



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**EFFECTO DEL ENVEJECIMIENTO Y LA  
TESTOSTERONA SOBRE LA MEMORIA ESPACIAL  
DE RATAS MACHO**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**B I Ó L O G O**

**P R E S E N T A:**

**HILDA ANGÉLICA MARTÍNEZ BECERRIL**



**DIRECTOR DE TESIS:  
DRA. GRACIELA JIMÉNEZ RUBIO  
CIUDAD DE MÉXICO, 2018**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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

### **1. Datos del alumno**

Martínez  
Becerril  
Hilda Angélica  
56 77 70 16  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Facultad de Ciencias  
Biología  
310173933

### **2. Datos del tutor**

Doctora  
Graciela  
Jiménez  
Rubio

### **3. Datos del sinodal 1**

Doctor  
José Jaime  
Herrera  
Pérez

### **4. Datos del sinodal 2**

Doctor  
Josué Orlando  
Ramírez  
Jarquín

### **5. Datos del sinodal 3**

Doctora  
Yazmín  
Ramiro  
Cortés

### **6. Datos del sinodal 4**

Víctor Manuel  
Magdaleno  
Madrigal

### **7. Datos del trabajo escrito**

Efecto del envejecimiento y la testosterona sobre la memoria espacial de ratas macho  
80 p  
2018

A mi familia con mucho amor y gratitud

A mis papás:

Julio Martínez Malagamba

Hilda Becerril Aguilera

A mis hermanas:

Ivana Martínez Becerril

Yuliana Martínez Becerril

por su cariño y apoyo incondicional durante toda mi vida

## **Agradecimientos**

-A la máxima casa de estudios la **Universidad Nacional Autónoma de México** y al **Laboratorio de Farmacología Conductual**, del **Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz**, bajo la dirección de la **Dra. Lucía Alba Martínez Mota**, por darme la mejor formación académica y por hacerme crecer como profesional y como persona.

-**A mis tutores:** la Dra. Graciela Jiménez Rubio y el Dr. Jaime Herrera Pérez por brindarme la oportunidad y la orientación para ser parte de este proyecto. Por todas sus enseñanzas, su tiempo, su confianza, por escuchar mis ideas y ayudarme a desarrollarlas para obtener el mejor resultado. Gracias por contribuir a formarme como profesional responsable y con valores.

-**A los miembros del Jurado:** la Dra. Yazmín Ramiro Cortés, el Dr. Josué Ramírez Jarquín y el Dr. Víctor Magdaleno Madrigal por sus enseñanzas, comentarios y el tiempo dedicado a la revisión de este trabajo.

-**A todos los miembros del laboratorio de Farmacología Conductual**, a la Dra. Lucy y a Sergio Márquez por todo el conocimiento, apoyo, confianza y amistad, también a mis compañeros del laboratorio por sus enseñanzas y cariño.

# Índice

<b>LISTA DE ABREVIATURAS .....</b>	<b>3</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS.....</b>	<b>4</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS.....</b>	<b>5</b>
<b>RESUMEN .....</b>	<b>6</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>7</b>
1.1 ENVEJECIMIENTO.....	7
• <i>Consideraciones demográficas .....</i>	<i>7</i>
1.2 MEMORIA.....	8
• <i>Clasificación .....</i>	<i>8</i>
1.3 MEMORIA ESPACIAL.....	10
• <i>Plasticidad sináptica y memoria espacial .....</i>	<i>10</i>
1.4 SISTEMA DE MEMORIA CORTICO-HIPOCAMPAL .....	12
• <i>Hipocampo.....</i>	<i>12</i>
• <i>Formación hipocampal .....</i>	<i>14</i>
• <i>Interacción Hipocampo-Corteza Prefrontal .....</i>	<i>16</i>
1.5 ENVEJECIMIENTO Y MEMORIA .....	17
1.6 ENVEJECIMIENTO Y MODELOS ANIMALES DE MEMORIA ESPACIAL.....	18
1.7 ENVEJECIMIENTO ENDÓCRINO.....	20
• <i>Eje Hipotálamo-hipófisis-testicular.....</i>	<i>20</i>
• <i>Cambios en el eje gonadal masculino en el envejecimiento .....</i>	<i>22</i>
1.8 EFECTOS NEUROPROTECTORES DE LA TESTOSTERONA.....	23
1.9 EFECTOS DE LA TESTOSTERONA SOBRE LA MEMORIA .....	25
• <i>Estudios en humanos .....</i>	<i>25</i>
• <i>Estudios en modelos animales.....</i>	<i>26</i>
<b>2. JUSTIFICACIÓN .....</b>	<b>30</b>
<b>3. HIPÓTESIS .....</b>	<b>30</b>
<b>4. OBJETIVOS .....</b>	<b>30</b>
4.1 OBJETIVO GENERAL.....	30
4.2 OBJETIVOS PARTICULARES .....	30
<b>5. METODOLOGÍA .....</b>	<b>31</b>
5.1 ANIMALES.....	31
5.2 ORQUIDECTOMÍA .....	31
5.3 RESTITUCIÓN HORMONAL .....	31
5.4 PRUEBA DE LABERINTO DE BARNES .....	32
5.5 PRUEBA DE CAMPO ABIERTO .....	36
5.6 MUESTRAS DE SANGRE .....	36
5.7 MEDICIÓN DE LOS NIVELES DE TESTOSTERONA EN SUERO .....	36
5.8 DISEÑO EXPERIMENTAL.....	37

