental de las funciones cognitivas, incluyéndose la memoria. A principios del siglo XX Ivan Pavlov y Edgar Thorndike comenzarían estudios experimentales en animales que darían pie a la corriente conocida como conductismo, los conductistas argumentaban que la conducta era un sujeto de estudio que podía ser descrito con la misma especificidad que un fenómeno físico (Kandel, 2000), ambos diseñaron experimentos en el que la conducta de un animal era modificada a través de aprendizaje asociativo, en el caso de Pavlov, el animal aprendía a asociar estímulos con una consecuencia fisiológica directa con estímulos sin consecuencias fisiológicas, produciendo así una respuesta condicionada, a este paradigma se le conoce como condicionamiento clásico (figura A) y paso a ser una de las herramientas más básicas del estudio de la memoria (Domjan, 1998).

Sin embargo, el conductismo consideraba que la conducta era el único aspecto de la cognición que podía ser observado y por tanto estudiado, los mecanismos por los cuales el cerebro llevaba a cabo modificaciones a la conducta se consideraban una caja negra incapaz de ser estudiada, sería hasta mediados de siglo que esta visión sería refutada filosóficamente y científicamente (Milner, 1998).

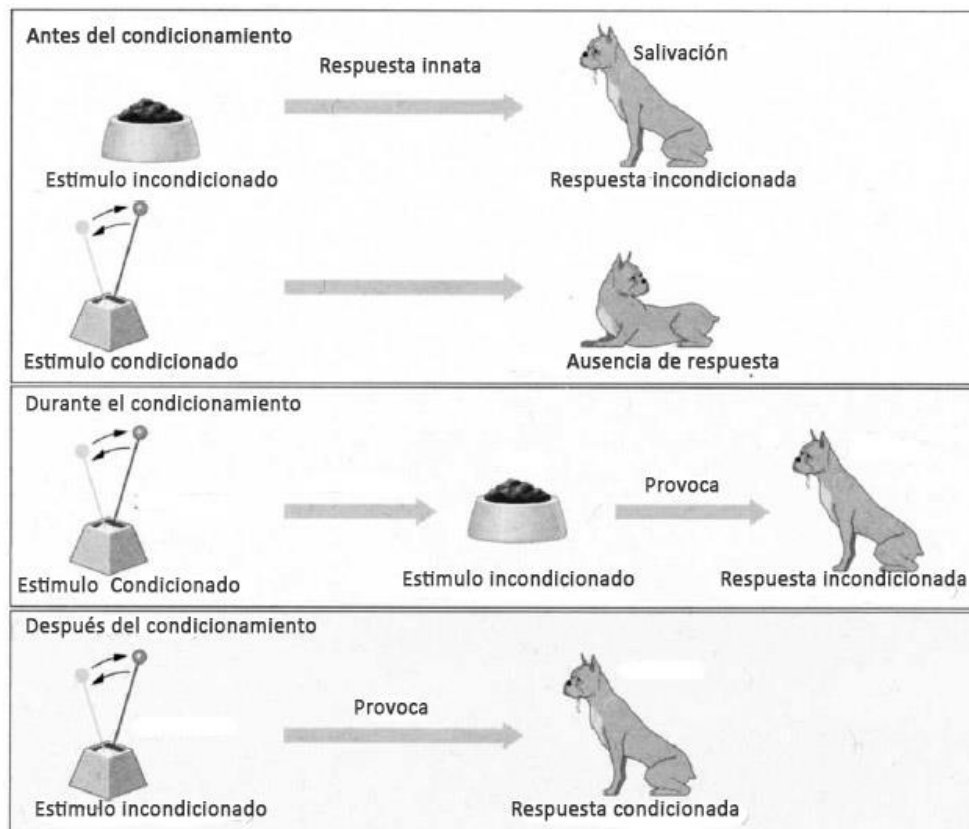


Figura A Esquema del condicionamiento clásico Pavloviano en el que la salivación innata de un perro es asociada al sonido de un metrónomo. Modificado de Domjan, 1997.

A pesar de los descubrimientos de Broca y Wernicke, que habían relacionado áreas determinadas del cerebro con funciones específicas, una de las principales áreas de debate en psicología era la especificidad con la cual el cerebro llevaba a cabo sus funciones. Jean Pierre Flourens sostenía que el cerebro era un órgano equipotencial, es decir, que cualquier parte del cerebro era capaz de llevar a cabo cualquier función mental (Pearce, 2008). En su defecto, la teoría de la localización cortical consideraba que cada facultad mental se veía reflejada en una locación específica del encéfalo, incluso, algunos seguidores de esta corriente consideraban que las diferentes facultades mentales podían verse representadas en el cráneo y la personalidad de un hombre podía conocerse midiendo su cabeza (Milner, 1998)(Figura B). Uno de los más importantes psicólogos americanos del siglo pasado, Karl Lashley, se dispuso a buscar evidencia experimental que probara alguna de las dos interpretaciones (Kandel, 2000), lesionando selectivamente la corteza de ratas de laboratorio, dispuso a encontrar áreas específicas encargadas de la formación y almacenaje de la memoria (Carrillo-Mora, 2010), concluyendo que no existía

ningún área específica para estas tareas y que la única diferencia entre las capacidades mnémicas de los animales provenía de la extensión de la lesión provocada y no de la ubicación de esta, bautizando dicha premisa como la ley de acción en masa (Milner, 1998).

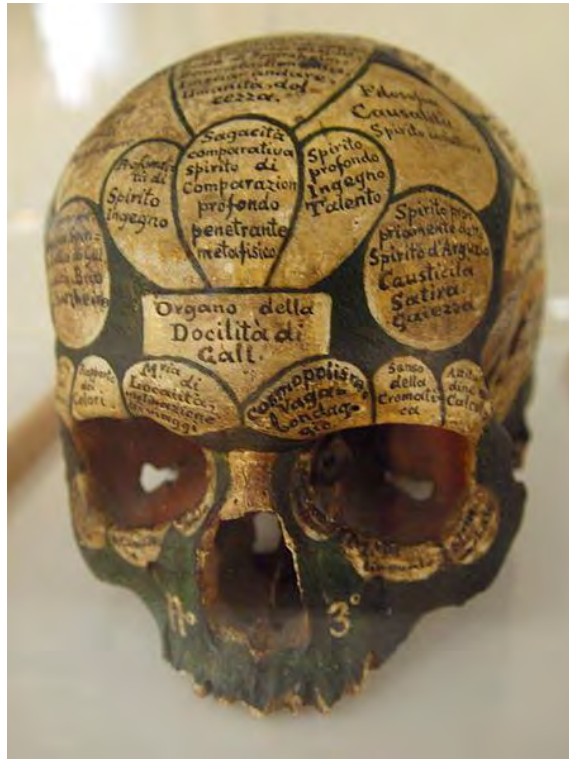


Figura B, Mapa de la cognición humana de acuerdo a Gall, se observan varias de las cualidades que Gall sostenía podían medirse en el cráneo, como la espiritualidad o el ingenio. Museo de Etnología de Hamburgo.

El acercamiento experimental de Lashley hacia la memoria sería emulado por neurocirujanos en los 50's, particularmente Wilder Penfield, quien estimulaba eléctricamente la corteza de pacientes parcialmente sedados, antes de llevar a cabo cirugías de ablación de focos epilépticos. Los pacientes estimulados reportaban escuchar voces o música, ver imágenes y en general tenían experiencias similares a sueños cuando el lóbulo temporal del cerebro era estimulado (Siegel, 2006). Penfield fue el primero en obtener evidencia de que los procesos de memoria podrían ser localizados, sin embargo su trabajo fue puesto en duda pues los pacientes que mostraban respuestas mnémicas a la estimulación eran aquellos cuyos focos epilépticos se situaban en el lóbulo temporal,

por lo que tales experiencias bien podrían haber sido resultado de eventos epilépticos . Evidencia contundente de la participación del lóbulo temporal en procesos de aprendizaje y memoria emergería del estudio de pacientes a quienes se les había removido quirúrgicamente buena parte de dicha estructura como tratamiento para casos de epilepsia y en algunos casos, psicosis (Kandel, 2000).

El paciente H. M. Taxonomía de la memoria.

El caso clínico de H.M. es una de las piedras angulares del estudio de la memoria, la descripción de sus discapacidades cognoscitivas resultado de la remoción quirúrgica bilateral del lóbulo temporal de su cerebro daría evidencia clara y contundente de una clasificación anatómica y teórica de la memoria.

H.M. sufría de epilepsia severa a raíz de un accidente en bicicleta durante su infancia, sus crisis epilépticas empeoraban gradualmente y se le consideraba “totalmente incapacitado” (Scoville, 1957). A raíz de esto fue sometido a un procedimiento quirúrgico en el cual, por medio de incisiones en su frente, gran parte del lóbulo temporal fue removido bilateralmente, entre las estructuras removidas se encontraba la corteza temporal medial, la amígdala y dos terceras partes del hipocampo (Siegel ,2006), en una incisión que abarcaba alrededor de 8 cm (Scoville, 1957) (Figura C). Si bien las crisis epilépticas del paciente se redujeron significativamente, H.M. era totalmente incapaz de formar nuevas memorias, es decir, sufría de amnesia anterógrada.

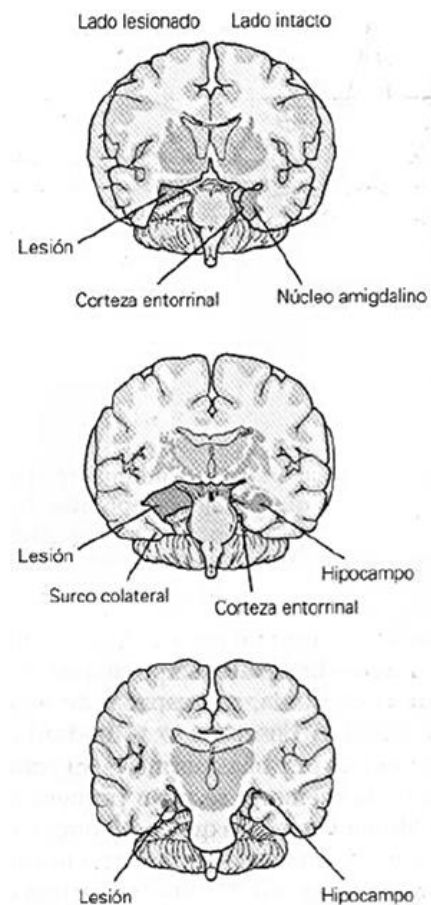
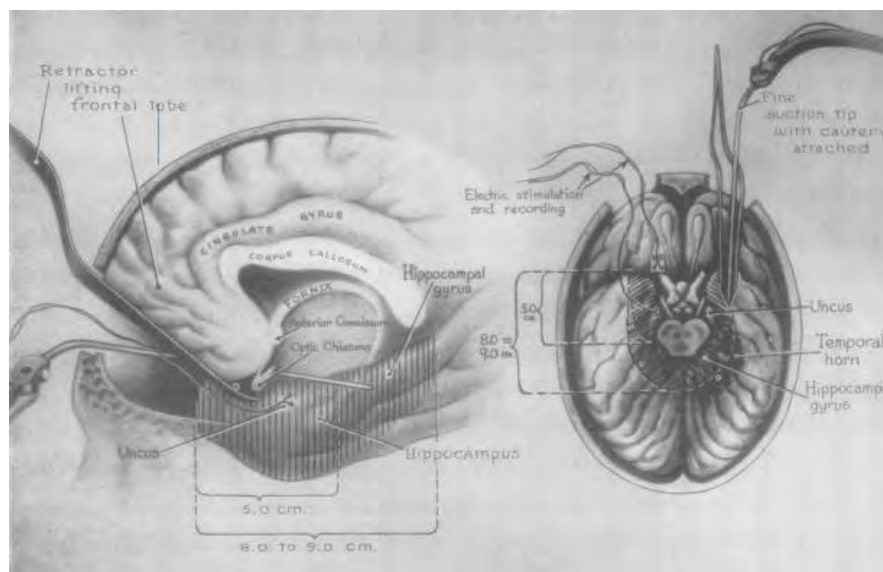


Figura C. Izquierda, ilustración original de la neurocirugía llevada a cabo sobre H.M. tomada de Scoville, 1957. Derecha, representación de la lesión del H.M. en diferentes cortes coronales (de rostral a dorsal de arriba abajo) comparada con un cerebro intacto, se observa pérdida importante de estructuras esenciales del lóbulo temporal.

Modificado de Kandel, 2000.

Brenda Milner estudio a H.M. por más de 40 años, probando su memoria y capacidad intelectual, utilizando diferentes pruebas psicológicas fue capaz de elucidar la extensión de la discapacidad mnémica de H.M. Su memoria a corto plazo se encontraba intacta, si se le presentaba una serie de números y se le permitía repetirlos en su cabeza sin interrupciones, el paciente era capaz de recordarlos sin problema por periodos de hasta 15 minutos, sin embargo si se le distraía, perdía toda noción de los números e incluso olvidaba que estaba llevando a cabo una prueba psicológica (Scoville, 1957). Era posible concluir, por tanto, que la memoria a corto plazo de H.M. estaba intacta, más la memoria a largo plazo parecía estar perdida. Al comparar la lesión de H.M. con la de otros pacientes

con lesiones menos extensas o unilaterales, era evidente que la memoria a largo plazo dependía de ciertas estructuras dentro del lóbulo temporal, específicamente del hipocampo. Para H.M. la información perceptual estaba intacta (su coeficiente intelectual era incluso un poco mayor al preoperatorio), sin embargo, dicha información se tornaba inasequible tan pronto como 30-40 segundos después de haberse obtenido, sugiriéndose, una distinción entre un proceso de memoria primario que decae rápidamente y un segundo proceso traslapado en el que la memoria se almacena durante largos periodos de tiempo: memoria a corto y largo plazo (Milner, 1998).

Sin embargo, la memoria a largo plazo de H.M. no estaba completamente perdida, cuando Milner probó las habilidades motoras de H.M. noto que era capaz de mejorar con la práctica (Kandel, 2000) (Figura D), presentando curvas de aprendizaje normales, sin embargo, cuando se cuestionaba al paciente sobre las pruebas, no recordaba las sesiones de practica anteriores, independientemente de su mejoría (Purves, 2004). Más adelante Milner y otros demostrarían que las habilidades motoras no eran las únicas intactas en pacientes amnésicos, sino también habilidades visuales que hoy en día se conocen como “priming” y que estas habilidades intactas probablemente residían en áreas del cerebro independientes del lóbulo temporal (Milner, 1998), específicamente del hipocampo. De manera similar, H.M. (y varios otros pacientes con lesiones similares) demostraban recordar episodios de su pasado de forma fiel, tanto su niñez como eventos de un par de años previo al procedimiento de remoción del lóbulo temporal: la remoción de estructuras vitales para la formación de memorias parecía no tener influencia en el recuerdo de memorias antiguas, concluyéndose que el sitio final de “almacenaje” de la memoria no necesariamente recae en el hipocampo, corteza temporal o amígdala (Purves, 2004).

Número de errores

Dibujo en espejo

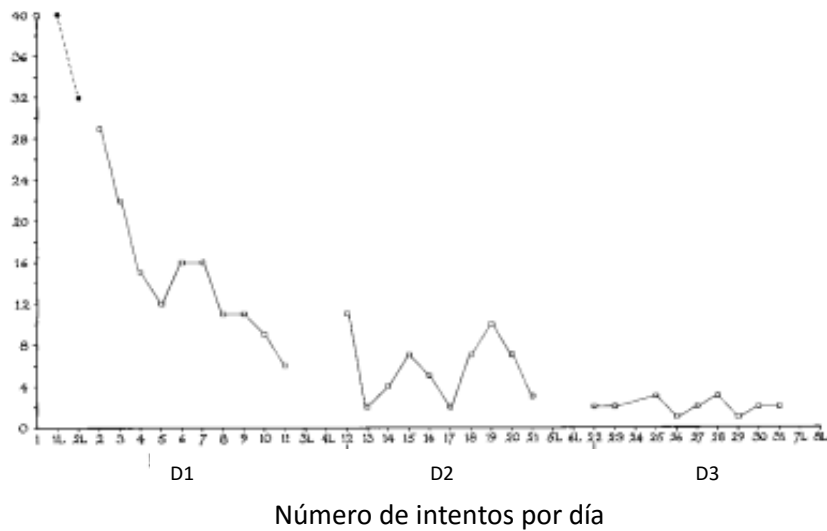


Figura D. En una tarea motora, en la que se completa un dibujo mientras se observa en el espejo, H.M. mostraba una franca mejoría con la práctica. Modificado de Milner, 1998.