5.9 ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	39
<b>6. RESULTADOS.....</b>	<b>40</b>
6.1 EL ENVEJECIMIENTO DISMINUYE EL DESEMPEÑO EN EL LABERINTO DE BARNES .....	40
6.2 PAPEL DE LA TESTOSTERONA EN LA MEMORIA ESPACIAL DE RATAS MACHO JÓVENES Y VIEJAS.....	42
• <i>La castración deteriora el desempeño de los animales jóvenes en la adquisición del laberinto Barnes .....</i>	<i>42</i>
• <i>La castración no afecta el desempeño de los animales viejos en el laberinto de Barnes .....</i>	<i>44</i>
• <i>La restitución con testosterona incrementa el desempeño de las ratas jóvenes castradas en la prueba de memoria a largo plazo en el laberinto de Barnes.....</i>	<i>46</i>
• <i>La restitución con T no afecta el rendimiento de los animales viejos en el laberinto de Barnes .....</i>	<i>48</i>
6.3 ESTRATEGIAS DE BÚSQUDA PARA LA RESOLUCIÓN DEL LABERINTO DE BARNES .....	50
• <i>El envejecimiento disminuye la estrategia espacial dirigida al objetivo .....</i>	<i>50</i>
• <i>En animales jóvenes la castración disminuye y la restitución con testosterona aumenta la preferencia por la estrategia espacial dirigida al objetivo.....</i>	<i>51</i>
• <i>En animales viejos la castración aumenta la búsqueda aleatoria y la restitución con testosterona aumenta la búsqueda serial en el laberinto de Barnes.....</i>	<i>52</i>
6.4 EL ENVEJECIMIENTO DISMINUYE LA ACTIVIDAD LOCOMOTORA .....	55
6.5 EL TRATAMIENTO CON IMPLANTES FUE EFICIENTE PARA RESTITUIR LOS NIVELES DE T EN LOS ANIMALES JÓVENES Y VIEJOS CASTRADOS .	56
<b>7. DISCUSIÓN .....</b>	<b>57</b>
7.1 EL ENVEJECIMIENTO DETERIORA EL APRENDIZAJE Y LA MEMORIA ESPACIAL .....	57
7.2 LA DEFICIENCIA DE TESTOSTERONA EN ANIMALES JÓVENES AFECTA EL APRENDIZAJE PERO NO LA RETENCIÓN DE LA MEMORIA ESPACIAL EN EL LABERINTO DE BARNES .....	59
7.3 LA CASTRACIÓN EN ANIMALES VIEJOS NO AFECTA EL APRENDIZAJE NI LA MEMORIA ESPACIAL EN EL LABERINTO DE BARNES.....	61
7.4 LA RESTITUCIÓN CON TESTOSTERONA EN RATAS JÓVENES CASTRADAS INCREMENTA LA MEMORIA ESPACIAL A LARGO PLAZO EN EL LABERINTO DE BARNES .....	61
7.5 LA RESTITUCIÓN CON TESTOSTERONA EN ANIMALES VIEJOS NO AFECTA EL APRENDIZAJE NI LA MEMORIA ESPACIAL.....	62
7.6 LOS EFECTOS DE LA TESTOSTERONA EN LA MEMORIA ESPACIAL SON DEPENDIENTES DE LA EDAD .....	63
<b>8. CONCLUSIONES .....</b>	<b>65</b>
<b>9. PERSPECTIVAS.....</b>	<b>66</b>
<b>10. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>67</b>
<b>11. ANEXOS.....</b>	<b>76</b>
11.1 PARÁMETROS DE LOCOMOCIÓN.....	76
• <i>El bajo rendimiento de los animales viejos en el laberinto de Barnes se debe al deterioro en la memoria espacial y no a problemas en la locomoción. ....</i>	<i>76</i>
• <i>La castración no afecta la velocidad y la distancia de los animales jóvenes y viejos en el laberinto de Barnes</i>	<i>76</i>
• <i>El tratamiento con testosterona no afecta la velocidad y la distancia de los animales jóvenes y viejos castrados. ....</i>	<i>77</i>
11.2 CURSO TEMPORAL DE LIBERACIÓN DE TESTOSTERONA EN IMPLANTES DE 1 CM .....	80

## **Lista de abreviaturas**

AMPC: monofosfato cíclico de adenosina  
ANOVA MR: análisis de varianza con medidas repetidas  
BDNF: factor neurotrófico derivado del cerebro  
CA: cornu ammonis  
CPF: corteza prefrontal  
DHEA: dehidroepiandrosterona  
DHT: dihidrotestosterona  
E.E.M: error estándar de la media  
E2: estradiol  
ELISA: ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas  
ERK: cinasa regulada por señales extracelulares  
FSH: hormona folículo estimulante  
GABA: ácido gamma-aminobutírico  
GnRH: hormona liberadora de gonadotropinas  
INEGI: Instituto Nacional de Estadística y Geografía  
LH: hormona luteinizante  
LTP: potenciación a largo plazo  
MAPK: vía de proteínas cinasas activadas por mitógenos  
NGF: factor de crecimiento nervioso  
NMDAR: receptor a glutamato de N-metil-D-aspartato  
OMS: Organización Mundial de la Salud  
ORX: orquidectomía-castración  
PKA: protein-cinasa A  
PT: propionato de testosterona  
RA: receptor a andrógenos  
SHGB: globulina fijadora de hormonas sexuales  
SNC: sistema nervioso central  
T: testosterona



## Índice de figuras

	Pág.
Figura 1. Clasificación de la memoria	9
Figura.2. Conectividad hipocampal en el SNC	13
Figura 3. Células espaciales de la formación hipocampal	15
Figura 4. Conectividad cortical y comunicación en la formación hipocampal	17
Figura 5. Tipos de laberinto	19
Figura 6. Eje Hipotálamo-hipófisis-testicular	21
Figura 7. Eje gonadal masculino en el envejecimiento	23
Figura 8. Dibujo representativo del laberinto de Barnes	33
Figura 9. Definición del área objetivo en el Laberinto de Barnes	35
Figura 10. Representación de las estrategias de búsqueda	35
Figura 11. Diagrama de los grupos experimentales	38
Figura 12. Diseño experimental	38
Figura 13. Efecto del envejecimiento en la memoria espacial en el laberinto de Barnes	41
Figura 14. Efecto de la castración en ratas jóvenes en el laberinto de Barnes	43
Figura 15. Efecto de la castración en ratas viejas en el laberinto de Barnes	45
Figura 16. Efecto de la restitución con testosterona en ratas jóvenes en el laberinto de Barnes	47
Figura 17. Efecto de la restitución con testosterona en ratas viejas en el laberinto de Barnes	49
Figura 18. Estrategias de búsqueda en el laberinto de Barnes	54
Figura 19. Actividad locomotora en la prueba de campo abierto	55
Figura 20. Medición de los niveles de testosterona	56
Figura 21. Liberación de testosterona del implante de 1cm en ratas viejas	80
Figura 22. Liberación de testosterona del implante de 1 cm en jóvenes castrados	80

## Índice de tablas

	Pág.
Tabla 1. Estudios en roedores sobre el efecto de la testosterona	27
Tabla 2. Parámetros de la velocidad y la distancia	78

Los resultados generados en esta tesis fueron parcialmente presentados en:

**XXXII Reunión Anual de Investigación, Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz.** Octubre de 2017. CDMX, México. Efecto del envejecimiento y la testosterona sobre la memoria espacial de ratas macho.

## Resumen

Con el envejecimiento la memoria espacial del hombre se deteriora gradualmente, esto ocurre de forma paralela a una disminución en los niveles de testosterona (T), sugiriendo una asociación entre ambos efectos. Los estudios que abordan esta relación generan resultados contradictorios en humanos y modelos animales; estas controversias pueden explicarse por diferencias en el método de restitución hormonal, la dosis y, en el caso de modelos animales de memoria espacial, por la inclusión de estresores que pueden interferir con los resultados, sobre todo en sujetos viejos. El laberinto de Barnes, es una prueba conductual que evalúa la memoria espacial sin demandar gran esfuerzo físico o privación de comida para su resolución, y toma como ventaja la tendencia de los roedores para evitar espacios abiertos e iluminados. El uso de esta prueba permitirá determinar de manera más contundente si existe una relación entre la memoria espacial, el envejecimiento y la T. **Métodos:** Se usaron ratas macho jóvenes y viejas: a) intactas, b) castradas y c) castradas + implante de T. La evaluación de la memoria espacial en el laberinto de Barnes se hizo en dos fases: adquisición y retención (a corto y largo plazo) de la información espacial. En ambos periodos se registró el tiempo para encontrar la cámara de escape (latencia), la búsqueda en el área objetivo, la frecuencia de búsqueda, así como la estrategia que utilizaron los animales para encontrar la cámara de escape (aleatoria, serial o dirigida al objetivo). **Resultados:** En comparación con animales jóvenes, los machos viejos mostraron mayor latencia y frecuencia de búsqueda para encontrar la cámara de escape, además buscaron menos en el área objetivo; en relación a la estrategia de búsqueda los animales viejos usaron mayoritariamente una búsqueda serial mientras que una proporción importante de animales jóvenes usaron la búsqueda dirigida al objetivo en ambas fases de la prueba. Por su parte, la comparación entre animales jóvenes intactos y castrados indicó que las ratas castradas no modificaron la búsqueda en el área objetivo y tampoco la frecuencia de búsqueda conforme avanzaron los ensayos de la fase de adquisición, estos animales también mostraron una mayor preferencia por la búsqueda serial. En animales viejos, la castración ocasionó que una proporción considerable de animales mantuviera una búsqueda aleatoria, en contraste, las ratas viejas intactas mostraron un rápido reemplazo de la búsqueda aleatoria por la estrategia de búsqueda serial. En los animales jóvenes castrados, la restitución con T facilitó la retención de la memoria espacial a largo plazo indicada por un aumento en la búsqueda en el área objetivo y de la estrategia de búsqueda dirigida al objetivo. En contraste, el tratamiento con T en los animales viejos castrados sólo ocasionó una disminución en la búsqueda aleatoria y favoreció la búsqueda serial en la fase de adquisición. **Conclusiones:** Los resultados confirman el deterioro en la memoria espacial dependiente del envejecimiento. La castración afectó la memoria espacial en animales jóvenes y la generación de estrategias de búsqueda en animales viejos durante la adquisición del laberinto de Barnes. Por su parte, el efecto de la T en la memoria espacial es dependiente de la edad. Estos resultados también sugieren la utilidad terapéutica de este andrógeno para problemas cognitivos asociados con el hipogonadismo en sujetos jóvenes, previo al declive hormonal y al deterioro en la memoria observado en el envejecimiento.

# 1. Introducción

## 1.1 Envejecimiento

El envejecimiento humano es un proceso biológico que se caracteriza por el declive progresivo de las funciones fisiológicas que deriva en un aumento de la vulnerabilidad de las personas a padecer enfermedades y morir a causa de ellas. De manera general, disminuye la síntesis de proteínas, función inmune, densidad ósea, masa y fuerza muscular, comprometiendo las funciones metabólicas, reproductivas y cognitivas de las personas (Lamberts, van den Beld y van der Lely, 1997).

El proceso de envejecimiento y sus alteraciones varían entre individuos. Por un lado se encuentra el envejecimiento saludable en el cual las personas adecuan o fortalecen un estilo de vida que les permite tener bienestar, salud y calidad de vida (Mendoza-Núñez, Martínez-Maldonado y Correa-Muñoz, 2009). Su contraparte, el envejecimiento patológico, se caracteriza por el aumento en la incidencia de enfermedades. Es probable que el envejecimiento forme parte de un continuo entre la neurodegeneración y la enfermedad, donde los factores estocásticos proporcionados por la genética y el ambiente determinan la variabilidad en la expresión del envejecimiento y el tipo de enfermedades neurodegenerativas (Wyss-Coray, 2016).

De manera general, el envejecimiento se considera un factor de riesgo primario para desarrollar patologías como cáncer, diabetes, desórdenes cardiovasculares y enfermedades neurodegenerativas que afectan la calidad de vida y aumentan la dependencia de los adultos mayores (López-Otín, Blasco, Partridge, Serrano y Kroemer, 2013).

- **Consideraciones demográficas**

En décadas recientes, el estudio del envejecimiento se ha expandido rápidamente en profundidad y amplitud, esto es motivado por el extraordinario aumento en la esperanza de vida humana a nivel mundial que ha provocado un incremento en el porcentaje de la población de la tercera edad.

Actualmente, la población mundial envejecida aumenta a pasos acelerados provocando que la proporción de adultos mayores de 60 años sea cada vez más significativa y, de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS 2015), entre el año 2015 al 2050 se espera que la población mundial en esa franja de edad llegue a los 2000 millones de personas, lo que significa que la proporción de adultos mayores de 60 años en todo el mundo se duplicará, pasando del 11% al 22%.

A nivel mundial, la esperanza de vida es de 70 años o más, en México actualmente es de 75 años (INEGI, 2016) y se estima que para el año 2050 el promedio de años de vida esperados sea de 82 para hombres y 85.5 para mujeres (Rodríguez García y Lazcano

Botello, 2015). Esto implica que nuestro país está en una fase avanzada de transición demográfica hacia una población de adultos mayores (OMS, 2015).

En este contexto, más del 20% de las personas que llegan y sobrepasan los 60 años sufren de algún trastorno mental o neural y el 6.6% de la discapacidad en este grupo etario se le atribuye a trastornos mentales y del sistema nervioso, siendo la demencia y la depresión las enfermedades neuropsiquiátricas más comunes (OMS, 2015), lo cual genera no sólo un problema de salud pública, sino también dependencia y pérdida de la calidad de vida en los adultos mayores.

## **1.2 Memoria**

La memoria es el proceso cognitivo encargado de adquirir, codificar, almacenar, consolidar y subsecuentemente recuperar información. De forma general, la adquisición consiste en el aprendizaje de información mediante cambios en la conducta de un organismo como resultado de la experiencia. Esta información aprendida se codifica o procesa para su almacenamiento a corto plazo y, a través del proceso de consolidación, la información se transforma gradualmente a memorias de largo plazo que pueden recuperarse (Carrillo-Mora, Giordano y Santamaría, 2009).

La memoria se puede clasificar según la temporalidad y el tipo de información que se almacena.

- **Clasificación**

Existen diferentes categorías temporales para el almacenamiento de la información (Atkinson y Shiffrin, 1968), éstas están esquematizadas en la figura 1. La memoria sensorial permite retener información sensorial (visual, verbal, táctil, etc.) durante fracciones de segundos. Por su parte, la memoria a corto plazo (de trabajo) posibilita el mantenimiento de la información por breves periodos de tiempo (segundos a minutos), mientras que la memoria a largo plazo almacena la información por periodos prolongados (días, semanas), incluso de forma permanente (Atkinson y Shiffrin, 1968; Glisky, 2007).

La memoria de trabajo se refiere al procesamiento, almacenamiento y actualización temporal de la información activa a corto plazo, durante segundos o minutos una vez lograda una tarea cognitiva en particular (Baddeley y Hitch, 1974). Se considera por la literatura un constructo cognitivo multidimensional encargado de planear y ejecutar múltiples tareas pertenecientes a un orden superior en la cognición, entre ellas la atención, la inhibición de la información, la flexibilidad cognitiva y la toma de decisiones (Baddeley, 2006). El mantenimiento de la información en este tipo de memoria depende de la actividad de la corteza prefrontal (CPF) (Funahashi, 2006).

La memoria de trabajo consiste en un sistema ejecutivo central que regula dos sistemas de almacenamiento subsidiarios: el bucle fonológico (información sobre sonidos y

lenguaje) y el sistema viso-espacial (datos visuales y espaciales). Un componente adicional de la memoria de trabajo es el buffer episódico, definido como un espacio de trabajo global que conjunta la información para formar escenas y episodios (Baddeley, 2000; Repovš y Baddeley, 2006).

Por su parte, la memoria de largo plazo se divide en dos sistemas cualitativos para el almacenamiento de la información (Fig.1); la memoria no declarativa (implícita o procedimental) que abarca información sobre habilidades motoras y perceptuales, adquiridas a nivel inconsciente, y la memoria declarativa (o explícita) que se refiere a la información que se adquiere de forma consciente, sobre hechos, eventos y sujetos, en un tiempo y una situación determinada; ésta información se transmite o expresa a través del lenguaje (Squire, 1992).