El caso H.M. revolucionaría el campo de la neuropsicología, particularmente el estudio de la memoria; análisis de las diferentes capacidades mnémicas de pacientes amnésicos y trabajos experimentales permitirían la creación de una “taxonomía” de la memoria basada en evidencia no sólo psicológica sino también biológica (Milner, 1998).

Categorías cualitativas de la memoria a largo plazo

La mayoría de los autores coinciden en una división fundamental de la memoria basada en el estado de consciencia presente durante la recolección de dichos recuerdos (Dudai, 2002): Memoria declarativa, que es recordada de manera consciente y memoria no declarativa o implícita, que es evocada de forma inconsciente. Ambas tienen diferentes correlatos anatómicos y sirven funciones muy distintas.

La memoria declarativa es la más parecida al término coloquial de memoria, es dependiente del lóbulo temporal, particularmente del hipocampo y otras estructuras del lóbulo temporal medial y es responsable de almacenar información concreta sobre hechos y eventos. La memoria declarativa es de carácter representacional, da un medio con el

cual modelar el mundo y como modelo del mundo puede ser verdadera o falsa (Squire, 2004). Puede subdividirse en dos sub-clases: memoria episódica que contiene información de “cuando” y “como”, como podría ser el recuerdo de un cumpleaños o el aspecto de un ser querido; y memoria semántica que contiene aquella información que puede describirse como conocimiento abstracto (Siegel, 2006), por ejemplo la capital de un país o eventos históricos. Si bien es difícil o incluso imposible considerar que una animal es consciente y por tanto definir qué aspectos de la memoria animal corresponden a memoria declarativa, los modelos de esta memoria en animales buscan probar la existencia de memoria “similar” a la episódica. Un objetivo un tanto más modesto pero más factible, en el que se ignora el tema de la consciencia (Dudai, 2002). Un enfoque desde este punto de vista recomienda explorar la conducta natural de un animal y buscar situaciones en las que la memoria episódica podría ser de utilidad; por ejemplo, la construcción de representaciones internas del mundo y la ubicación del animal basada en esta representación, a menudo examinada en laboratorios por medio de laberintos. (Bird, 2008).

La memoria no declarativa o implícita es la base en los cambios en la conducta referentes a habilidades específicas como operar herramientas, es dependiente de la práctica y se observa en la creación de hábitos. En este tipo de memoria la conducta se modifica con la experiencia, sin embargo la conducta cambia sin “proveer acceso consciente a los ensayos anteriores” (Schacter, 1994). Muchas formas de memoria no declarativa pueden observarse y ser estudiadas en invertebrados carentes de hipocampo (y lóbulos frontales) y se consideran los tipos de memoria más antiguos (Milner 1998).

De manera similar a la memoria declarativa, la memoria implícita se puede subdividir en cuatro clases: el priming fue uno de los primeros sistemas de memoria no declarativos reconocidos (Squire, 2004). Es la capacidad de detectar o reconocer un estímulo basado en encuentros previos con dicho estímulo (Kandel, 2000) y está ampliamente estudiado en sujetos humanos por medio de pruebas en la que se presenta una serie de imágenes o palabras y más tarde versiones alteradas de estas mismas, buscando que el sujeto sea capaz de identificarlas rápidamente aun estando estas incompletas (Tulving, 1990). El

priming es una de varias pruebas que está intacta en pacientes amnésicos y en parte fue descubierto al ser observado en dichos pacientes (Milner, 1968) (Figura E.) Por medio de tomografías por emisión de positrones se ha localizado a la neocorteza como la estructura de la cual depende el priming (Yasuno, 2000).

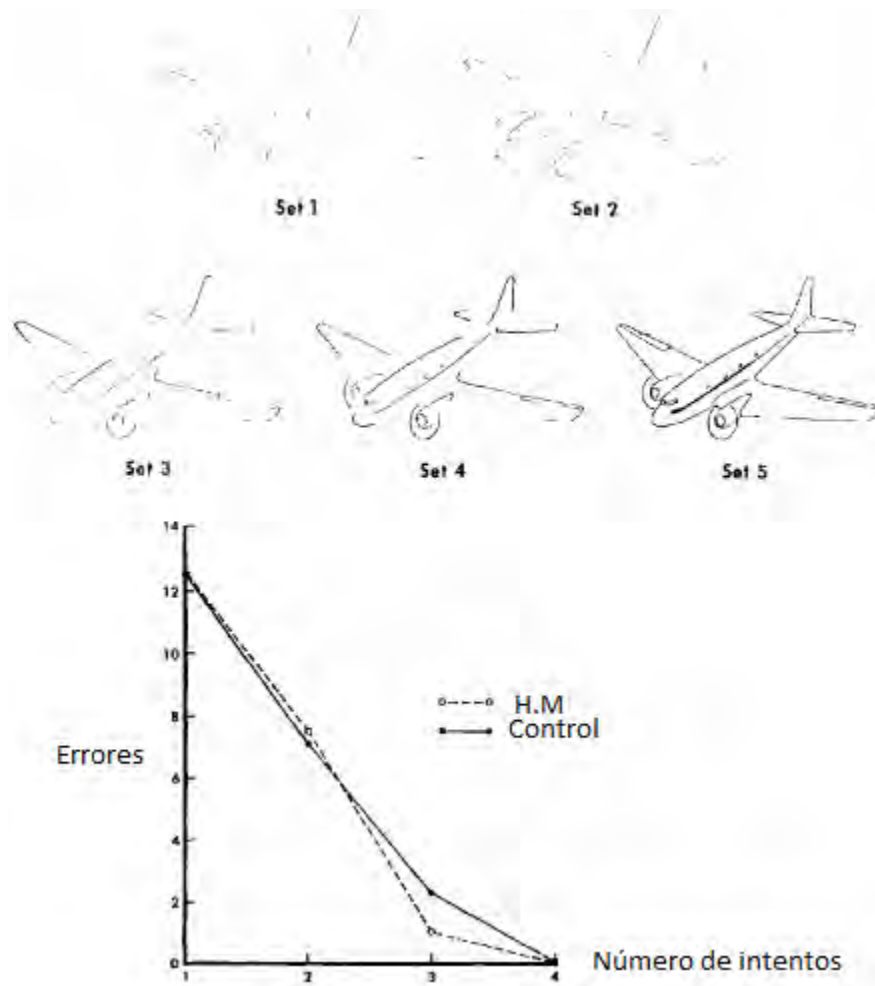


Figura E, Priming de figuras incompletas aplicado a H.M. Arriba los sets de figuras presentados, la prueba consiste en determinar la identidad de la figura contándose el número de errores, abajo los resultados de H.M. contra controles no amnésicos, se observa una curva de aprendizaje igual en ambos grupos. Modificado de Milner, 1968.

Las memorias de hábitos o ligadas a habilidades también son ejemplos de memoria intacta en pacientes amnésicos, se trata de memorias que se forman de manera gradual con la repetición y son de carácter motor. Esta clase de memorias son comúnmente llamadas “habilidades”, como puede ser manejar un automóvil (Squire, 2004). Esta clase

de memorias son dependientes del cuerpo estriado y se han observado disociaciones importantes entre memoria declarativa y memorias de hábito en pacientes tanto amnésicos como con mal de Parkinson (donde el cuerpo estriado se ve severamente dañado), en estas pruebas el paciente amnésico obtiene resultados comparables con aquellos obtenidos con un paciente control sano, sin embargo es totalmente incapaz de recordar haber participado en la prueba, en contraste, pacientes con mal de Parkinson avanzado recuerdan las pruebas, más los resultados de las mismas se ven severamente limitados (Knowlton, 1996).

Otra forma de memoria no declarativa es aquella estudiada por el condicionamiento clásico, donde la asociación inconsciente entre estímulos es clave (Kandel, 2000). Esta misma puede subdividirse en dos clases dependientes de diferentes circuitos cerebrales: Aquellos dependientes del cerebelo y por tanto de reflejos musculares y esqueléticos, como puede observarse en estudios clásicos de condicionamiento del parpadeo (donde un arco reflejo es asociado a una luz o sonido) y los dependientes de la amígdala, donde el animal proporciona un valor emocional positivo o negativo a un estímulo (condicionamiento al miedo y otros) (Squire, 2004).

Una última categorización de la memoria implícita yace en el aprendizaje no asociativo, observado en procesos como la habituación o la sensibilización originalmente estudiados por Kandel (2000) en el gasterópodo marino *Aplysia*, carente de concha, *aplysia* tiene un sifón y agallas expuestas que al ser tocadas se retraen brevemente producto de un reflejo muscular. Si el estímulo táctil se repite continuamente el animal retrae sus órganos por un periodo de tiempo cada vez menor, es decir, se habitúa (Pinsker, 1970). Alternativamente si el estímulo táctil es reemplazado por un estímulo nocivo, como un toque eléctrico, el animal retrae sus órganos por más tiempo, es decir, se sensibiliza (Pinsker, 1973). Ambos paradigmas son formas de aprendizaje en las que no es necesaria la asociación de dos o más estímulos, sino son productos de reflejos innatos del gasterópodo (Figura F).

A mediados del siglo pasado, paralelamente al descubrimiento y caracterización de los diferentes sistemas de memoria ya mencionados, el estudio de la memoria tornaría a

incorporar a la biología molecular con el afán de descubrir los componentes de lo que los conductistas habían definido como una caja negra: las modificaciones celulares y moleculares que se llevaban a cabo en el encéfalo y subyacerían la formación de la memoria.

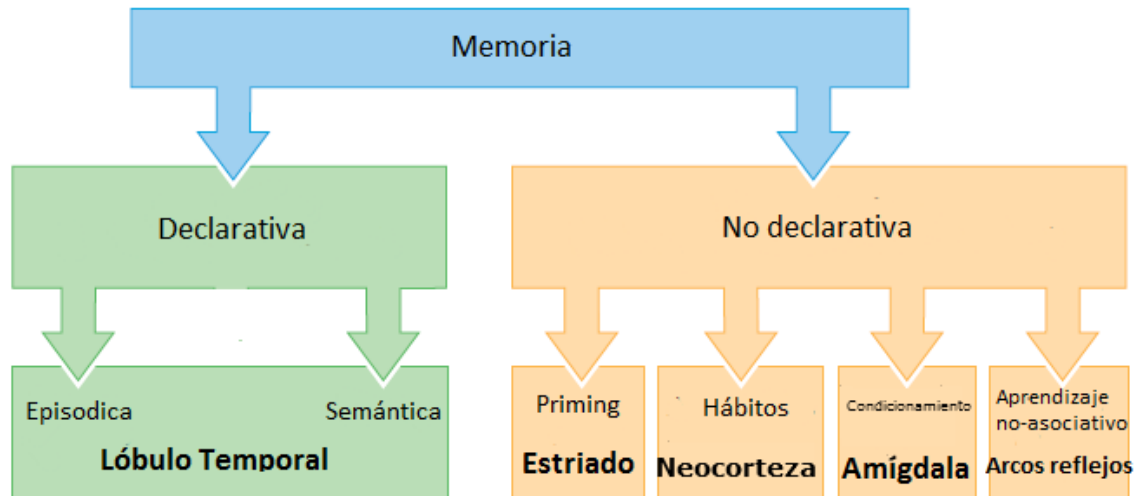


Figura F, Representación esquemática de los tipos de memoria y su correlato anatómico. Modificado de Purves, 2003 y Milner 1998.

Bases moleculares de la memoria

A fines del siglo XIX Santiago Ramón y Cajal postularía la base de lo que hoy en día es conocido como la teoría neuronal, sus clásicos estudios histológicos revelarían la naturaleza de las células que componen al cerebro, las neuronas, unidades discretas que forman conexiones unas con otras (sinapsis) creando redes a lo largo y ancho del cerebro. Para entonces era sabido que estas células eran incapaces de dividirse, lo que llevó al histólogo a pensar que el aprendizaje no podría ser producto de la aparición de nuevas neuronas, sino del fortalecimiento de las conexiones entre ellas por medio del crecimiento de nuevas ramas y redes (Milner, 1998).

Esta corriente de pensamiento sería retomada por Donald Hebb en 1949, en uno de los textos pilares del estudio moderno de la memoria: “The Organization of Behavior” (La Organización de la Conducta), en él, Hebb postula las bases de lo que hoy conocemos como plasticidad sináptica:

“Cuando un Axón “A” está lo suficientemente cerca para excitar una neurona B y participa repetida o persistentemente en su activación, un proceso metabólico o de crecimiento toma lugar, ya sea en una o ambas células, incrementando la eficiencia de A para excitar a B” (Hebb, 1949)

Es decir, los circuitos neuronales tienen la capacidad de modificarse en respuesta al uso y la experiencia, una capacidad vital en términos de aprendizaje (Feldman, 2009).

A luz de los postulados de Hebb, surgieron varias preguntas sobre el carácter celular y molecular de la plasticidad sináptica: ¿Los cambios en la fuerza sináptica pueden observarse a largo plazo?, ¿qué mecanismos moleculares son responsables? y ¿De qué depende el paso entre memoria a corto plazo y memoria a largo plazo? (Milner, 1998).

Los primeros acercamientos a estas interrogantes provinieron desde un contexto reduccionista, en aquel tiempo era prácticamente imposible descifrar las miles de conexiones, tanto aferentes como eferentes, de un área de interés como el hipocampo con el resto del encéfalo (Kandel, 2002). Experimentando con sistemas nerviosos “sencillos”, es decir, con un número relativamente reducido de neuronas de tamaño considerable y pertenecientes a invertebrados que, si bien no gozan de sistemas nerviosos demasiado sofisticados, son perfectamente capaces de exhibir conductas propias de la memoria no declarativa, como condicionamiento clásico y aprendizaje no asociativo. Además estas conductas exhibían una temporalidad similar a la encontrada en otros organismos, si la tarea se efectuaba pocas veces la conducta duraba un lapso corto de tiempo, sin embargo, si la tarea se repetía constantemente la conducta permanecía por horas o incluso días. (Kandel, 1982).

Entre los primeros descubrimientos realizados sobre estos organismos se encontró que ciertas conductas sencillas como la habituación o sensibilización se veían reflejadas de manera directa en circuitos neuronales, y estos mismos circuitos resultaban ser los encargados del arco reflejo normal del organismo: El aprendizaje modificaba la acción de un circuito muscular, no existía una serie de neuronas encargadas de dicha memoria, sino que el almacenaje de la memoria no declarativa está embebida en las mismas neuronas que subyacen la conducta (Milner, 1998). De manera específica, Kandel y colaboradores descubrieron que en un protocolo de habituación existen, a grandes rasgos, tres tipos de neuronas involucradas: neuronas sensoriales encargadas de detectar estímulos táctiles, neuronas motoras que inervan músculos y provocan su contracción y finalmente, interneuronas que modulan la interacción entre sensoriales y motoras. Durante la habituación las neuronas sensoriales involucradas en el reflejo innato se “deprimían”, es decir, sus disparos eran menos frecuentes y por tanto, la acción de motoneuronas río abajo se disminuía, traduciéndose en una conducta más laxa. Esta depresión resultó ser mediada por una disminución en el número de neurotransmisores excitadores (glutamato) liberados por estas neuronas, esta liberación (junto con la recepción de neurotransmisores en receptores específicos) es responsable de la comunicación entre neuronas adyacentes y subyace la activación de una neurona (Kandel, 2000). Esta clase de aprendizaje se conoce como “monosináptico” pues depende exclusivamente de una sola sinapsis (Sensoriales con interneuronas o motoneuronas) (Figura G).