Por el tipo de información que almacena, la memoria declarativa se divide en la memoria semántica y la memoria episódica. La primera involucra información sobre hechos y conocimientos generales acerca del mundo, palabras y conceptos, se relaciona con la actividad de la corteza prefrontal y lóbulo temporal (Martin y Chao; 2001). Por su parte, la memoria episódica comprende la información sobre eventos pasados y experiencias personales que ocurren en un lugar y tiempo en particular, incluye además la información autobiográfica, permite dar continuidad a nuestras acciones y se relaciona con la codificación de información espacial (Tulving, 2002; Leutgeb, 2005; Dere, Kartteke, Huston y de Souza-Silva, 2006).

La información episódica se procesa y consolida en el hipocampo, posteriormente se almacena en la neocorteza (Burgess, Maguire y O'Keefe, 2002; Squire, Stark, y Clark, 2004).

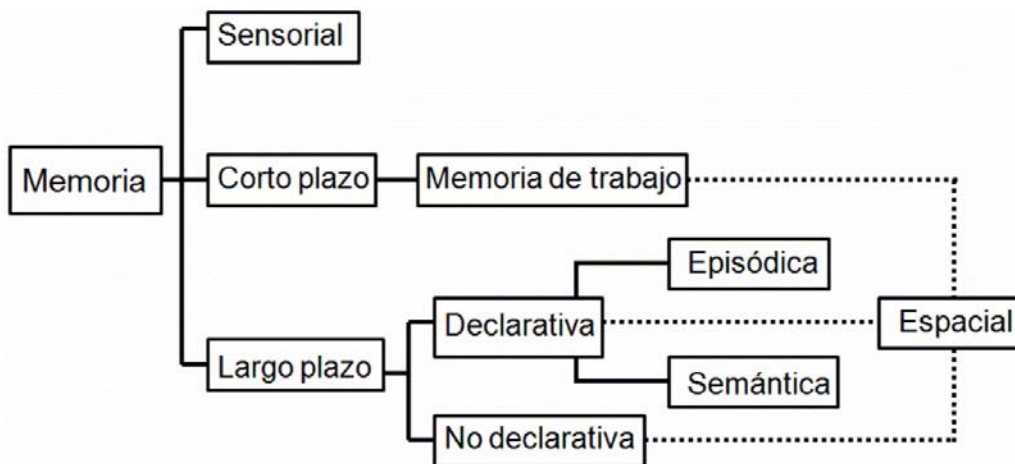


Figura 1. Clasificación de la memoria. Línea continua: clasificación temporal de la memoria. Línea punteada; tipos de memoria que conforman a la memoria espacial.

### **1.3 Memoria espacial**

Existen memorias que no pueden ser estrictamente asignadas a una clasificación debido a que engloban características de varios tipos de memorias, es el caso de la memoria espacial (Fig. 1), la cual además de almacenar información en un marco espacio-temporal, involucra aspectos de la memoria declarativa (memoria semántica y episódica), no declarativa (procedimental), así como el almacenamiento de la información en las categorías temporales de corto y largo plazo (Carrillo-Mora et al., 2009).

La memoria espacial hace referencia a la habilidad del organismo para saber o tener una representación de dónde está y navegar eficientemente en su ambiente a partir de información espacial sobre colores, características, objetos, relaciones entre claves o rutas específicas en el ambiente (Barnes, 1988), que en conjunto, se le denomina mapa cognitivo (Schiller et al., 2015).

Entre las regiones cerebrales relevantes para la memoria espacial está el hipocampo y las áreas corticales adyacentes a éste (Squire et al., 2004). El papel de estas estructuras en la memoria espacial surgió a partir de trabajos en pacientes (Astur et al., 2002; Parslow et al., 2005) y en modelos animales con lesiones en el hipocampo (Barnes, 1988; Olton y Papas, 1979), también de estudios que describen la actividad espacial de las neuronas en el hipocampo durante tareas que requieren el uso de esta memoria (O'Keefe y Dostrovsky, 1971; O'Keefe y Nadel 1978).

La memoria espacial comprende, además, el procesamiento de la información activa a corto plazo en la memoria de trabajo, facilitando el almacenamiento temporal de una cantidad limitada de información espacial y la mantiene disponible para su acceso inmediato. Alternativamente, esta información puede ser utilizada por otros procesos cognitivos, como se describió anteriormente (Carrillo-Mora et al., 2009).

Por otro lado, la memoria espacial involucra el almacenamiento de ubicaciones espaciales a largo plazo, proceso denominado memoria de referencia espacial, ésta exhibe mayor capacidad, duración y resistencia respecto a la memoria de trabajo. La memoria de referencia además, involucra información estable que se repite con el entrenamiento (Olton y Papas, 1979).

- **Plasticidad sináptica y memoria espacial**

El hipocampo modula la memoria espacial y sus componentes temporales a través de mecanismos de plasticidad entre sus conexiones neuronales, estos eventos requieren de la síntesis de nuevas proteínas, la disponibilidad de estas conduce a interacciones cooperativas y competitivas entre sinapsis que desencadenan cambios rápidos y persistentes en la fuerza sináptica, ya sea incrementando o disminuyendo (Ramiro-Cortes, Hobbiss e Israely, 2013). A estos procesos se les conoce como potenciación o depresión a largo plazo, respectivamente. Se ha establecido que el fortalecimiento

sináptico es el principal mecanismo de plasticidad que subyace al aprendizaje y al almacenamiento de memorias. Este proceso a su vez es regulado por diferentes factores, los principales se describirán a continuación:

a) *Potenciación a largo plazo (LTP)*: Se define como un aumento o fortalecimiento persistente en la eficacia y la transmisión sináptica, generalmente es inducido por la activación apropiada de las mismas sinapsis. El LTP puede ocurrir por la actividad de las células espaciales en el hipocampo, los disparos selectivos en los potenciales de acción que realizan estas células cuando un animal está en una región espacial específica (campo de lugar), estimulan la síntesis y liberación del neurotransmisor glutamato que se une a los receptores de N-metil-D-aspartato (NMDAR) y, a través de diferentes vías de señalización, intensifica la transmisión sináptica excitadora facilitando el almacenamiento de la información espacial y la formación de mapas cognitivos en el hipocampo (Shapiro, 2001). Al bloquear con antagonistas los NMDAR, disminuye la respuesta a la potenciación sináptica que evita el establecimiento de los campos de lugar y la representación espacial en el hipocampo. Estas alteraciones repercuten directamente en el rendimiento de roedores en tareas de memoria espacial (Shapiro, 2001; Driscoll y Sutherland, 2005).

b) *Neurogénesis adulta*: la generación de nuevas neuronas durante la etapa adulta ocurre continuamente en la zona subgranular del giro dentado en el hipocampo. Las nuevas neuronas se diferencian en neuronas granulares que forman nuevas conexiones neuronales e incrementan la plasticidad estructural y sináptica en el hipocampo (Gu, Janoschka y Ge, 2012; Kempermann, Song y Gage, 2015). De esta manera, la neurogénesis adulta también está implicada en la formación y el mantenimiento de la memoria espacial (Snyder, Hong, McDonald y Wojtowicz, 2004; Lieberwith, Pan, Liu, Zhang y Wang, 2016).

c) *Factores neurotróficos*: El factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF, por sus siglas en inglés *Brain Derived Neurotrophic Factor*) regula la supervivencia, el mantenimiento y el crecimiento neuronal en áreas como el hipocampo y la corteza, ahí, promueve la síntesis de proteínas y la fosforilación de los NMDAR que inducen el LTP, permitiendo la formación y la retención de la memoria espacial (Mizuno, Yamada, Olariu, Nawa y Nabeshima, 2000). Por su parte, el factor de crecimiento nervioso (NGF, por sus siglas en inglés *Nerve Growth Factor*) influye en la fisiología del hipocampo a través de la regulación en la neurotransmisión colinérgica que favorece la inducción de LTP, en relación a esto, se ha reportado que la presencia NGF en el hipocampo es necesaria para la consolidación de la memoria espacial (Conner et al., 2009).

d) *Hormonas gonadales-testosterona*: La testosterona a través de mecanismos de acción en el sistema nervioso central (SNC) participa en la regulación de la estructura y función hipocampal. Entre sus principales efectos estimula la plasticidad sináptica por LTP (MacLusky, Hajszan, Prange-Kiel y Leranth, 2006), incrementa la neurogénesis en el giro



dentado (Spritzer y Galea, 2007; Hamson et al., 2013), mantiene la expresión de BDNF (Pluchino et al., 2013), y participa en la regulación de los sistemas de neurotransmisión implicados en el aprendizaje y la memoria espacial (Zheng, 2009).

d) *Hormonas adrenales-dehidroepiandrosterona*: es el principal andrógeno adrenal y similar a la testosterona, es considerado un esteroide neuroactivo por ejercer múltiples efectos en el SNC, entre ellos, induce cambios neuroplásticos en el cerebro que aumentan la proliferación y sobrevivencia de neuronas en el hipocampo de ratas de más de 13 meses (Herrera-Pérez et al., 2017), esto abre la posibilidad de que el tratamiento con esta hormona favorezca la memoria espacial en animales viejos.

Recapitulando, las memorias declarativas y la memoria espacial son dependientes de la actividad del hipocampo y lóbulo temporal medial, la memoria de trabajo además, recluta a la CPF, y el almacenamiento de la información a largo plazo ocurre en la neocorteza. Cada una de estas estructuras cerebrales presenta contribuciones únicas en los sistemas de memoria (Eichenbaum, 2000).

#### **1.4 Sistema de memoria cortico-hipocampal**

El sistema de memoria cortico-hipocampal tiene tres principales componentes: a) el hipocampo, b) la formación hipocampal y c) áreas corticales (corteza prefrontal). La interconexión entre estas estructuras es fundamental para funciones cognitivas básicas como la formación de memorias y la capacidad de procesamiento de información espacial.

- **Hipocampo**

La información en el ambiente que nos rodea es percibida por los diversos órganos sensoriales (la lengua, la piel, la nariz, los ojos, el oído, etc.), llega a diversas áreas de la corteza y a través de las eferencias en la corteza perirrinal y entorrinal, la información entra al hipocampo (Fig. 2) (Sweatt, 2010).

El hipocampo se localiza en el lóbulo temporal medial del cerebro, anatómicamente se divide en las áreas *Cornu Ammonis* compuestas por neuronas piramidales (CA1-CA4) y el giro dentado conformado por neuronas granulares, estas áreas se comunican entre sí a través de un circuito unidireccional, principalmente glutamatérgico (Sweatt, 2010).

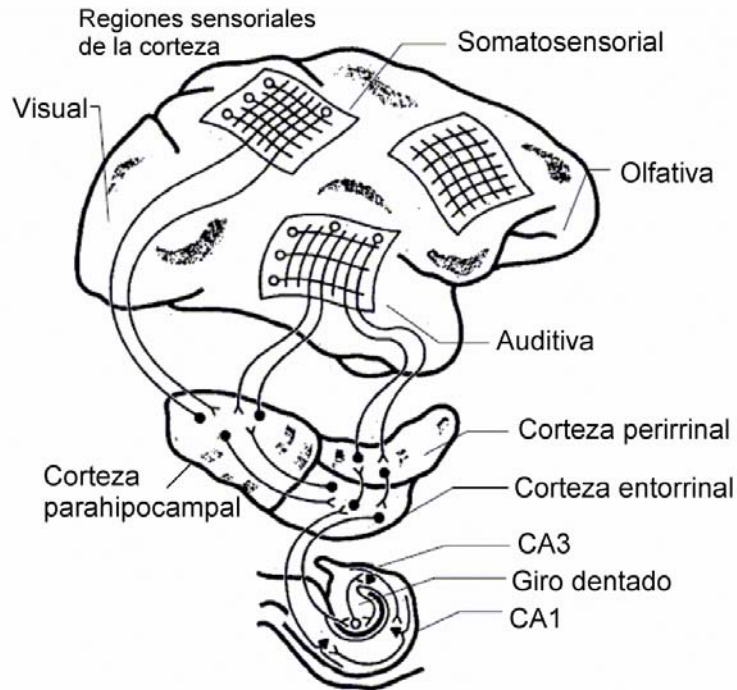


Figura.2. Conectividad hipocampal en el SNC. Imagen modificada (Squire y Zola-Morgan, 1991).

Esta estructura recibe aferencias de diversos sistemas de neurotransmisión, entre ellos del sistema colinérgico, dopaminérgico, serotoninérgico y noradrenérgico. También hay interneuronas GABAérgicas y de péptidos neuromoduladores como BDNF y NGF.

Todos estos componentes participan en la regulación de la función hipocampal, por ejemplo; GABA (ácido gamma-aminobutírico), acetilcolina, norepinefrina y serotonina modulan la sincronización de los potenciales de acción dentro del hipocampo, esta actividad se relaciona con la formación de memorias y el procesamiento cognitivo (Sweatt, 2004). El BDNF y el NGF ejercen efectos en la función sináptica del hipocampo adulto (Conner et al., 2009; Leal, Afonso, Salazar y Duarte, 2015), mientras que la función de los NMDAR es fundamental para los procesos de plasticidad sináptica a largo plazo, necesarios para la propia función del hipocampo y el procesamiento cognitivo (Sweatt, 2010).

Además, el giro dentado mantiene la producción de nuevas neuronas y glía a través de los años mediante la neurogénesis, este proceso involucra la producción, proliferación y supervivencia neuronal, para la posterior formación de redes neuronales, contribuyendo a la estimulación del aprendizaje y funciones mnemónicas del hipocampo, entre ellas la memoria declarativa, la memoria espacial y la memoria contextual (Schmidt-Hieber, Jonas y Bischofberger, 2004; Kaptan y Üzüm, 2016).

Entre las principales funciones del hipocampo está el procesamiento de la información proveniente de la corteza (Preston y Eichenbaum, 2013), además, es una estructura

intermediaria en la consolidación de memorias a corto plazo previo a que esta información se transfiera a regiones corticales para su almacenamiento permanente (Squire, Genzel, Wixted y Morris, 2015).