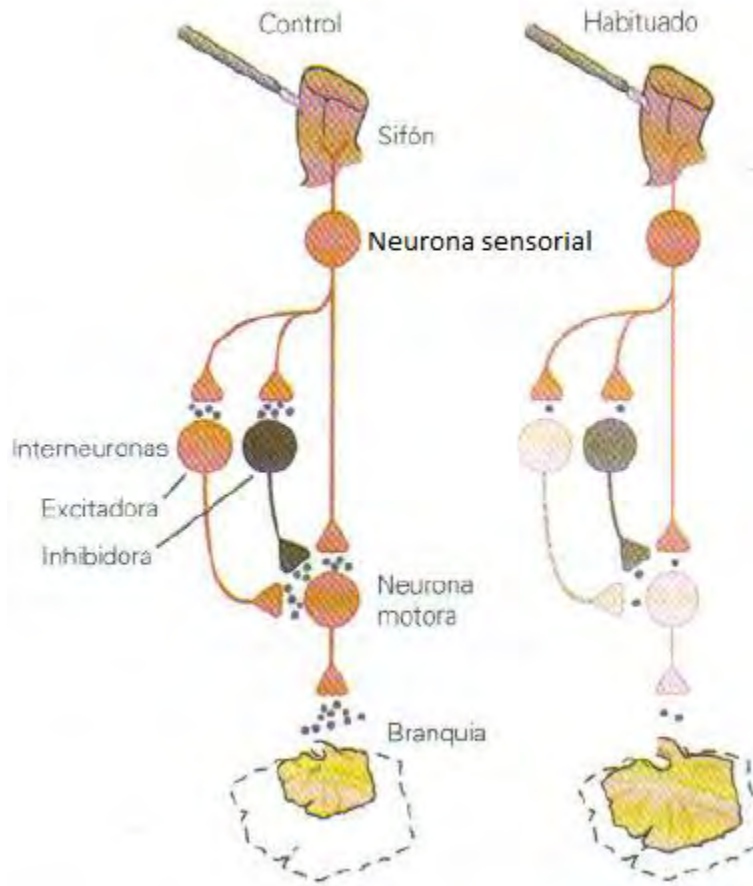


Figura G. Esquema de la habituación en el gasterópodo Aplysia, la estimulación del sifón provoca la retracción de la branquia a través de una red neuronal relativamente sencilla, cuando el sifón se estimula constantemente, la liberación de glutamato en la red se disminuye y la retracción de la branquia es más ligera. Modificado de Kandel, 2000.

El caso de la sensibilización es un tanto más complicado y su estudio revelaría unos de los principios más importantes de la memoria a largo plazo. La sensibilización es un proceso heterosináptico, depende de interneuronas que conectan dos redes neuronales distintas. Cuando un estímulo nocivo es sentido por un organismo, interneuronas de la red sináptica afectada interactúan con otras redes aledañas, facilitando el disparo de neuronas sensoriales pertenecientes a estas redes (Kandel, 2000). Existen al menos tres tipos de interneuronas relacionadas con la sensibilización, sin embargo, la más importante es la modulada por el neurotransmisor serotonina (Dudai, 2002), la serotonina liberada por las

interneuronas interactúa con receptores específicos en las post sinapsis pertenecientes a neuronas sensoriales, estos receptores pertenecen a la familia de receptores acoplados a proteínas G y específicamente activan la producción del segundo mensajero AMP cíclico por medio de la enzima adenilil ciclasa (Brunelli, 1976), dicho mensajero se une a la subunidad regulatoria de la proteína-cinasa dependiente de AMPc (PKA), activándola, PKA junto con otras cinasas incrementan la liberación de neurotransmisores en las terminales presinápticas de la neuronas sensoriales (Figura H.), es decir, el disparo de estas neuronas se facilita por lo que estímulos sensoriales leves elicitán respuestas motoras fuertes (Milner, 1998). Incluso, se descubrió que subunidades activas de PKA inyectadas intracelularmente facilitaban la aparición de la sensibilización (Castellucci, 1980), de forma opuesta, inhibidores de esta misma cinasa eran capaces de bloquear la sensibilización (Castellucci, 1982). Estas primeras aproximaciones a las bases moleculares de la memoria fueron llevadas a cabo en ensayos de memoria a corto plazo por lo que los mecanismos que subyacían el paso entre corto y largo plazo aún se desconocían. Anteriormente estudios farmacológicos en ratones y otros animales (Agranoff, 1966) demostraron que una diferencia crucial entre ambos tipos de memoria yacía en la necesidad de síntesis proteica de novo para la formación de la memoria a largo plazo, al inyectarse inhibidores de la síntesis proteica como acetocicloheximida o el antibiótico puromicina intracerebralmente (Barondes, 1967; Flexner, 1963) en los lóbulos temporales de ratones 5 horas antes de ser sometidos a una prueba de condicionamiento al miedo, estos eran capaces de retener el aprendizaje por periodos cortos de tiempo, sin embargo, si se repetía la prueba días después, la memoria estaba completamente ausente (Barondes, 1967), es decir, la ausencia de síntesis proteica impedía la “consolidación” de la memoria.

Fases de la formación de un trazo de memoria.

Un trazo de memoria es el medio hipotético mediante el cual se almacena la memoria por medio de interacciones biofísicas y biomecánicas entre redes formadas por neuronas. La formación de estos trazos se ha dividido de manera teórica en dos grandes pasos: Adquisición y Consolidación (Semon, 1921; Abel, 2001).

La adquisición es el primer paso en la formación de la memoria y está dividida en subprocesos, el primero de ellos es la codificación: durante la codificación los estímulos provenientes de la percepción sensorial son convertidos al lenguaje neuronal, estímulos eléctricos y químicos pasados de neurona a neurona por medio de sinapsis. El segundo proceso es conocido como registro, durante este, la información de un estímulo lo suficientemente relevante comienza a estabilizarse (comúnmente esta información decaería en milisegundos), dando pie a la consolidación y la formación de un trazo de memoria (Dudai, 2002).

Uno de los correlatos moleculares de la adquisición más aceptados se encuentra en los canales iónicos y receptores transmembranales de las terminales sinápticas en las neuronas a formar parte del trazo mnémico, modificaciones en el número de estas proteínas en la terminal sináptica pueden aumentar o disminuir la excitabilidad de una neurona y facilitar la aparición de un trazo (Abel, 2001).

La palabra consolidación fue originalmente acuñada por Georg Elias Müller y su alumno Alfons Pilzecker en su obra seminal "Experimentelle Beiträge zur Lehre vom Gedächtnis" (Contribuciones experimentales a la ciencia de la memoria), en ella se propone que el aprendizaje no es un proceso instantáneo sino que requiere de un proceso de estabilización antes de ser fijado como una memoria (McGaugh, 2000) y que durante este proceso la memoria es susceptible a ser alterada por distracciones, uso de fármacos o lesiones como las encontradas en pacientes que sufren de amnesia retrograda (Lechner, 1999).

La consolidación es entonces un proceso gradual, post adquisición mediante el cual se estabiliza la memoria a largo plazo (Dudai, 2004 [2]).

La consolidación no representa a un solo proceso, consta de dos diferentes formas de acción que se diferencian por las estructuras involucradas y los tiempos en que se llevan a cabo. El primero de estos procesos es conocido como consolidación sináptica y se efectúa inmediatamente después de la adquisición tomando entre minutos y horas para completarse, se lleva a cabo de manera local en los circuitos involucrados con la memoria

en cuestión y comúnmente se define como un proceso susceptible a la inhibición de la síntesis de proteínas (McGaugh, 2000). Este tipo de consolidación ha sido observado en toda clase de organismos y está ampliamente conservada desde un punto de vista evolutivo (Dudai, 2004 [1]).

El otro proceso de consolidación se conoce como consolidación de sistemas, puede tomar desde semanas hasta meses o incluso años para completarse e involucra una reorganización de varios circuitos cerebrales que almacenan la memoria (sistemas). Durante este proceso es posible que el trazo mnémico se relocalice a una estructura diferente a donde se consolidó sinápticamente (comúnmente una estructura cortical) e incluso es posible que la dependencia original del trazo sobre su estructura original se pierda (Dudai, 2004 [2]), como puede ser observado en pacientes con amnesia retrograda, incapaces de formar nuevas memorias debido a lesiones en su lóbulo temporal pero perfectamente capaces de recordar eventos de su pasado (Milner, 1957).

A nivel molecular, los mecanismos que subyacen a la consolidación sináptica se conocen de manera general y actúan en continuación directa a los mencionados anteriormente en la sensibilización (que en realidad, subyacen a la adquisición de dicha sensibilización) (Kandel, 2002). Recapitulando brevemente: la acción de neurotransmisores en la post-sinapsis inicia cascadas de transducción de señales intracelulares, particularmente vías asociadas al segundo mensajero AMPc, éste activa a PKA que a su vez fosforila tanto canales iónicos como mecanismos de liberación de neurotransmisores, ambas vías fomentan la liberación de neurotransmisores al espacio sináptico, fortaleciendo las conexiones de la neurona y promoviendo la formación de un trazo de memoria (Kandel, 2000). Hasta este punto, todos los pasos de la vía son dependientes de modificaciones covalentes en proteínas pre existentes, es decir, la maquinaria genética de la neurona no ha sido activada. Si la neurona en cuestión es estimulada repetidamente PKA se activa de manera persistente a raíz de un decremento en las subunidades regulatorias encargadas de reprimir su acción). PKA entonces recluta a otras cinasas y migra al núcleo donde fosforila a la proteína de unión al elemento de respuesta a AMPc "CREB", un factor de transcripción encargado de varios genes relacionados con crecimiento, además de

neurotrofinas, neuropeptidos y enzimas relacionadas con la producción de neurotransmisores (Silva, 1998). CREB dimeriza y se une a una secuencia consenso de DNA de respuesta a AMPc "CRE", activando la transcripción de los genes regulados por ésta y eventualmente la producción de proteínas de novo (Kandel, 2002) (Figura H.) Esta producción de nuevas proteínas provoca una reorganización morfológica de la sinapsis, introduciendo nuevos receptores y mediando rutas de señalización en continua comunicación con el núcleo neuronal. Esta remodelación sináptica (plasticidad) es uno de los más importantes candidatos de ser responsable de la estabilización del trazo mnémico (Kandel, 2000).

La consolidación es uno de los procesos más importantes en la formación de la memoria y uno de los más estudiados, hoy en día se sabe que pacientes con amnesia anterógrada sufren no de problemas de memoria a corto plazo o adquisición (Spiers, 2001) sino de consolidación, la memoria declarativa a corto plazo es incapaz de pasar a un estado estable pues las estructuras encargadas de la consolidación, (hipocampo, amígdala y otras del lóbulo temporal medial) están dañadas o son inútiles. Sin embargo, la recolección de eventos de su pasado independientemente a su condición amnésica evidencia procesos previos de consolidación de sistemas, los trazos mnémicos han migrado a otras áreas del encéfalo y están disponibles para ser evocados. Casos en que pacientes amnésicos presentan dificultades tanto anterógradas como retrogradas serias comúnmente están asociados a lesiones de amplio espectro, limitadas no solo al lóbulo temporal sino a áreas de la neocorteza (Dudai, 2004[2]).

Capítulo 2

Dopamina y memoria

La Dopamina (dihidroxifenilalanina) pertenece a una serie de moléculas conocidas como neurotransmisores que son liberados desde una terminal pre-sináptica y estimulan a otras células, particularmente otras neuronas que expresen receptores aptos para el neurotransmisor liberado en su post-sinapsis (Byrne, 2004). Se encuentra expresada en una amplia gama de organismos tanto invertebrados como vertebrados y es un intermediario indispensable en la formación de epinefrina y norepinefrina, ambos neurotransmisores y hormonas esenciales en seres vivos, junto con ellos, forma la familia conocida como catecolaminas (Siegel, 2006).

Las catecolaminas son moléculas derivadas del aminoácido tirosina y son llamadas así pues comparten al alcohol aromático “catecol”, un anillo de benzeno con dos grupos hidroxilo adyacentes, la ruta metabólica encargada de la síntesis de las catecolaminas está limitada por acción de la enzima tirosina hidroxilasa (TH) que hidroxila tirosina formando el precursor directo de la dopamina, L-dopa (Bannon, 2012) (Figura I.) Dopamina, Norepinefrina y epinefrina, los tres neurotransmisores producto de esta vía son incapaces de atravesar la barrera hematoencefálica, una barrera física producto de uniones ocluyentes en los vasos sanguíneos que irrigan el cerebro, la manipulación farmacológica de estas aminas depende de moléculas con acción análoga al neurotransmisor de interés capaces de cruzar la barrera y en el caso de la dopamina, de introducción de su precursor directo, L-dopa (Kostrzewa, 2007).

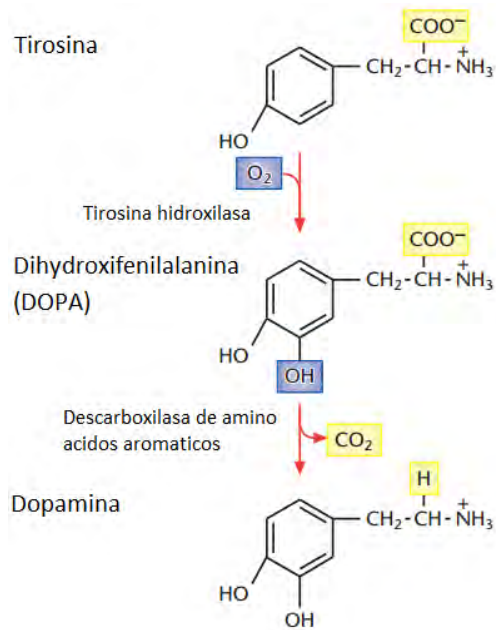


Figura 1, síntesis de dopamina a partir de tirosina. Modificado de Bannon, 2012

Existen dos familias de receptores dopaminérgicos: aquellos que se parecen a “D1” y aquellos que se parecen a “D2”, la primera familia incluye a los receptores D1R y D5R, ambos receptores activan a adenilil ciclasa por medio de proteínas G, siendo capaces de iniciar las cascadas de señalización intracelular previamente mencionadas. La familia de receptores parecidos a D2 se compone de los receptores, D2R, D3R y D4R (Civelli, 2010). Así como la familia de D1, estos receptores están unidos a proteínas G, sin embargo, el carácter de estas es inhibitorio para adenilil ciclasa, a pesar de ello, las neuronas dopaminérgicas se consideran de carácter modulador, es decir, no tienen un efecto excitatorio o inhibitorio per se, pero pueden modular las interacciones y el efecto de otros neurotransmisores de carácter excitatorio o inhibitorio (capaces de abrir y cerrar canales iónicos) de manera sinérgica (Roesler, 2011). Diferentes agonistas y antagonistas dopaminérgicos se utilizan en estudios farmacológicos y en el tratamiento de padecimientos relacionados con la dopamina, como la esquizofrenia o el mal de Parkinson (van Staden, 2012), existen fármacos afines a los diferentes receptores dopaminérgicos de manera tanto generalizada como específica, permitiendo el estudio de sus funciones de manera detallada (Clark, 1987).