Más importante aún, el hipocampo es una estructura crítica para las memorias declarativas (Eichenbaum, 2004) y la memoria espacial, en ésta última el hipocampo permite la formación y el recuerdo de mapas cognitivos (Wagatsuma y Yamaguchi, 2007). Esta estructura lleva a cabo la representación espacial a través de la interacción con otras estructuras adyacentes, lo que se describirá en el siguiente apartado.

- **Formación hipocampal**

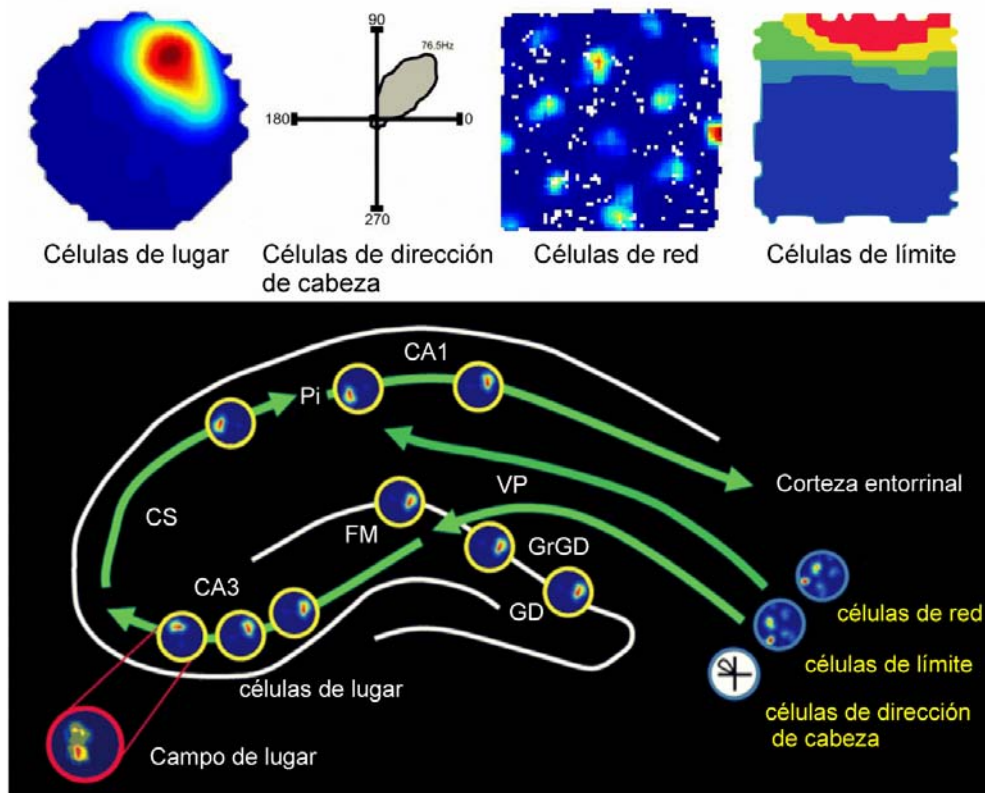
La formación hipocampal está compuesta por el hipocampo, la corteza entorrinal y el complejo subicular (subículo, presubículo y parasubículo) (Schultz y Engelhardt, 2014).

La interacción entre el hipocampo y estas regiones adyacentes es fundamental para la formación de mapas cognitivos (Hartley, Lever, Burgess y O'Keefe, 2013). En línea con esto, existen reportes en modelos animales que han encontrado que la representación espacial ocurre por la actividad específica de ciertas células en la formación hipocampal, las cuales se han clasificado de la siguiente manera (Fig.3) (Grieves y Jeffery, 2017):

- **Células de lugar** (*place cells*): Son las principales células espaciales en el hipocampo. Cada célula de lugar presenta un aumento en su tasa de disparo de potencial de acción cuando un animal se encuentra en una región espacial denominada "campo de lugar". A nivel poblacional, estas neuronas representan el ambiente completo que rodea al animal y una vez que se forma el mapa cognitivo, permanece estable a través de los días e incluso semanas. La actividad de estas células depende de la información visual y de la ubicación de un campo de lugar en relación a claves espaciales. El descubrimiento de estas células revela la formación de representaciones cognitivas en el cerebro, es decir, la base para la navegación y la memoria espacial (Grieves y Jeffery, 2017).
- **Células de dirección de cabeza** (*head direction cells*): Estas células predominan en el presubículo y la corteza entorrinal. Se caracterizan por realizar disparos rápidos en los potenciales de acción que se producen cuando la cabeza del animal se dirige a una dirección particular en el plano horizontal con relación a claves espaciales. Esta información direccional es fundamental para la actividad de las células de lugar. Cuando se presentan alteraciones en la actividad de las células de dirección de cabeza, disminuye la capacidad de orientación espacial por los campos de lugar (Grieves y Jeffery, 2017).
- **Células de red** (*grid cells*): Predominan en la corteza entorrinal medial y en menor cantidad en el complejo subicular. Las células de red presentan disparos de potenciales de acción en múltiples ubicaciones de un entorno espacial que forman

una red o rejilla, la cual se ha propuesto que integra la información espacial y posteriormente lleva cabo la representación del entorno. A diferencia de las otras células espaciales, la actividad en las células de red no parece depender de claves espaciales, ya que en la oscuridad el patrón de red permanece inalterable, evitando la desorientación del animal (Grieves y Jeffery, 2017).

- **Células de borde** (*border cells*): Se localizan en el complejo subicular y la corteza entorrinal. La actividad de estas células está determinada por la geometría y los límites del ambiente basándose en el movimiento del animal, es decir, las células de borde responden cuando un animal se encuentra en el límite con otro entorno, así como a las superficies verticales y descensos. La existencia de estas células sugiere que la geometría ambiental es un recurso importante de la información sensorial externa para el mapeo cognitivo en el hipocampo (Grieves y Jeffery, 2017).



*Figura 3.* Células espaciales de la formación hipocámpal. Arriba: Representación de la actividad eléctrica en las células espaciales (Grieves y Jeffery, 2016). Abajo: Representación anatómica de las células espaciales en el circuito hipocampo-corteza entorrinal. A través de la vía perforante (VP) la información espacial en las células de red, de límite y de dirección de cabeza ubicadas en la corteza entorrinal, es transportada hacia el giro dentado (GD) en el hipocampo. La información llega a neuronas granulares del GD (GrGD) y por la vía de fibras musgosas (FM) se dirige al área CA3. Después, por la vía de colateral de Schaffer (CS) la información llega a las neuronas piramidales (Pi) de CA1 y sale de la formación hipocámpal hacia la corteza entorrinal. Imagen modificada de (Barak, Feldman y Okun, 2014).

Es así como la actividad e interacción entre las células espaciales de la formación hipocampal forman mapas cognitivos. Por otra parte, para que las memorias espaciales estén disponibles a largo plazo, se requiere de la actividad conjunta entre la formación hipocampal y la CPF.

La CPF controla la entrada y salida de la información del hipocampo, también participa en la consolidación y el recuerdo de memorias a largo plazo (Euston, Gruber y McNaughton, 2012), además, modula funciones cognitivas de alto orden como la memoria de trabajo, atención, función ejecutiva y la toma de decisiones (Miller y Cohen, 2001). La actividad del circuito hipocampo-CPF permite la consolidación y el recuerdo de la información espacial (Lavenex y Amaral, 2000), lo cual se abordará en el siguiente apartado.