El número de neuronas dopaminérgicas es relativamente limitado en comparación al de neuronas que expresan otros neurotransmisores, además estas neuronas se encuentran localizadas en núcleos específicos del cerebro y están categorizadas de acuerdo a la longitud de sus proyecciones: en primer lugar, las proyecciones locales de la retina y el bulbo olfatorio, las proyecciones intermedias conectan diferentes regiones del hipotálamo o se originan en el núcleo arcuato e inervan a la hipófisis. Finalmente la mayoría de las neuronas dopaminérgicas tienen proyecciones particularmente largas originándose del mesencéfalo (Dudai, 2004 [1]): la substantia nigra y el área ventral tegmental (VTA) e inervan diferentes zonas del cerebro, la vía nigroestriatal viaja desde la substantia nigra hasta los ganglios basales y está fuertemente relacionada con la ejecución de funciones motoras, el mal de Parkinson también está fuertemente relacionado con esta vía, individuos afectados muestran una muerte neuronal extensa en la substantia nigra y por lo tanto una deficiencia de dopamina en los ganglios basales. Tratamientos actuales contra el mal de Parkinson suelen enfocarse en aliviar los síntomas por medio de agonistas dopaminérgicos, administración de L-dopa e inhibidores de mono amina oxidasa, la enzima encargada de la desaminación oxidativa de la dopamina (Olanow, 1999). La vía mesocortical se origina en el VTA e inerva a la corteza, particularmente los lóbulos frontales, se le ha relacionado con varios aspectos de la cognición como la motivación, respuestas emocionales y la atención. Esta vía está ampliamente relacionada a síndromes psicóticos como la esquizofrenia cuyo tratamiento se centra en administración de antagonistas dopaminérgicos (Bannon, 2012). Por último, la vía mesolímbica (Figura J.) parte del VTA e inerva al sistema límbico: hipocampo y amígdala, entre otros, inerva también a la corteza mediotemporal, atravesando antes al núcleo accumbens. Esta última vía se ha considerado clásicamente como una de recompensa, activada en respuesta a estímulos placenteros, sin embargo, es también responsable de mecanismos de motivación y “deseo”. Patológicamente ha sido asociado a depresión clínica y problemas de adicción (Berridge, 1998).

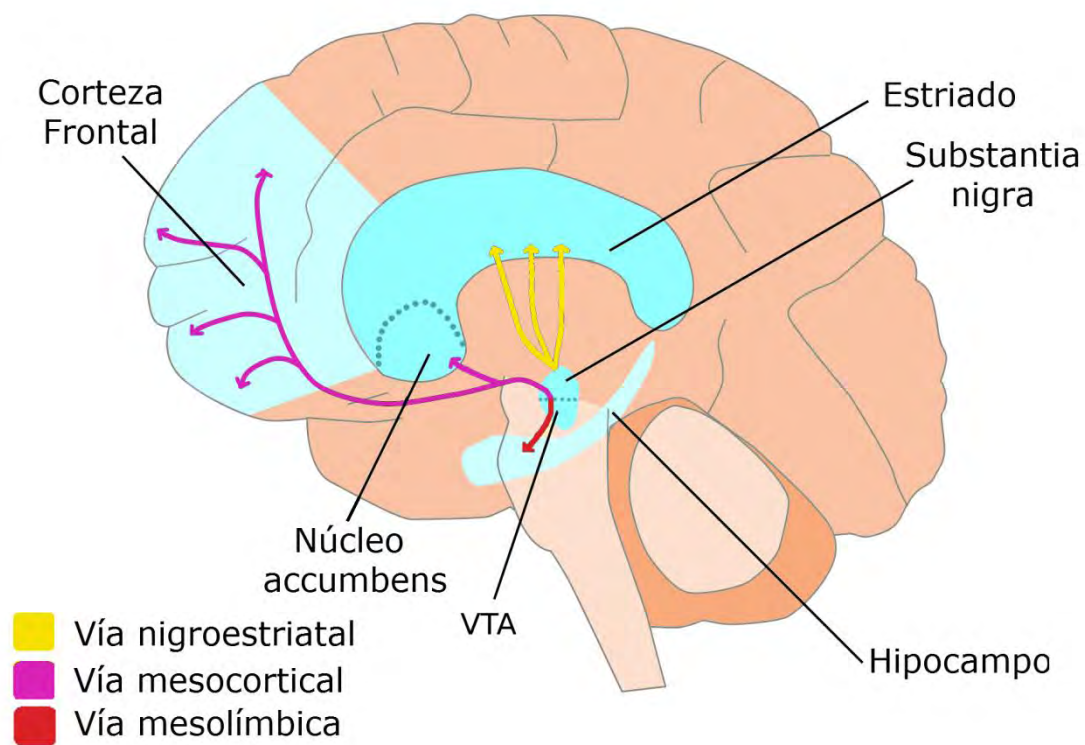


Figura J. Principales vías dopaminérgicas en el cerebro incluyendo su origen y destino. Modificado de Okinawa Institute of Science and Technology.

Recientemente se ha propuesto que la dopamina es un elemento importante en la formación de la memoria, estudios en *Drosophila* han demostrado que neuronas dopaminérgicas son necesarias para la formación de memorias olfativas aversivas y gustativas (Wadel, 2010). Estudios *ex vivo* han sugerido varios roles importantes para la dopamina en la formación de la memoria, protocolos electrofisiológicos han encontrado una facilitación de la plasticidad sináptica dependiente de dopamina en diferentes áreas del hipocampo, particularmente el CA1 (cornu ammonis 1) rico en células piramidales y el giro dentado, ambos estrechamente relacionados con la formación de memorias episódicas. Es también de interés una facilitación dopaminérgica en zonas corticales del lóbulo temporal medial y la corteza prefrontal, en ambos casos los receptores D1 y D5 fueron estimulados para producir esta facilitación (Jay, 2003), estudios similares en la zona CA1 indican que la fase tardía de esta facilitación (dependiente de síntesis proteica) puede bloquearse por medio de antagonistas del receptor D1 (Frey, 1990). In vivo

resultados similares se han observado por administración de antagonistas del receptor D1 (O'Carroll, 2004), en ratones transgénicos carentes del receptor D1 (Granado, 2008) y en animales farmacológicamente depletados de dopamina, en estos últimos, la facilitación puede rescatarse por medio de agonistas dopaminérgicos de D1 (Yang, 2008). De forma recíproca, se ha demostrado que el aprendizaje de ciertas tareas fortalece la actividad de neuronas dopaminérgicas en el hipocampo, en todos los casos, la dopamina parece ejercer un efecto indispensable en etapas relacionadas con la síntesis proteica y por ende la formación de memoria a largo plazo (Lisman, 2011).

Conductualmente, alteraciones mnémicas han sido observadas en diferentes pruebas en modelos murinos, por ejemplo, transgénicos libres de dopamina son incapaces de aprender tareas de condicionamiento al miedo (Palmiter, 2011), similarmente se ha reportado efecto de antagonistas y agonistas dopaminérgicos inyectados al hipocampo dorsal sobre la memoria a largo plazo de una tarea de evitación inhibitoria, inyectado después del entrenamiento, el antagonista de D1R, SCH, impide la formación de memoria a largo plazo; De manera opuesta, el agonista de D1R, SKF, fomenta la formación de memoria a largo plazo aun después de entrenamientos débiles (Rossato, 2009), resultados similares han sido observados en inyecciones intracerebrales al núcleo accumbens y amígdala basolateral (LaLumiere, 2005). Pruebas de reconocimiento de novedad también son susceptibles al efecto de agonistas dopaminérgicos. Inyecciones intraperitoneales de SKF inmediatamente después del entrenamiento fomentan la formación de la memoria a largo plazo e incluso fortalecen la memoria en comparación con animales control (de Lima, 2011).

Resultados previos de nuestro laboratorio han demostrado que animales transgénicos con un déficit dopaminérgico presentan una marcada dificultad para tanto adquirir como consolidar la información y que la restauración farmacológica de niveles normales de esta molécula rescatan las tareas cognitivas previamente impedidas (Guzmán-Ramos et al. 2012). En este modelo murino, que presenta una patología semejante al mal de Alzheimer, ratones que fueron probados en un protocolo de reconocimiento de objetos son incapaces de reconocer la introducción de un objeto nuevo a su ambiente, mientras

que sus contrapartes sanas no solo lo reconocen, sino que presentan una marcada liberación dopaminérgica en el momento de la presentación del objeto nuevo. Insinuando un correlato entre la señalización dopaminérgica y la novedad, que a su vez está relacionada con la formación de memoria a largo plazo. Finalmente, a los ratones con la patología se les administró el inhibidor de la recaptura de dopamina nomifensina, que incrementa el tiempo de actividad del neurotransmisor en la sinapsis. Cuando a estos animales se les estimula través del fármaco nomifensina, la conducta se recupera y es comparable a la de animales sanos no transgénicos. (Figura K).

Últimamente existen varias evidencias de la participación de la dopamina en el laberinto acuático de Morris (MWM, por sus siglas en inglés).

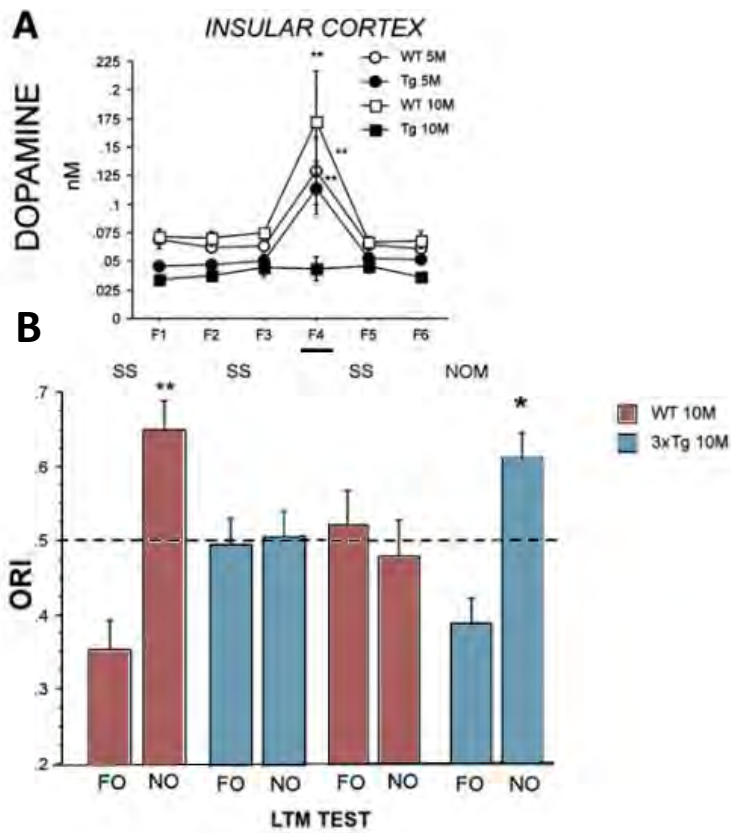


Figura K. **A** Liberación dopaminérgica en la corteza insular cuando a un animal le es presentado un objeto nuevo dentro de un contexto familiar, La introducción del objeto similar está representada por una barra negra en el eje de las abscisas.

B Estimulación de animales transgénicos (3xTg 10M) con nomifensina recupera la conducta normal presentada por ratones sanos (WT 10M). FO, objeto familiar. NO, objeto nuevo. ORI, Índice de reconocimiento. SS control salina. NOM experimental nomifensina. Modificado de Guzmán-Ramos 2012.

Laberinto acuático de Morris

En animales, la memoria espacial es esencial para la búsqueda de comida, lugares propicios para anidar, conductas reproductivas, etc. Esta forma de aprendizaje depende de la formación de asociaciones entre las características del ambiente y la formación de una representación interna de su entorno con respecto a dichas asociaciones (mapa cognitivo) (Rosa, 2003), en animales, se le considera una memoria declarativa similar a la episódica (Morris, 2001).

Originalmente desarrollado por Richard Morris, el laberinto consiste en una tina circular llena de agua donde nada una rata o ratón, sumergida a un centímetro bajo el agua se encuentra una plataforma fija que el animal debe localizar para escapar del laberinto. Fuera de la tina se colocan varias claves espaciales que el animal puede observar y con las cuales desarrolla el mapa cognitivo que le permitirá escapar del laberinto después de aprendida la tarea (Morris, 2008). En la fase de adquisición, el animal es colocado dentro de la tina y se le deja nadar durante un periodo determinado de tiempo para que busque la plataforma, si la encuentra el animal es sacado de la tina y se le permite descansar antes de ensayos subsecuentes, si el animal es incapaz de localizar la plataforma se le deposita sobre ésta unos segundos y luego se le remueve de la tina. Después de un número determinado de días de aprendizaje, el animal es sometido a una prueba de memoria en la cual la plataforma es removida y el animal se coloca en la tina, si el animal ha aprendido la tarea nadará más tiempo dentro del cuadrante donde anteriormente se encontraba la plataforma (Vicens, 2003).

La prueba es evaluada midiendo la latencia de los animales a la plataforma en días de adquisición y midiendo el tiempo que el animal pasa en el cuadrante donde anteriormente se encontraba la plataforma, menores latencias a la plataforma indican una buena adquisición mientras que un mayor tiempo en el cuadrante de interés indica una buena retención de la memoria, alternativamente se pueden medir el número de cruces del antiguo lugar de la plataforma y la latencia a este punto (Vicens, 2003) (Figura L).

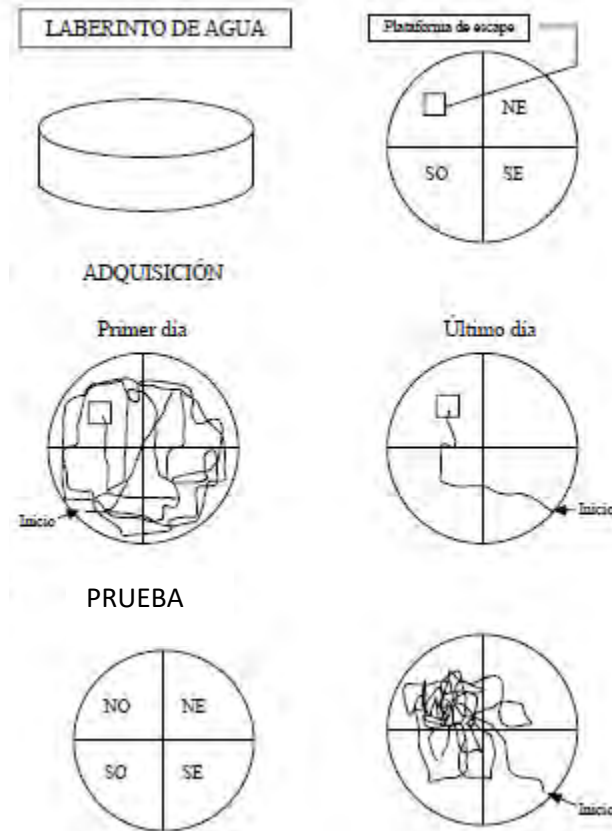


Figura L, Representación gráfica del laberinto acuático de Morris. Modificado de Vicens, 2003.

Se ha demostrado una participación esencial del hipocampo en esta tarea, animales con lesiones de esta área demuestran graves dificultades en ella, incluso versiones virtuales de la misma, aplicada a pacientes humanos, son difíciles de resolver para ellos (Astur, 2002). Una de las hipótesis más interesantes para la participación del hipocampo en esta tarea sostiene que existen una serie de células que se activan en relación a locaciones específicas con respecto a un ambiente, la activación de estas “células de lugar”, podría subyacer la ubicación cognitiva de un individuo con respecto a su entorno (O’Keefe, 1971).

Varios estudios han demostrado una participación importante de la dopamina en esta tarea, inyecciones intracraneales dirigidas a CA1 de SCH afectaron la formación de memoria a largo plazo, sin afectar el desempeño de un protocolo alternativo de MWM no espacial, alternativamente, la inyección de SKF fomentó la formación del trazo de

memoria (daSilva, 2012; Lisman, 2011); Animales farmacológicamente depletados de dopamina en CA1 muestran un resultado extremadamente similar al de la acción de SCH (Gasbarri, 1996), de igual forma, transgénicos carentes de dopamina son incapaces de resolver la tarea, pero es posible rescatar la conducta por medio de administración de L-dopa (Palmiter, 2011).

Envejecimiento y memoria

En los últimos 20 años, la esperanza de vida en el mundo se ha incrementado en aproximadamente 5 años, si bien es un reflejo del desarrollo positivo en salubridad y otros rubros, el envejecimiento constante de la población es un problema económico y social importante del mundo moderno, en la gran mayoría de los países industrializados la población se concentra en grupos de edad entre los 40 y 50 años, mientras que grupos de edad juveniles pasan a ser minorías, agravando la magnitud del problema a futuro (World Bank, 2013). A raíz de esto, mucho interés científico se ha centrado en conocer las causas del envejecimiento desde perspectivas moleculares, evolutivas y geriátricas.

Entre los problemas más recurrentes de la población de la tercera edad se encuentran aquellos referentes al sistema nervioso. Enfermedades neurodegenerativas, como el mal de Parkinson o la enfermedad de Alzheimer y la demencia senil son algunas de las muchas patologías que aquejan predominantemente a individuos mayores (Turker, 2009), sin embargo, incluso individuos que presentan un envejecimiento normal presentan cierta debilidad en tareas motoras y cognoscitivas, siendo una de las más comunes la memoria. Análisis post-mortem de cerebros envejecidos provenientes de individuos no dementes revelan varias particularidades estructurales como acumulación de lipofuscina, proveniente de años de peroxidación lipídica, cuerpos de Hirano: acumulaciones anormales de microfilamentos especialmente representados en el hipocampo y una reducción importante de mielina que se ha relacionado con un declive en la plasticidad neuronal que podría correlacionar con carencias cognitivas a menudo presentes en individuos mayores. También se observa un claro declive en la masa cerebral total, reflejado en un incremento en el tamaño de los ventrículos cerebrales, esta reducción es

característica de la corteza prefrontal pero también está claramente representada en el hipocampo (Raz, 2005).

Neuroquímicamente el envejecimiento se ve acompañado de un claro declive en todos los sistemas monoaminérgicos, incluyendo el dopaminérgico del que se ha reportado una disminución de neuronas de hasta un 50% (Palmer, 1993), además de una disminución importante de DR1 y D2R en varias zonas del cerebro, incluyendo al hipocampo (Amenta F. 2001).

En pruebas cognitivas aplicadas a adultos mayores se ha reportado que la memoria implícita se encuentra prácticamente intacta y son tareas de memoria episódica las que demuestran el mayor declive, entre ellas, tareas de memoria espacial (Newman, 2000, Cansino, 2009), además es posible generar distinciones significativas entre niveles socio económicos y sobre todo de escolaridad en el rendimiento en pruebas de memoria episódica (Craik, F. 1994).

El declive cognitivo en adultos humanos solo puede evaluarse conductualmente en vida y neuroquímico/anatómicamente post-mortem, por lo que mucha información importante no está directamente disponible, sin embargo varios modelos animales han sido probados en paradigmas de memoria correspondientes a los que se encuentran alterados en adultos mayores. Tanto primates no humanos como ratas y ratones presentan un declive similar al humano en individuos envejecidos en tareas relacionadas con la memoria espacial (Rapp, 1997, Barnes, 1997), que correlaciona con disfunciones hipocampales relacionadas con la edad (Ericksson, 2003). En estudios murinos se han observado correlaciones entre una deficiencia en la facilitación sináptica (Barnes, 1979), particularmente en el área C1 (Deupree, 1993) con un desempeño pobre en tareas de memoria espacial.

En relación al sistema dopaminérgico se ha encontrado que la inhibición por SCH de este no tiene un efecto sobre el desempeño de ratas durante entrenamientos de MWM, pero es particularmente interesante recalcar que el tratamiento inverso, por medio de inyecciones intraperitoneales de SKF, mejoró el desempeño de la tarea e incrementó la

cantidad de acetilcolina disponible en hipocampo (Hersi, 1995). Un experimento similar encontró que el déficit en la potenciación sináptica antes mencionado puede corregirse con un tratamiento similar de SKF observando una mejora conductual *in vivo* y recuperación de la facilitación sináptica *in vitro* (Bach, 1999).

El fortalecimiento de la memoria es uno de los objetivos más importantes de la investigación en relación a las bases de la memoria y al envejecimiento. Distintos protocolos conductuales y experimentales han sido capaces de facilitar la formación de un trazo mnémico en animales por medio de diferentes métodos. Animales sobre-entrenados en el laberinto acuático de Morris muestran una mejora considerable de su aptitud en la tarea e incluso es posible observar sinaptogénesis importante en el hipocampo mediante tinciones de Timm (tinción de moléculas de zinc presentes en células del sistema nervioso) (Ramirez-Amaya, 2001). Farmacológicamente es posible elicitar una mejoría en diferentes protocolos conductuales como la evitación inhibitoria o el MWM a través de receptores glutamatérgicos (Collinridge, 2013) e incluso dopaminérgicos (Rossato, 2009).

Planteamiento del problema

Se sabe que conforme los mamíferos envejecen su capacidad para formar nuevas memorias se va deteriorando, si bien los mecanismos que subyacen la vejez en el cerebro no están del todo descifrados, se han reportado declives importantes en sistemas de neurotransmisión como el dopaminérgico. En este estudio nos hemos propuesto estimular la actividad dopaminérgica durante el aprendizaje de una tarea de memoria espacial con el fin de aminorar las diferencias encontradas entre el desempeño de ratones jóvenes contra ratones viejos. Alternativamente, resultados previos de nuestro laboratorio han demostrado que el sobre-entrenamiento de una tarea de memoria espacial como el laberinto acuático de Morris tiene un efecto positivo en la retención de ésta, por lo que también buscamos mejorar el desempeño cognitivo de animales viejos a través de una fase de adquisición prolongada.

Hipótesis

El entrenamiento prolongado en fase de adquisición del laberinto acuático de Morris contribuirá al fortalecimiento de la memoria de largo plazo en ratones de nueve meses de edad, adicionalmente, esperamos que la administración de un agonista dopaminérgico en estos mismos ratones potencie la consolidación de la memoria de largo plazo. Finalmente esperamos que ambas pruebas reduzcan las diferencias en la conducta de animales de edad avanzada en comparación con su contraparte de cuatro meses de edad.

Objetivos Generales

Analizar el desempeño conductual de ratones de cuatro y nueve meses de edad al ser entrenados en el laberinto acuático de Morris, además de la retención a largo plazo de esta misma tarea, contrastando los efectos de un entrenamiento corto de cuatro días y uno largo de nueve. Adicionalmente se analizará el desempeño de animales bajo las mismas condiciones de entrenamiento ya mencionadas bajo un tratamiento sistémico post adquisición del agonista dopaminérgico SKF38393 por la duración del entrenamiento.

Objetivos Particulares

- Evaluar el desempeño durante la fase de adquisición de ratones de cuatro y nueve meses en el laberinto acuático de Morris utilizando un paradigma de entrenamiento corto y uno de entrenamiento prolongado y comparar sus desempeños.
- Evaluar la memoria a largo plazo de los ratones ya mencionados y comparar su desempeño en una prueba de memoria realizada cinco días después de la última fase de adquisición.
- Evaluar el desempeño durante la fase de adquisición de ratones de nueve meses de edad administrados con SKF38393 post-adquisición en protocolos de entrenamiento corto y prolongado y comparar su desempeño contra ratones de nueve meses de edad sin tratamiento y ratones de cuatro meses de edad, también sin tratamiento.
- Evaluar la memoria a largo plazo del grupo de ratones de nueve meses administrado con el agonista dopaminérgico en una prueba de memoria realizada cinco días tras la última fase de adquisición

Metodología

Modelo Animal

Fueron utilizados 33 ratones cepa albina CD1, divididos en 6 grupos de estudio en razón del entrenamiento utilizado y la administración de fármaco SKF. En caso del protocolo de entrenamiento corto se utilizaron 3 grupos: nueve meses de edad administrados con solución salina intraperitoneal (EC/SS 9m), nueve meses de edad administrados con SKF38393 intraperitoneal (EC/SKF 9m) y un último grupo de ratones de cuatro meses de edad administrados con solución salina (EC/SS 4m). Para el protocolo de entrenamiento largo se utilizaron 3 grupos idénticos: nueve meses, salina (EP SS 9m), nueve meses, SKF38393 (EP SKF 9m) y cuatro meses, salina (EP SS 4m)

Grupos de estudio		
EDAD	Protocolo de entrenamiento	
	Entrenamiento corto (EC)	Entrenamiento prolongado (EP)
Cuatro meses (jóvenes)	Solución salina n=5	Solución salina n=5
	SKF38393 n=5	SKF38393 n=5
Nueve meses (edad avanzada)	Solución salina n=5	Solución salina n=5
	SKF38393 n=6	SKF 38393 n=7

Laberinto acuático de Morris

Para las pruebas conductuales en laberinto acuático se utilizó una tina circular metálica con un diámetro de 1.42 metros llena de agua teñida color blanco utilizando pintura guache no toxica, dentro de la tina se colocó una plataforma también blanca sumergida 5 milímetros bajo la superficie del agua, la plataforma es una superficie cuadrada con lados de 12 cm de longitud y es invisible para el animal. La prueba se realizó en un cuarto separado para evitar sonidos e interrupciones y dentro de este se colocaron varias claves espaciales que los animales pueden utilizar para ubicarse espacialmente una vez en la tina. Para realizar la tarea la tina fue dividida en cuatro cuadrantes imaginarios dentro de los cuales es sumergido el animal al comienzo de la prueba. Para el entrenamiento el ratón es sumergido en la tina dentro de alguno de los cuatro cuadrantes y se le permite nadar durante un minuto, al término de este periodo el animal es retirado del agua y se le coloca sobre la plataforma sumergida durante 10 segundos con el objetivo de que aprenda la ubicación de esta. Si el animal es capaz de encontrar la plataforma durante los 60 segundos de prueba, este es retirado del agua. Al término del minuto de prueba, o al haber encontrado la plataforma sumergida, el animal es colocado en una toalla durante 30 segundos para permitir que descanse y una vez pasado este periodo, se deposita al ratón en un cuadrante diferente por otros 60 segundos repitiéndose este proceso otras 2 veces hasta completar cuatro ensayos diarios, uno por cuadrante imaginario. Una vez

terminado el entrenamiento el animal es inyectado intraperitonealmente con solución salina o SKF dependiendo del grupo al que pertenece.

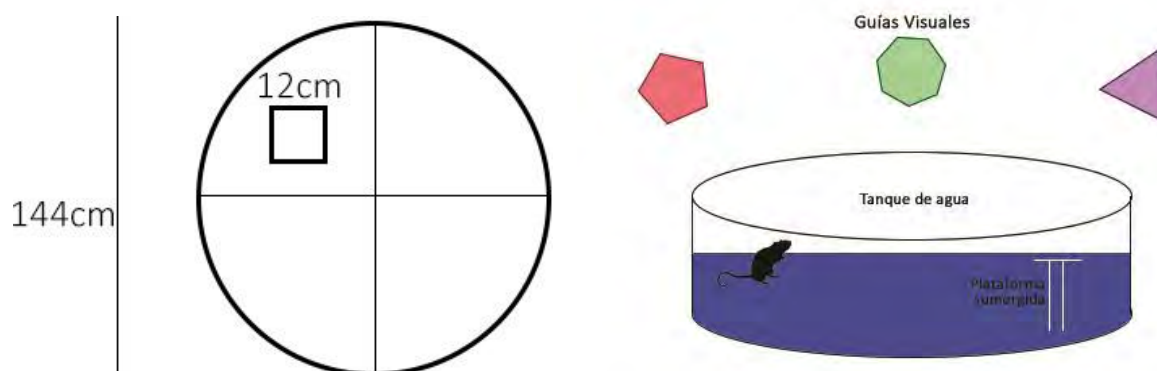


Figura M. Representación esquemática del laberinto acuático, a la izquierda, medidas y representación de la división imaginaria del tanque, a la derecha, esquema del tanque, plataforma y claves espaciales utilizadas por el ratón, la conducta fue video grabada por una cámara de video justo encima del tanque.

Este proceso se repite por cuatro días en el caso del protocolo de entrenamiento corto o por nueve días, en el protocolo de entrenamiento prolongado.

Finalmente cinco días después del último ensayo de adquisición se realiza la prueba de memoria a largo plazo, esta consiste en el mismo protocolo que las fases de adquisición, sin embargo, la plataforma es removida.

Para evaluar la memoria a largo plazo se contó el número de veces que el ratón cruzo el área donde se encontraría la plataforma, contabilizado como numero de cruces, el tiempo que tarda cada animal para llegar al cuadrante donde estaba la plataforma o latencia al cuadrante blanco, el tiempo que tarda en llegar al punto específico donde se encontraba la plataforma o latencia a la plataforma y por último el tiempo total que el animal paso nadando en el cuadrante blanco.

Protocolos de entrenamiento

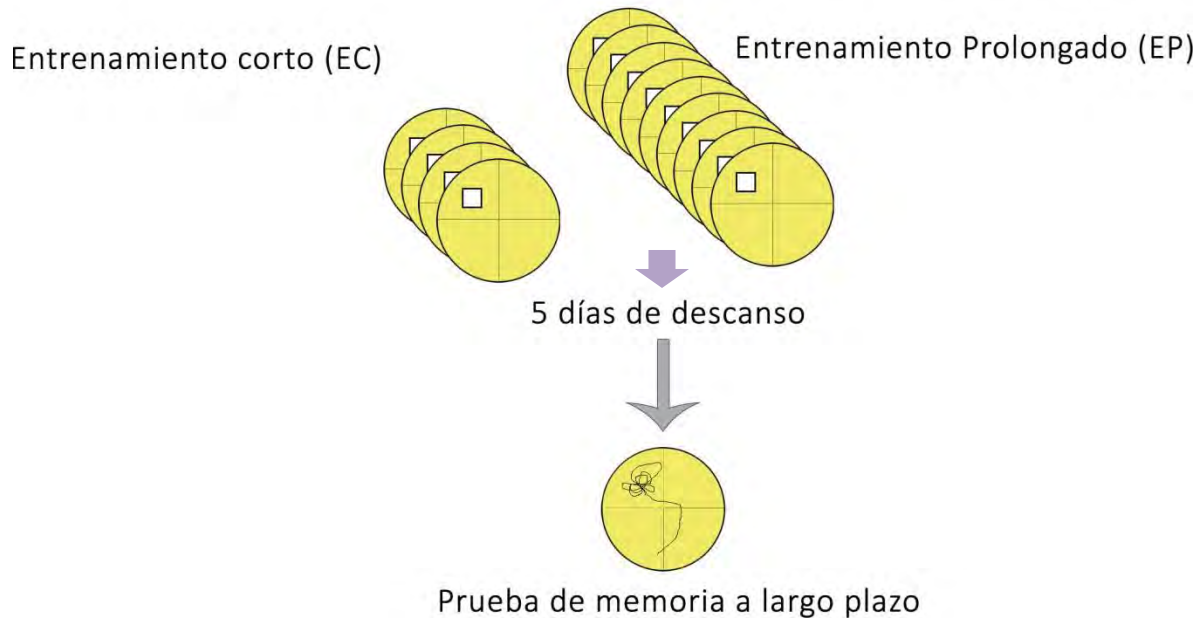


Figura N. Representación del protocolo conductual utilizado en el experimento, se utilizaron un protocolo corto de cuatro días y uno prolongado de nueve días de entrenamiento seguidos por un periodo de reposo de cinco días y finalmente una prueba de memoria a largo plazo.

Administración del Fármaco

Como ya fue mencionado anteriormente, al terminar cada una de las fases de entrenamiento los animales fueron inyectados intraperitonealmente con el fármaco SKF38393 hydrochloride SKF (Sigma-Aldrich), agonista dopaminérgico específico de receptores D1, en una dosis de 6mg por kilo disueltos a su vez en una mezcla de solución salina al 0.9% y DMSO al 0.1% (Grupos SKF). Los grupos control también fueron inyectados después de cada entrenamiento con una mezcla de solución salina 0.9% y DMSO 0.1% (Grupos solución salina). La dosis inyectada fue elegida en base a resultados previos del laboratorio pendientes a ser publicados.