- **Interacción Hipocampo-Corteza Prefrontal**

La CPF y el hipocampo interactúan funcionalmente a través del circuito cortico-hipocampal (Basu y Siegelbaum, 2015). Esta comunicación se da a partir de las áreas corticales: parietal, prefrontal y temporal, que envían la información sensorial hacia las cortezas perirrinal y parahipocampal, a su vez, las aferencias (vías de entrada) de estas estructuras proyectan hacia la corteza entorrinal para que la información ingrese a la formación hipocampal (Schultz y Engelhardt, 2014).

Dentro del hipocampo la integración y el procesamiento de la información ocurre por una vía unidireccional: las principales aferencias provenientes de la corteza entorrinal llegan a los axones de las neuronas granulares en el giro dentado (vía perforante) que proyectan hacia las neuronas piramidales de CA3 y éstas a su vez, envían aferencias hacia el área CA1 (colaterales de Schaffer). Las neuronas piramidales de CA1 representan las eferencias o vías de salida de la información que se procesa en la formación hipocampal, estas en su mayoría proyectan hacia el complejo subicular y luego a la corteza entorrinal, mediante conexiones neuronales recíprocas entre todas estas estructuras la información procesada se almacena en las áreas corticales (Fig. 4).

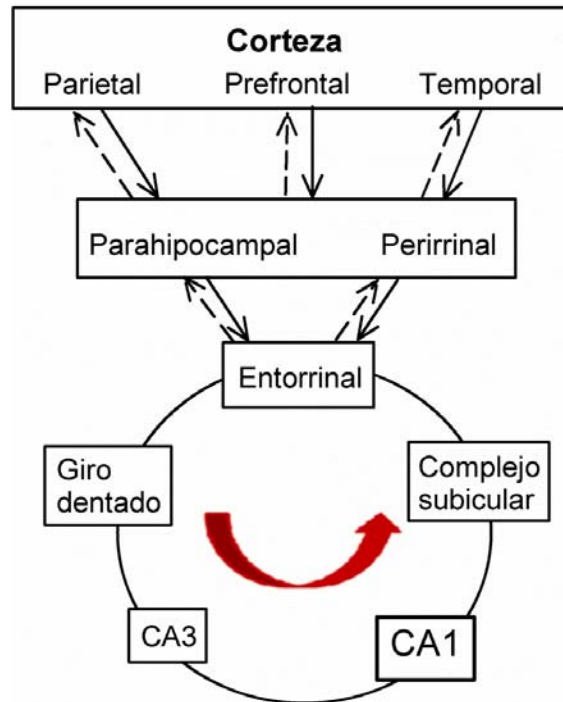


Figura 4. Patrón de la conectividad cortical y la comunicación intrínseca en la formación hipocampal. Se presenta un flujo recíproco de la información que converge en el giro parahipocampal y la corteza perirrinal sobre la corteza entorrinal. El circuito intrínseco en el hipocampo es en gran parte unidireccional. Imagen modificada (Schultz y Engelhardt, 2014)

Pese a que la actividad del hipocampo disminuye progresivamente en la consolidación y el recuerdo de memorias (Squire et al., 2015), su interacción con la CPF es necesaria para el establecimiento de memorias espaciales a largo plazo (Maviel, 2004). Específicamente, se sugiere que durante la etapa de sueño, la interacción entre ambas estructuras es fundamental para la transferencia de la información a la corteza (Wierzynski, Lubenov, Gu y Siapas, 2009).

### 1.5 Envejecimiento y memoria

El declive más notable y la manifestación más temprana del envejecimiento normal en la cognición es el deterioro en la memoria (Glisky, 2007). Se sabe que a partir de la quinta década de vida los humanos tienen un aprendizaje más lento en tareas que requieren de memorias declarativas, de ellas, la memoria episódica es la más afectada durante la vejez ya que se presentan deficiencias en la codificación, el almacenamiento y la recuperación de la información sobre eventos recientes y específicos (Tromp, Dufour, Lithfous, Pebayle y Després, 2015).

Otros sucesos que ocurren en el envejecimiento son el deterioro en la memoria espacial, el cual se hace evidente por un desempeño ineficiente en tareas que involucran la formación e integración de información espacial (mapa cognitivo) (Barnes, Nadel y Honig,

1980), y el declive en la memoria de trabajo, que repercute en una gran variedad de funciones cognitivas, entre ellas la memoria a largo plazo, el lenguaje, la resolución de problemas y la toma de decisiones (Glisky, 2007). También se pierde la habilidad para integrar la información a un contexto y para ignorar información irrelevante, esto limita los recursos cognitivos y provoca múltiples alteraciones, por ejemplo en la memoria de trabajo (Padgaonkar, Zanto, Bollinger y Gazzaley, 2017).

Todas estas afectaciones se vuelven más evidentes conforme aumenta la demanda en la utilización de estas memorias, como puede ser en tareas que requieren usar la memoria a largo plazo, la memoria espacial y la memoria de trabajo (Park y Festini, 2016).

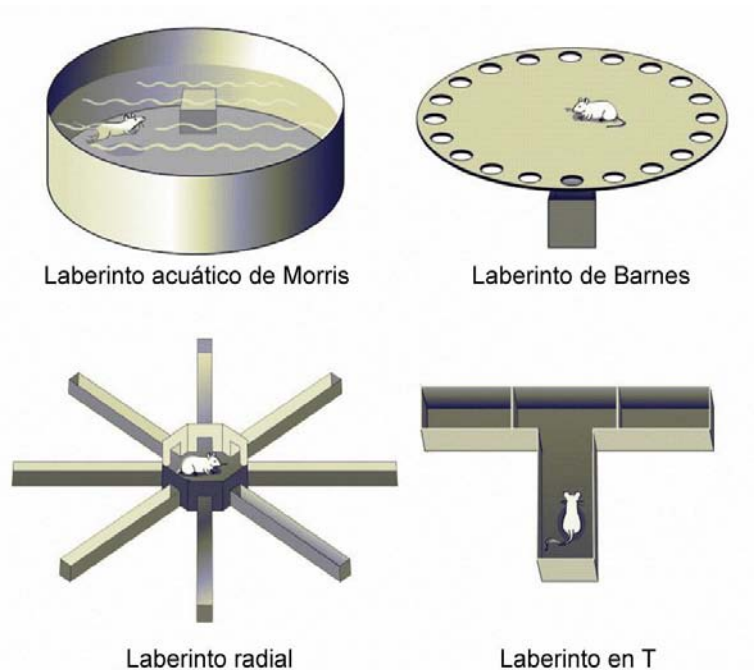
Además, el declive en estos dominios de la memoria coincide con cambios en las estructuras cerebrales que median estos procesos: la CPF y el hipocampo (Burke y Barnes, 2006). En el envejecimiento, estas estructuras presentan atrofia y declive volumétrico, adelgazamiento de la materia gris y blanca, disminución en la producción de los neurotransmisores (y sus receptores), como acetilcolina (Schliebs y Arendt, 2011), glutamato (Segovia, Porras, Del Arco y Mora, 2001) y dopamina (Backman, Lindenberger, Li y Nyberg, 2010), también se presenta pérdida de sinapsis y cambios en la morfología de las espinas dendríticas (Samson y Barnes, 2013). Estas alteraciones en la estructura y funcionalidad de la CPF y el hipocampo, contribuyen a una baja plasticidad cerebral, además, disminuye la neurogénesis hipocampal (Galvan y Jin, 2007), la expresión de BDNF (Korte et al., 1995) y NGF (Fischer, 1994), así como los niveles de testosterona (MacLusky et al., 2006) y su precursor DHEA (Sorwell y Urbanski, 2009).