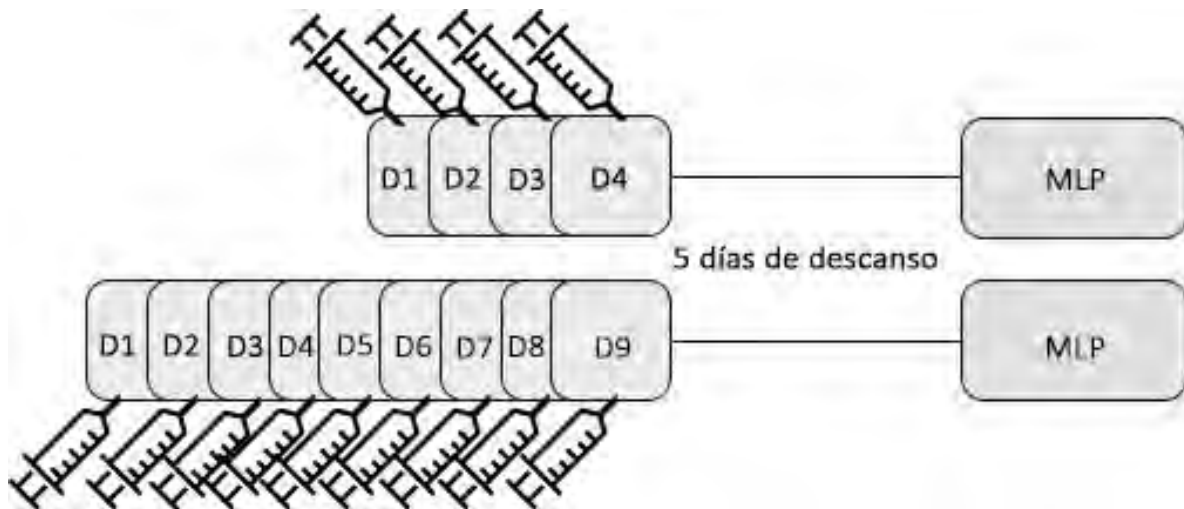


Figura O. Protocolos de inyección de SKF y solución salina utilizados para entrenamiento corto y prolongado respectivamente, las inyecciones intraperitoneales fueron realizadas inmediatamente después del último ensayo diario de la fase de adquisición

Análisis de datos

Tanto los ensayos en fase de adquisición como las pruebas de memoria a largo plazo fueron video grabadas en una cámara digital Olympus FE-320/X 835/C-540 para su posterior análisis. Los videos fueron analizados manualmente utilizando cronómetros de la marca Cole-Palmer (EW-94440-00). Todas las medidas se tomaron en segundos y se midió la latencia de llegada a la plataforma durante el entrenamiento y la latencia de llegada al cuadrante y el número de cruces de la plataforma en la prueba de memoria a largo plazo. Los datos se muestran con la media \pm de error estándar. El análisis estadístico consistió de una prueba de análisis de varianza ANOVA multifactorial con análisis post-hoc de Fisher. Se compararon grupos de edades tanto por número de días de entrenamiento (cuatro días de entrenamiento contra nueve días de entrenamiento) como por tratamiento farmacológico (SKF y solución salina). Se consideró significativo un valor p menor a 0.05. Finalmente el análisis se llevó a cabo utilizando la paquetería estadística Statview 4.57.

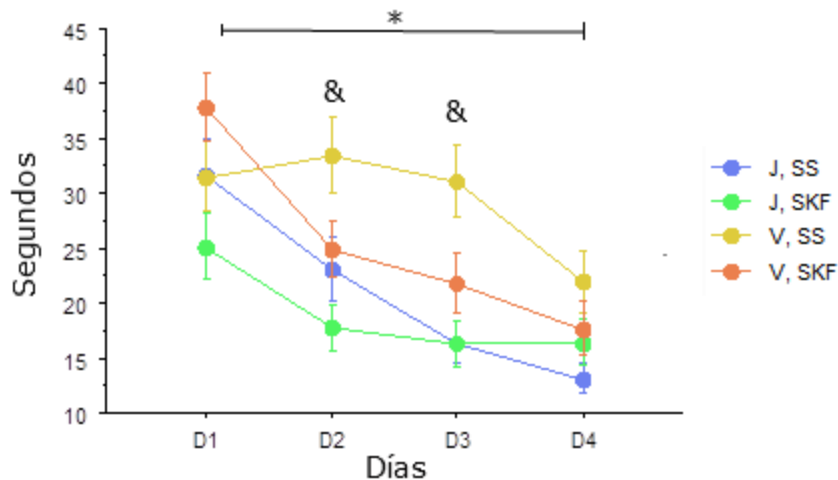
Resultados

Efecto de la administración del agonista dopaminérgico SKF38393 en la fase de adquisición del laberinto acuático de Morris

Entrenamiento Corto

Analizando la conducta de los animales durante la fase de adquisición del MWM es posible discernir que el tratamiento de animales de edad avanzada con SKF inmediatamente después del entrenamiento redujo de forma estadísticamente significativa la latencia de llegada a la plataforma del grupo de ratones de nueve meses (V SKF) en comparación con sus contrapartes inyectadas con vehículo de solución salina (V SS) ($p < 0.01$). Además existe una interacción estadísticamente significativa dependiente de la edad ($p < 0.01$), el tratamiento, ($p < 0.01$) y la combinación de ambos factores ($p < 0.05$). Podemos concluir que todos los grupos aprenden, pero la “cantidad” de aprendizaje, es decir la diferencia estadística entre latencias conforme pasa el tiempo, es diferente dependiendo de la edad y el tratamiento que recibe el animal.

Efecto de la administración de SKF durante la adquisición de un entrenamiento corto

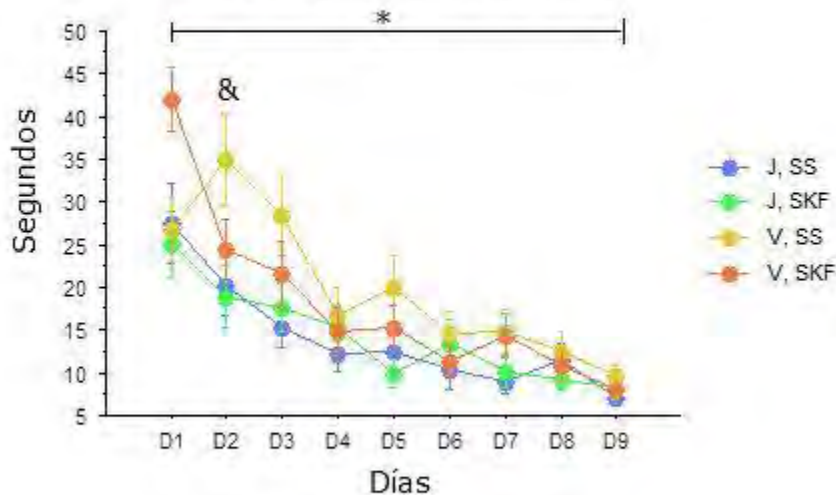


Grafica 1 Las latencias de llegada a la plataforma de animales de entrenamiento corto disminuye a lo largo del tiempo en todos los grupos ($*p < 0.01$). Comparando animales de nueve meses es posible observar una diferencia significativa en el desempeño de los días 2 y 3 de entrenamiento ($&p < 0.01$).

Entrenamiento prolongado

En el caso del entrenamiento prolongado el tratamiento con SKF redujo significativamente la latencia de animales viejos, sin embargo este efecto solo se observa durante los primeros días de entrenamiento ($p < 0.01$), a partir del quinto día, el desempeño de todos los animales tiende a una asíntota, es decir, la cantidad de aprendizaje entre ellos es muy similar. Las latencias de aprendizaje de todos los animales disminuyen significativamente a lo largo de los días ($p < 0.01$) aunque la cantidad de aprendizaje pasado el cuarto día no alcanza a ser estadísticamente significativa. Además la cantidad de aprendizaje solo se ve afectada por la edad de los animales ($p < 0.01$), a diferencia del entrenamiento corto donde el tratamiento farmacológico también afectaba la conducta. Podemos concluir que el entrenamiento prolongado reduce el déficit observado en animales viejos, al menos durante la fase de adquisición.

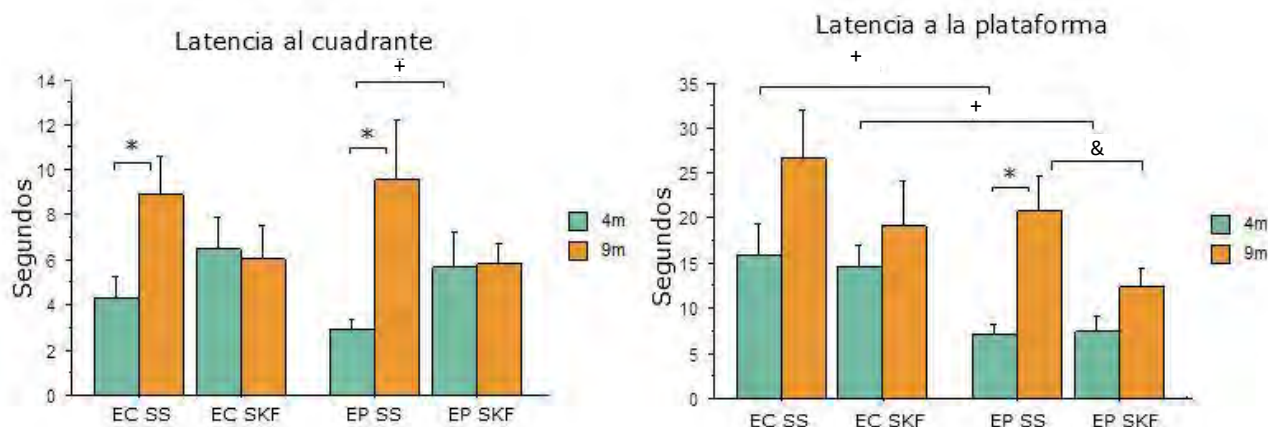
Efecto de la administración de SKF durante la adquisición de un entrenamiento corto



Gráfica 2 Las latencias de llegada a la plataforma de animales de entrenamiento prolongado disminuye a lo largo del tiempo en todos los grupos ($*p < 0.01$). En este caso solo se observa una diferencia entre animales de 9 meses en el segundo día ($&p < 0.01$)

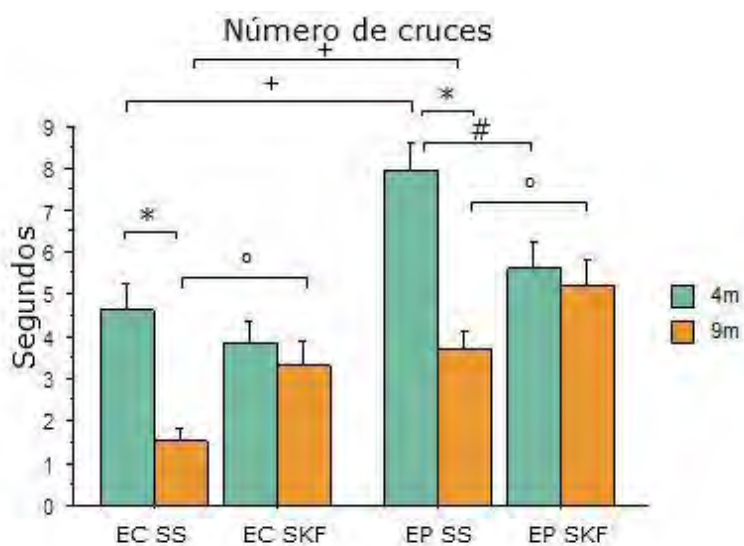
Efecto de la administración del agonista dopaminérgico SKF38393 en la memoria a largo plazo de ratones de edad avanzada

Se realizaron tres mediciones diferentes a los animales en la prueba a largo plazo, latencia a la plataforma, latencia al cuadrante blanco y número de cruces de la plataforma. Las pruebas de latencia al cuadrante y latencia a la plataforma presentan resultados similares, los animales jóvenes control son significativamente más rápidos en llegar al blanco que los animales viejos control ($p < 0.01$), además esta diferencia se vuelve más obvia cuando los animales fueron sometidos a un entrenamiento prolongado ($p < 0.01$), mismo que parece no tener efecto sobre el desempeño de animales viejos. En cuanto al tratamiento farmacológico es claro el efecto del SKF en la conducta de tanto animales jóvenes como viejos. En el caso del entrenamiento corto, es posible observar una tendencia a disminuir la latencia al comparar animales viejos entre sí. En el entrenamiento prolongado los animales jóvenes muestran una tendencia a empeorar en su desempeño en la prueba de latencia al cuadrante más no en la latencia a la plataforma. Animales viejos, disminuyen la latencia con respecto a los controles ($p < 0.05$) y su desempeño se acerca al de animales jóvenes.



Gráfica 3 Animales control jóvenes comparados contra viejos muestran una diferencia significativa en ambos entrenamientos ($*p < 0.01$). El desempeño de animales viejos muestra una tendencia a mejorar cuando es comparado contra animales control tras un entrenamiento corto, tras un entrenamiento prolongado la diferencia entre animales viejos tratados con SKF y controles es estadísticamente significativa ($&p < 0.05$). El desempeño de animales jóvenes tiende a empeorar cuando son tratados con SKF y comparados contra controles de salina ($+p < 0.05$).

La medida de número de cruces arroja resultados similares a los ya mencionados. El entrenamiento prolongado aumenta de manera significativa el número de cruces de tanto animales jóvenes como viejos ($p < 0.05$). Los animales control viejos son significativamente peores a los jóvenes tanto en entrenamiento corto como prolongado ($p < 0.01$), los animales tratados viejos mejoran su desempeño comparados a los controles ($p < 0.01$). Sin embargo el desempeño de animales jóvenes tratados con el fármaco disminuye significativamente contra los controles de solución salina tras un entrenamiento prolongado ($p < 0.05$).



Gráfica 3 Controles viejos muestran un desempeño cognitivo inferior al de animales jóvenes ($*p < 0.01$), este déficit es reducido al tratar a los animales con SKF ($^{\circ}p < 0.01$), sin embargo este mismo tratamiento afecta el desempeño de animales jóvenes ($\#p < 0.05$). El entrenamiento prolongado tiene un efecto positivo sobre el desempeño de la tarea tanto en animales jóvenes como viejos ($+p < 0.05$).

Discusión

En este estudio hemos encontrado que tanto el entrenamiento prolongado como el tratamiento farmacológico con el agonista dopaminérgico SKF38393 en animales de nueve meses de edad pueden mejorar en cierta medida la capacidad cognoscitiva de estos, naturalmente disminuida en comparación con animales de cuatro meses de edad.

Efecto de los entrenamientos corto y prolongado sobre la fase de adquisición del laberinto acuático de Morris en animales de cuatro y nueve meses de edad.

Previamente se ha demostrado que animales envejecidos tienen cierta dificultad para aprender tareas de memoria espacial (incluido laberinto acuático) en comparación con animales jóvenes en protocolos de entrenamiento de cuatro días, estos animales resuelven las tareas para las que se les entrena en lapsos de tiempo más largos que sus contrapartes jóvenes y a menudo se especula que la razón de esto es un déficit en su capacidad de aprender la tarea durante el entrenamiento (Bergado et al. 2011). Nuestros resultados muestran un resultado similar en animales de cuatro y nueve meses entrenados por cuatro días durante la fase de adquisición, donde los animales viejos tardan más tiempo en llegar a la plataforma sumergida. Sin embargo cuando ampliamos el periodo de entrenamiento hasta nueve días esta dificultad en el aprendizaje parece contrarrestarse gracias a la repetición constante de la tarea.

Pasado el cuarto día de entrenamiento todos los animales tienden a reducir sus periodos de latencia a la plataforma de forma equitativa, independientemente de la edad e incluso el tratamiento farmacológico y a partir del quinto día nuestros datos muestran que el desempeño de los animales llega a una especie de asíntota, es decir, independientemente de las repeticiones de la fase de adquisición el desempeño de los animales no mejora ni empeora y podría decirse que todos los animales aprenden la ubicación de la plataforma escondida de igual forma.

Existen varios mecanismos que han sido propuestos para explicar este déficit en la capacidad de aprendizaje en animales de edad avanzada, uno de ellos es el periodo de

hiperpolarización de la membrana neuronal tras un disparo sináptico, este periodo refractario es producto del bloqueo del canal de calcio tras el disparo de un potencial de acción y durante él la neurona es incapaz de disparar un segundo potencial de acción, en términos generales la duración de este periodo de hiperpolarización correlaciona con la sensibilidad de una neurona, mientras más corto es, más excitable es la neurona. Por otro lado se ha demostrado que cambios en la excitabilidad neuronal pueden subyacer un mecanismo importante para el aprendizaje. Estudios donde este periodo refractario de hiperpolarización es manipulado farmacológicamente han demostrado que un periodo refractario corto (alta excitabilidad neuronal) mejora la tasa de aprendizaje en tareas dependientes de hipocampo (Disterhoft et al.2006). Alternativamente se ha demostrado que animales de incluso ocho meses de edad muestran periodos de hiperpolarización más largos que sus contrapartes de dos meses de edad y por tanto un déficit en el aprendizaje de tareas también dependientes del hipocampo (Kaczorowski et al. 2009), lo que sugiere que está pérdida de la capacidad de modulación de la excitabilidad neuronal existe desde los ocho meses de edad en modelos murinos y que puede ser responsable en cierta medida del déficit cognoscitivo que presentan en comparación con animales más jóvenes. Quizás el entrenamiento prolongado es capaz de reducir el impacto de esta pérdida debido a que la repetición constante de la tarea pueda complementar el déficit generado por la menor excitabilidad neuronal, la asíntota de aprendizaje observada en nuestros resultados bien podría ser resultado de este efecto complementario.

Efecto del entrenamiento prolongado sobre la memoria a largo plazo en animales de cuatro y nueve meses de edad.

Si bien el efecto del entrenamiento prolongado sobre animales de nueve meses de edad es claro en la fase de adquisición de la tarea de laberinto acuático de Morris, al momento de evaluar la retención mnémica a largo plazo de la tarea en estos animales no se observa una mejoría con respecto a los animales de la misma edad entrenados en un protocolo de cuatro días, alternativamente la misma comparación, esta vez entre animales jóvenes, nos muestra una tendencia a disminuir los tiempos de latencia de llegada a la plataforma de los animales sobre entrenados, así como un aumento en el número total de cruces por el

área blanco, es decir que el sobre entrenamiento solo tiene un efecto sobre la memoria a largo plazo en animales jóvenes lo que nos lleva a sugerir una desregulación en los mecanismos que subyacen la consolidación de la memoria espacial a largo plazo en animales de nueve meses de edad.

Uno de los sistemas de neurotransmisión más afectados por el envejecimiento es el dopaminérgico, estudios post-mortem en humanos han demostrado una disminución de hasta un ocho por ciento de varios marcadores dopaminérgicos como receptores D1, D2 y transportadores de la propia molécula de dopamina (Morcom et al. 2010), también se han reportado pérdidas de hasta un seis por ciento de neuronas dopaminérgicas en sistema nervioso, un déficit que correlaciona con una menor disponibilidad de este neurotransmisor en el cuerpo estriado (Düzel, 2010). En razón a estos datos y la incapacidad de mejorar el desempeño en pruebas de memoria a largo plazo en ratones de edad avanzada por medio de sobre entrenamiento, se probó el efecto de agonista dopaminérgico SKF 38393 como un método farmacológico para compensar la posible degeneración dopaminérgica de estos animales.

Efecto del agonista dopaminérgico SKF 38393 en la fase de adquisición del laberinto acuático de Morris en animales de cuatro y nueve meses de edad.

Una de las principales tareas de la dopamina dentro del sistema nervioso central es la modulación del accionar de otros neurotransmisores, entre ellos el glutamato. Estudios han demostrado que la memoria a largo plazo de un entrenamiento de evitación inhibitoria, se ve afectada cuando un antagonista del receptor D1 es inyectado intra hipocampalmente después del entrenamiento (Rossato et al. 2009), similarmente inyecciones en el área C1 del hipocampo de agonistas dopaminérgicos tras el entrenamiento de una tarea de memoria espacial mejoran la retención de esta en la prueba de memoria a largo plazo (daSilva et al. 2012). Sin embargo, también se ha comprobado que dosis normalmente demasiado bajas para provocar una disrupción en la consolidación de la memoria espacial de antagonistas glutamatérgicos y dopaminérgicos

pueden afectar la memoria cuando son inyectados al mismo tiempo en el núcleo accumbens (Ferreti et al. 2005), es decir, la acción de ambos neurotransmisores está ligada a la formación de un trazo de memoria, por lo que la pérdida de actividad dopaminérgica en el cerebro envejecido podría ver afectado sistemas de neurotransmisión comúnmente modulados por el sistema dopaminérgico.

Los resultados obtenidos en nuestro estudio revelan que los animales de nueve meses de edad inyectados con el agonista dopaminérgico muestran una mejoría con respecto al grupo control de la misma edad tan pronto como al segundo día de entrenamiento, es justo en este segundo día de entrenamiento que los animales control de nueve meses muestran la mayor diferencia conductual en cuanto a tiempos de latencia con respecto a los animales jóvenes de cuatro meses. Es decir que la administración intraperitoneal de SKF 38393 revierte hasta cierto punto el déficit cognitivo observado en los animales control.

El efecto del agonista dopaminérgico en la fase de adquisición de la tarea de laberinto acuático podría tener varias explicaciones fisiológicas, entre ellas, es importante mencionar que la dopamina tiene un marcado papel en la regulación de aspectos de la conducta como la motivación y la búsqueda de recompensas además de la señalización de estímulos novedosos. Se ha sugerido que este procesamiento dopaminérgico de estímulos novedosos podría fomentar la exploración de ambientes nuevos (Düzel 2010) lo que a su vez explicaría el por qué la activación dopaminérgica fomentada a través de SKF mejora la ejecución de la tarea durante la fase de entrenamiento en animales de edad avanzada, durante la cual el animal debe explorar su ambiente, identificar claves espaciales y encontrar la plataforma escondida para evitar la fatiga del nado constante.

En animales jóvenes no encontramos ningún efecto del fármaco durante la fase de adquisición, el desempeño de éstos es igual al de los controles.

Efecto del agonista dopaminérgico SKF 38393 sobre la memoria a largo plazo en animales de cuatro y nueve meses de edad.

Los resultados nos muestran que la inyección sistémica de SKF38393, además de mejorar el desempeño durante el entrenamiento, afecta de manera positiva la retención de la memoria a largo plazo en animales de nueve meses de edad, esta mejoría se ve reflejada en la disminución de los tiempos de latencia de los animales así como un número mayor de cruces por el área blanco. Sin embargo, esta mejoría solo se ve reflejada de manera significativa en el entrenamiento prolongado, al menos en el caso de la latencia a la plataforma, en el caso del número de cruces por área blanco los resultados son estadísticamente significativos independientemente del entrenamiento, aunque son mucho más contundentes en el entrenamiento prolongado. A pesar de esto existe una tendencia importante a una reducción de los tiempos de latencia en animales probados por entrenamiento corto por lo que es probable que un incremento en el número de animales probados para entrenamiento corto reduzca el error estándar de la prueba llegando a un umbral de significancia estadística e igualando los resultados del tiempo de latencia con los del número de cruces.

El efecto del agonista dopaminérgico sobre la memoria a largo plazo de los ratones de nueve meses de edad correlaciona de manera importante con resultados de otros grupos de estudio que han descubierto que la dopamina es fundamental para el establecimiento de la fase tardía y dependiente de síntesis proteica de uno de los correlatos fisiológicos más importantes de la memoria, la potenciación a largo plazo.

La potenciación a largo plazo se define como el fortalecimiento de una sinapsis a raíz de patrones recientes de actividad neuronal y facilita la comunicación entre neuronas, se considera que este proceso de plasticidad sináptica subyace la formación de nuevas memorias (Cooke et al. 2006).

En el hipocampo, estructura encargada del procesamiento de la memoria espacial, este proceso está regulado en buena medida por el receptor glutamatérgico NMDA, este receptor es además un canal iónico de calcio, que al ser activado permite la entrada de

este ion al espacio intracelular activándose así la cascada de la proteína cinasa dependiente de calmodulina (CaMKII por sus siglas en inglés), que dispara varios cambios bioquímicos responsables del fortalecimiento de la sinapsis (Lisman et al. 2011).

La potenciación a largo plazo se divide en dos fases dependientes de diferentes factores, la fase temprana se caracteriza por ser transitoria y activada por la entrada de ion calcio a la neurona, en esta fase CaMKII y la proteína cinasa C, también activada por la presencia de calcio, fosforilan a receptores glutamatergicos AMPA, aumentando su actividad, además se encargan de modular la inserción de receptores AMPA adicionales hacia la sinapsis, fortaleciéndola (Lüscher et a. 2012). La segunda fase, denominada tardía, sigue de manera natural a la fase temprana cuando el estímulo que inicio la potenciación es lo suficientemente fuerte. La fase tardía es dependiente de una activación persistente de las proteínas cinasa mencionadas anteriormente, dichas enzimas se encargan de iniciar cascadas de señalización cuyo objetivo es el núcleo celular, facilitando la transcripción génica y la síntesis proteica, por lo que se considera que la fase tardía de la potenciación a largo plazo es dependiente de la síntesis de proteínas. Como resultado de la fase tardía de la potenciación a largo plazo la comunicación entre neuronas se fortalece de manera permanente a raíz de un incremento en el número de dendritas, aumento en la superficie sináptica y mayor sensibilidad post sináptica ante ligandos (Sweatt 1999).

Es justo durante la fase tardía de la potenciación a largo plazo que se ha demostrado un efecto modulador importante de la dopamina, tanto como modulador de la actividad glutamatergica como un elemento de la activación de cascadas de señalización activadoras de la síntesis proteica.

In vitro, utilizando neuronas extraídas del hipocampo de ratas, la fase tardía de la potenciación a largo plazo puede ser bloqueada en presencia de antagonistas dopaminérgicos (Frey et al. 1990), de manera similar infusiones intrahipocampales del antagonista dopaminérgico a receptores D1 y D2, SCH, afectan la consolidación de la memoria a largo plazo en ratas entrenadas en una prueba de memoria declarativa, pero solo cuando el antagonista es presentado después de la adquisición, cuando la facilitación

del trazo de memoria pasa a un estado más permanente (Bethus et al. 2010). De forma opuesta, un entrenamiento dependiente de hipocampo que normalmente sería olvidado rápidamente puede ser reforzado y convertido en una memoria a largo plazo cuando SKF es administrado directamente al área ventral tegmental (Rossato 2009), un área íntimamente ligada al hipocampo en lo que se conoce como el *loop* hipocampo/VTA (por sus siglas en inglés). Se ha propuesto que este *loop* estaría además inervado aferentemente por otras estructuras con actividad dopaminérgica encargadas de respuestas conductuales asociadas a novedad y recompensa señalizando al hipocampo en razón de estas conductas y finalizando en la facilitación de la formación de memoria a largo plazo (Lisman et al. 2011). Coincidentemente el área ventral tegmental ha sido identificada por medio de estudios de imagenología como una de las áreas donde la neurodegeneración ligada a envejecimiento es más clara, particularmente en el caso de neuronas dopaminérgicas (Düzel et al 2010).

Resultados previos de nuestro laboratorio indican además una importante correlación entre la liberación de dopamina con la identificación de un estímulo novedoso, que a su vez suponemos es un componente importante de la memoria pues podría estar relacionado con la relevancia de un estímulo y la prioridad de que la experiencia asociada a este estímulo pase a almacenarse a largo plazo como un trazo de memoria (Guzman-Ramos 2010, 2012). Es posible que una relación similar entre la dopamina y la relevancia de la posición de la plataforma sumergida exista en el laberinto acuático de Morris y que ésta a su vez facilite la formación de la memoria a largo plazo.

En el caso de los animales jóvenes, podemos ver un deterioro en el desempeño de la tarea cuando son tratados con SKF, es muy probable que la dosis utilizada en este estudio sea demasiado alta para ratones de cuatro meses de edad, teniendo un efecto opuesto al observado en ratones viejos. Quizás la sobre estimulación del sistema dopaminérgico en animales jóvenes que aún no presentan un déficit dopaminérgico resulte en un proceso homeostático que reduzca la sensibilidad de las neuronas a este neurotransmisor, dificultando así la formación de nuevas memorias. Este proceso podría ser a nivel de receptores y estar mediado por la endocitosis de receptores dopaminérgicos.

Nuestros resultados coinciden y apoyan la hipótesis de que la dopamina es un factor importante en la formación de memoria a largo plazo, al menos en el caso de la memoria espacial y que la actividad dopaminérgica en el cerebro sano va disminuyendo con la edad, reflejándose en un pobre desempeño en tareas de memoria a largo plazo. Además, coinciden con otros estudios que han demostrado que estos mismos déficits dopaminérgicos pueden ser rescatados farmacológicamente utilizando agonistas dopaminérgicos, incluso cuando estos son inyectados intraperitonealmente, gracias a su capacidad de atravesar la barrera hematoencefálica.

Conclusiones

Uno de los aspectos más interesantes del sistema dopaminérgico es que está involucrado en varias vías de señalización fundamentalmente diferentes como lo son vías motoras nigro estriatales, vías asociadas a recompensa como el núcleo accumbens y vías mesolímbicas relacionadas a memoria declarativa, la integración de estas vías y la modulación de otros sistemas de neurotransmisión como el glutamatérgico probablemente tengan un papel vital en la formación de la memoria espacial, además muchas de estas vías se ven afectadas de manera importante en el declive cognitivo asociado con el envejecimiento.

El presente estudio nos demuestra que en la adquisición y consolidación de una tarea de memoria espacial, el sobre entrenamiento mejora el desempeño de ratones de nueve meses de edad llevándolos a un desempeño comparable al de sus contrapartes jóvenes de cuatro meses de edad durante la fase de adquisición, sin embargo esta mejoría no se ve reflejada en la memoria a largo plazo de los animales, pues al ser probados cinco días después de su último entrenamiento su desempeño conductual no presenta una mejoría. Sin embargo, estos mismos animales pueden mejorar su desempeño tanto en la fase de adquisición como en la memoria a largo plazo cuando se les administra un agonista dopaminérgico intraperitonealmente, por lo que podemos deducir que el sistema dopaminérgico se ve comprometido con el envejecimiento y además tiene una labor importante en la consolidación de la memoria.

Bibliografía

Abel, T. Lattal, M. 2001 Mechanisms of memory acquisition, consolidation and retrieval Current Opinion in Neurobiology, 11:180–187

Agranoff, B. Davis. R. Brink, J. 1966 Chemical studies on memory fixation in goldfish Brain Research, 1 303-309

Amenta, F. Mignini, F. Ricci, A. Sabbatini, M. Tomassoni, D. Tayebati, S. 2001. Age-related changes of dopamine receptors in the rat hippocampus: a light microscope autoradiography study Mechanisms of Ageing and Development Vol. 122, 16, 2071–2083.

Astur, R. Taylor, L. Mamelak, A. Philpott, L. Sutherland R. 2002. Humans with hippocampus damage display severe spatial memory impairments in a virtual Morris water task. Behavioural Brain Research, 132, 77-84.

Bach, M. Barad, M. Son, H. Zhuo, M. Lu, Y. Shih, R. Mansuy, I. Hawkins, R. Kandel, E. 1999, Age-related defects in spatial memory are correlated with defects in the late phase of hippocampal long-term potentiation *in vitro* and are attenuated by drugs that enhance the cAMP signaling pathway Proc Natl Acad Sci U S A. 96(9): 5280–5285.

Bannon, M. Bannon, E. Bannon, K. 2012 Dopamine. The Dopamine In: Encyclopedia of Life Sciences (ELS). John Wiley & Sons

Barnes, C. 1979 Memory deficits associated with senescence: a neurophysiological and behavioral study in the rat. J Comp Physiol Psychol. 93(1):74-104.

Barnes, C. Suster, M. Shen, J. McNaughton, B. 1997. Multistability of cognitive maps in the hippocampus of old rats. Nature 388, 272–275.

Barondes, S. Cohen, H. 1967 Delayed and sustained effect of acetoxycycloheximide on memory in mice Proc N.A.S. Vol, 58

Bergado J., Almaguer W., Rojas Y., Capdevila V., Frey Spa J. 2011 Spatial and emotional memory in aged rats: a behavioral-statistical analysis. Neuroscience 172, 256–269

Berridge, K. Robinson, T. 1998. What is the role of dopamine in reward: hedonic impact, reward learning, or incentive salience? Brain Research Reviews Vol. 28, 3. 309–369

Bethus I., Tse D., Morris R. 2010 Dopamine and Memory: Modulation of the Persistence of Memory for Novel Hippocampal NMDA Receptor-Dependent Paired Associates The Journal of Neuroscience 30 (5) 1610-1618

Bird, M. Burgess, N. 2008 The hippocampus and memory: insights from spatial processing. *Nature Reviews*. Vol. 9, 182-194.

Byrne, J. Robert, J. 2004 *From Molecules to Networks: An introduction to cellular and molecular neuroscience*. Elsevier Academic Press. California.

Cansino, S. 2009. Episodic memory decay along the adult lifespan: A review of behavioral and neurophysiological evidence *International Journal of Psychophysiology* Vol. 71, 1, 64–69

Carrillo-Mora, P. 2010 Sistemas de memoria: reseña histórica, clasificación y conceptos actuales. Primera parte: Historia, taxonomía de la memoria, sistemas de memoria de largo plazo: la memoria semántica, *Salud Mental* 2010;33:85-93.

Chance, P. 2001 *Aprendizaje y conducta Mexico: El manual moderno*.

Civelli, O. Borrelli, E. 2010. The Dopamine Receptors. In: *Encyclopedia of Life Sciences (ELS)*. John Wiley & Sons

Clark, D. White, F. J. 1987, Review: D1 dopamine receptor—the search for a function: A critical evaluation of the D1/D2 dopamine receptor classification and its functional implications. *Synapse*, 1: 347–388.

Collingridge, G. Volianskis, A. Bannister N. France, G. Hanna, L. Mercier, M. Tidball, P. Fang, G. Irvine, M. Costa, B. Monaghan, D. Bortolotto, Z. Molnár, E. Lodge, D. Jane, D. 2013. The NMDA receptor as a target for cognitive enhancement *Neuropharmacology*, Volume 64, 13–26

Cooke S., Bliss T. 2006 Plasticity in the human central nervous system *Brain* 129: 1659-1673

Craik, F. 1994. Memory changes in normal aging. *Current Directions in Psychological Science*, Vol. 3, 5, 155-158.

da Silva, W. Köhler, C. Radiske, A. Cammarota, M. 2012 D1/D5 dopamine receptors modulate spatial memory formation *Neurobiology of Learning and Memory* 97 271–275
de Lima, M. Presti-Torres, M. Dornelles, A. Sicilliani, F. Roesler, R. Garcia, A. Schröder, N. 2011 Modulatory influence of dopamine receptors on consolidation of object recognition memory. *Neurobiology of Learning and Memory* 95 305–310

Deupree DL, Bradley J, Turner DA. 1993 Age-related alterations in potentiation in the CA1 region in F344 rats. *Neurobiol Aging*. 14(3):249-58.

Disterhoft JF, Oh MM. 2006. Pharmacological and molecular enhancement of learning in aging and Alzheimer's disease. *J Physiol Paris*. 99: 180-92.

Domjan, Michael. 1998 *The principles of learning and behavior*. Pacific Grove, Calif: Brooks/Cole Pub.

Dudai ,Y. 2002 *Memory from A to Z: keywords, concepts and beyond*. Oxford, GB. Nueva York: Oxford University Press, 2002.

Dudai, Y. 2004 The neurobiology of consolidations, or, How stable is the engram? *Annu. Rev. Psychol.* 55:51–86

Düzel E., Bunzeck N., Guitart-Masip M., Düzel S. 2010 NOvelty-related Motivation of Anticipation and exploration by Dopamine (NOMAD): Implications for healthy aging *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 34 660–669

Erickson C., Barnes C. 2003 The neurobiology of memory changes in normal aging *Experimental Gerontology* 38 61–69

Feldman, D. 2009 Synaptic mechanisms for plasticity in the neocortex. *Annu Rev Neurosci.* 32:33-55

Ferretti V., Florian C., Costantini V., Roulet P., Rinaldi A., De Leonibus E., Oliverio A., Mele A. 2005 Co-activation of glutamate and dopamine receptors within the nucleus accumbens is required for spatial memory consolidation in mice. *Psychopharmacology* 179(1):108-16

Flexner, J. Flexner, L. Stellar, E. Memory in Mice as Affected by Intracerebral Puromycin *Science* 5 July 1963: Vol. 141 no. 3575 pp. 57-59

Frey, U. Schroeder, H. Matthies, H. 1990 Dopaminergic antagonists prevent long-term maintenance of posttetanic LTP in the CA1 region of rat hippocampal slices. *Brain Res.* 522, 69–75

Gasbarri, A. Sulli, A. Innocenzi, R. Pacitti, C. Brioni, J. 1996 Spatial memory impairment induced by lesion of the mesohippocampal dopaminergic system in the rat *Neuroscience* Vol. 74, 4, 1037–1044

Chapter 2 Granado N, Ortiz O, Suárez LM, Martín ED, Ceña V, Solís JM, Moratalla R. D1 but not D5 dopamine receptors are critical for LTP, spatial learning, and LTP-Induced arc and zif268 expression in the hippocampus. *Cereb Cortex.*; 18(1):1-12

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

Guzmán-Ramos K., Moreno-Castilla P., Castro-Cruz M., McGaugh J., Martínez-Coria H., LaFerla F., Bermúdez-Rattoni F. 2012 Restoration of dopamine release deficits during object recognition memory acquisition attenuates cognitive impairment in a triple transgenic mice model of Alzheimer's disease *Learn. Mem.* 19: 453-460

Hebb, D.O. 1949 *The organization of behavior*, EUA, John Wiley and Sons.

Hersi, A. Rowe, W. Gaudreau, P. Quirion, R. 1995. Dopamine D₁ receptor ligands modulate cognitive performance and hippocampal acetylcholine release in memory-impaired aged rats *Neuroscience* Vol. 69, 4, 1067–1074

Jay, T. 2003 Dopamine: a potential substrate for synaptic plasticity and memory mechanisms *Progress in Neurobiology* 69 375–390

Kaczorowski, C. Disterhoft J. 2009 Memory deficits are associated with impaired ability to modulate neuronal excitability in middle-aged mice *Learn Mem* 16(6): 362–366.

Kandel, E. R. Schwartz J. 1982 *Molecular biology of Learning: Modulation of Transmitter Release*. *Science*, Vol 218, 433-443

Kandel E., Schwartz J., Jessell T. 2000 *Principles of neural science*. New York: McGraw-Hill, Health Professions Division.

Kandel. E. 2002 *The Molecular Biology of Memory Storage: A Dialog Between Genes and Synapses* *Bioscience Reports*, Vol. 21, No. 5

Knowlton, B. Mangels J. Squire, L. R. 1996 A Neostriatal Habit Learning System in Humans *Science*, Vol 273, 1399-1401

Kostrzewa R. 2007 The blood-brain barrier for catecholamines - revisited. *Neurotox Res.* 3-4:261-71.

LaLumiere, R. Nawar, E. McGaugh, J. 2005. Modulation of memory consolidation by the basolateral amygdala or nucleus accumbens shell requires concurrent dopamine receptor activation in both brain regions. *Learn Mem.* 12 296-301.

Lashley, K.S. 1929. *Brain Mechanisms and Intelligence: a Quantitative Study of Injuries to the Brain* Chicago: Chicago University Press

Lechner, H. Squire, L. Byrne, J. 1999 100 Years of Consolidation-- Remembering Müller and Pilzecker *Learn. Mem.* 6 77-87

Lisman, J. Grace, A. duzel, E. 2011 A neoHebbian framework for episodic memory; role of dopamine-dependent late LTP. *Trends in Neurosciences*, Vol. 34, No. 10

Lüscher C, Malenka RC. 2012 NMDA receptor-dependent long-term potentiation and long-term depression (LTP/LTD). *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 1;4(6).

Brunelli M., Castellucci V., Kandel E. 1976 Synaptic facilitation and behavioral sensitization in *Aplysia* possible role of serotonin and cAMP *Science*, 194 1178–1181

McGaugh, J. 2000 Memory--a Century of Consolidation *Science* 287, 248

Milner , B. Corkin, S. Teuber. H. S. 1968 Further analysis of the hippocampal amnesic syndrome: 14-year follow-up study of H.M. *Neuropsychologia*, 1968, Vol. 6, 215-234. Pergamon Press

Milner, B. Squire, L. Kandel, E. 1998 *Cognitive Neuroscience and the Study of Memory.* *Neuron*, Vol. 20, 445–468

Morcom A., Bullmore E., Huppert F., Lennox B., Praseedom A., Linnington H., Fletcher P. 2010 Memory Encoding and Dopamine in the Aging Brain: A Psychopharmacological Neuroimaging Study *Cerebral Cortex* 20:743-757

Morris, R. 2001 Episodic-like memory in animals: psychological criteria, neural mechanisms and the value of episodic-like tasks to investigate animal models of neurodegenerative disease. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 356, 1453^1465

Morris, R. 2008. Morris Water Maze. *Scholarpedia*, 3:6315.

Newman, M. Kaszniak, A. 2000. Spatial Memory and Aging: Performance on a Human Analog of the Morris Water Maze. *Aging, Neuropsychology, and Cognition: A Journal on Normal and Dysfunctional Development* 7, 2.

O'Carroll, C.M. and Morris, R.G. 2004 Heterosynaptic co-activation of glutamatergic and dopaminergic afferents is required to induce persistent long-term potentiation. *Neuropharmacology* 47, 324–332

O'Keefe, J. Dostrovsky, J. 1971. The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely moving rat. *Brain Research*, 34, 171-175.

Olanow, C. Tatton, W. 1999 Etiology And Pathogenesis Of Parkinson's Disease *Annu. Rev. Neurosci.* 22:123–44

Palmer, A. DeKosky, S. 1993 Monoamine neurons in aging and Alzheimer's disease. *J Neural Transm* 91:135-159

Palmiter, R. 2011 Dopamine signaling as a neural correlate of consciousness. *Neuroscience* 198 213-220

Palmiter, R. Dopamine signaling as a neural correlate of consciousness *Neuroscience* 198 (2011) 213–220

Pearce. J.M.S. 2008 Marie-Jean-Pierre Flourens (1794–1867) and Cortical Localization. *Eur Neurol* 2009;61:311–314

Pinsker, H. M., Hening, W. A., Carew, T. J., and Kandel, E. R. 1973 Long-term sensitization of a defensive withdrawal reflex in *Aplysia*. *Science* 182:1039–1042

Pinsker, H., Kupfermann, I., Castellucci, V., and Kandel, E. R. 1970 Habituation and dishabituation of the gill-withdrawal reflex in *Aplysia*. *Science* 167:1740–1742.

Purves, Dale. 2004 *Neuroscience*. Sunderland, Mass: Sinauer Associates, Publishers.

Ramírez-Amaya, V., Balderas, I., Sandoval, J., Escobar, M., Bermúdez-Rattoni, F. 2001 Spatial long-term memory is related to mossy fiber synaptogenesis, *The journal of neuroscience* 21: 7340-7348

Rapp, P. Kansky, M. Roberts, J. 1997. Impaired spatial information processing in aged monkeys with preserved recognition memory. *NeuroReport* 8, 1923–1928.

Raz, N. 2005 Ageing and the Brain In: *Encyclopedia of Life Sciences (ELS)*. John Wiley & Sons.

Roesler, R. Schröder, N. 2011 Cognitive enhancers: Focus on modulatory signaling influencing memory consolidation *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 99 155–163

Vicens, P. Carrasco, M. 2003 Aprendizaje especial y laberinto de agua: metodología y aplicaciones. *Psicotherma*. 15: 539-544.

Rossato, J. Bevilaqua, L. Izquierdo, I. Medina, H. Cammarota, M. 2009 Dopamine Controls Persistence of Long-Term Memory Storage. *Science* 325: 21

Schacter, D.L., Tulving, E. 1994 What are the memory systems of 1994? *Neurol. Assoc. eds.* Cambridge, MA: the MIT Press

Scoville, W.B. Milner, B. 1957 Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.*, 1957, 20, 11.

Semon, R. 1921 *The mneme* George Allen & Unwin Ltd.

Siegel, George J. 2006 *Basic neurochemistry molecular, cellular and medical aspects.* Amsterdam Boston: Elsevier.

Silva, A. Kogan, J. Frankland, P. Kida, S. 1998 Creb And Memory *Annu. Rev. Neurosci.* 21:127–48

Spiers, H. Maguire, E. Burgess, N. 2001 Hippocampal amnesia. *Neurocase*. Vol. 7 357-382

Squire, L. R. 2004 Memory systems of the brain, a brief history and current perspective. *Neurobiology of Learning and Memory* Vol, 82 171–177

Sweatt JD. 1999 Toward a molecular explanation for long-term potentiation. *Learn Mem.* 6(5):399-416.

Tulving, E. Schacter, D. L. 1990 Priming and Human Memory Systems *Science*; 247, 4940

Turker, M. 2009 Ageing In: *Encyclopedia of Life Sciences (ELS)*. John Wiley & Sons.

Castellucci V. Nairn A., Greengard P., Schwartz J., Kandel E. 1982 Inhibitor of adenosine 3',5'-monophosphate-dependent protein kinase blocks presynaptic facilitation in *Aplysia* *J. Neurosci*, 2 1673–1681

Castellucci V., Kandel E., Schwartz J., Wilson F., Nairn A., Greengard P. 1980 Intracellular injection of the catalytic subunit of cyclic AMP-dependent protein kinase simulates facilitation of transmitter release underlying behavioral sensitization in *Aplysia* *Proc. Natl. Acad. Sci.* 77 7492–7496

van Staden, J. van Staden, R. 2012. Flow-injection analysis systems with different detection devices and other related techniques for the in vitro and in vivo determination of dopamine as neurotransmitter. A review *Talanta* 102 34–43

Wadell, S. 2010. Dopamine reveals neural circuit mechanisms of fly memory *Trends in Neurosciences*, Vol. 33, No. 10.

World Bank. 2013. World Development Indicators: Mortality. Internet. 08/09/13

Wozniak, R. H. 1999. *Classics in Psychology, 1855-1914: Historical Essays*. Bristol, UK: Thoemmes Press

Yang HW, Lin YW, Yen CD, Min MY. 2002 Change in bi-directional plasticity at CA1 synapses in hippocampal slices taken from 6-hydroxydopaminetreated rats: the role of endogenous norepinephrine. *Eur. J. Neurosci.* 16, 1117–1128

Yasuno, F. Nishikawa, T. Tokunaga, H. Yoshiyama, K. Nakagawa, Y. Ikejiri, Y. Oku, N. Hashikawa, K. Tanabe, H. Shinozaki, K. Sugita, Y. Nishimura, T. Takeda, M. 2000 The Neural Basis of Perceptual and Conceptual Word Priming – a Pet Study. 36: 59–69