A pesar del declive en estos dominios cognitivos, hay algunos tipos de memoria que no muestran afectaciones en el envejecimiento, tal es el caso de la memoria no declarativa y la memoria semántica (Nilsson, 2003).

## **1.6 Envejecimiento y modelos animales de memoria espacial**

Los roedores y otras especies animales también adquieren y actualizan información sobre los espacios en los que navegan, para ello, al igual que en los humanos, se necesita de la integridad del hipocampo (Martin y Clark, 2007).

De manera similar a los humanos, el envejecimiento de los roedores afecta su función hipocampal y deteriora su memoria espacial (Barnes, 1979; 1988; Barnes et al., 1980). Se ha reportado que las ratas viejas muestran un bajo rendimiento en tareas cuya solución óptima requiere del procesamiento de información espacial (Fig. 5), como es el caso del laberinto radial de 8 brazos, el laberinto acuático de Morris y el laberinto de Barnes (Barnes, 1979; Wallace, Krauter y Campbell, 1980; Gage, Dunnett y Björklund, 1984), en donde la adquisición de estos paradigmas involucra aprender y recordar a dónde ir en un ambiente definido por múltiples claves espaciales.



*Figura 5.* Tipos de laberinto para la evaluación del aprendizaje y la memoria espacial dependientes del hipocampo. Imagen modificada (Lieberwirth et al., 2016).

En particular, la plataforma circular o laberinto de Barnes fue creado para evaluar en roedores el efecto del envejecimiento en el aprendizaje y la memoria espacial dependientes de la actividad del hipocampo (Barnes, 1979).

El laberinto de Barnes es una prueba de memoria de referencia espacial, en la cual los animales deben recordar, apoyándose con claves espaciales que se localizan alrededor del laberinto, la ubicación de una cámara de escape oscura que se encuentra debajo de uno de los agujeros que contiene la plataforma (Barnes, 1979).

El hallazgo general en esta prueba es que las ratas viejas muestran un aprendizaje más lento y retienen la información espacial del laberinto por periodos cortos de tiempo, lo que se interpreta como el deterioro dependiente del envejecimiento en la memoria espacial (Barnes, 1979; Barnes et al., 1980; McLay, Freeman, Harlan, Kastin y Zadina, 1999). Mediante este modelo también se encontró que los animales viejos pocas veces utilizan estrategias espaciales para resolver la tarea, sugiriendo que las ratas viejas son incapaces de procesar de forma eficiente la información espacial (Barnes, 1988).

Más importante aún, el laberinto de Barnes se basa en la preferencia innata de los roedores por los espacios oscuros y cerrados (Barnes, 1979). A diferencia de otros laberintos que generan gran esfuerzo físico (laberinto acuático de Morris) o privan de alimento a los roedores para su resolución (laberinto radial), el laberinto de Barnes emplea como estímulos aversivos el ruido blanco y la luz brillante, los cuales son estresores mucho menos agresivos.



En línea con esta idea, lo que distingue al laberinto de Barnes del laberinto acuático de Morris es que en este último se somete al roedor a un estrés por nado que además demanda mucho esfuerzo físico, esto aumenta significativamente los niveles de corticosterona en plasma que pueden comprometer el rendimiento de los roedores para encontrar la plataforma (Harrison, Hosseini y McDonald, 2009). Esto es importante porque la inclusión de estresores de alta intensidad puede afectar el rendimiento de los animales en las tareas espaciales, que se puede confundir con un deterioro en la memoria espacial (Kennard y Woodruff-Pak, 2011).

Las pocas desventajas de esta prueba se han reportado principalmente en estudios con ratones, entre ellas se destaca que el aprendizaje puede ser lento o ausente por la falta de intensidad en los estímulos estresantes, lo que conduce a una mayor conducta exploradora que de respuesta de escape. Además, los roedores pueden utilizar estrategias de búsqueda no espaciales y “claves aromáticas” para encontrar la cámara de escape, esto ocurre si el laberinto no es limpiado correctamente (Harrison, Reiserer, Tomarken y McDonald, 2006; Sunyer, Patil, Höger y Luber, 2007).

## **1.7 Envejecimiento endócrino**

Hasta ahora se ha abordado a la deficiencia en la cognición en el envejecimiento como resultado de la pérdida de la integridad y funcionalidad cerebral, sin embargo, estas alteraciones a su vez pueden asociarse con cambios endócrinos que ocurren conforme el sujeto envejece. Dado que se ha descrito que la testosterona (T), a través de mecanismos de acción en el SNC, estimula los procesos de aprendizaje y memoria (Bimonte-Nelson et al., 2010), se sugiere que existe una relación entre la disminución en los niveles de T y el deterioro en la memoria que se presentan en sujetos envejecidos.

- **Eje Hipotálamo-hipófisis-testicular**

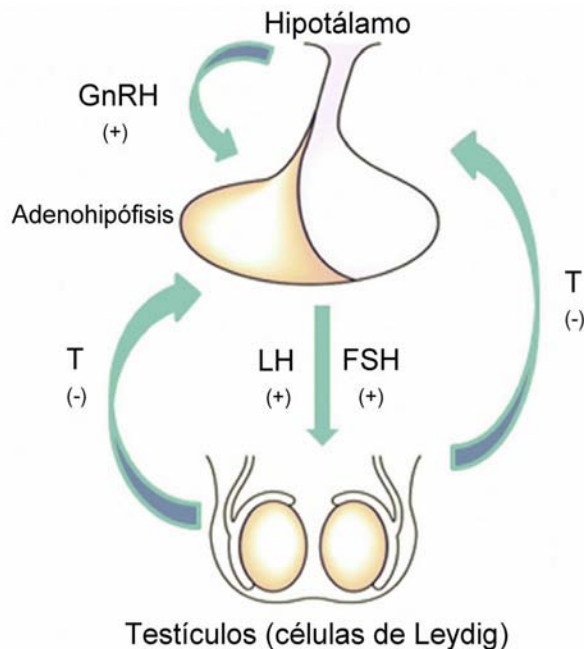
En condiciones normales, el hipotálamo produce la hormona liberadora de gonadotrofinas (GnRH), la cual, a través del sistema de circulación porta-hipofisiaria llega a la adenohipófisis para estimular y regular la síntesis y secreción de dos gonadotrofinas: la hormona folículo estimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH), ambas se liberan a la circulación sistémica (Fig. 6) (Araujo y Wittert, 2011).

La FSH actúa en las células de Sertoli (localizadas en los túbulos seminíferos de los testículos) para llevar a cabo la espermatogénesis, estas células además sintetizan a la inhibina que, como su nombre lo indica, es una proteína que inhibe la producción y liberación de FSH. Mientras tanto, la LH se une a los receptores de membrana en las células de Leydig de los testículos y desencadena la síntesis, producción y liberación de T a la circulación sanguínea (Fig. 6) (Araujo y Wittert, 2011).

La mayor parte de la T circulante en el varón proviene de los testículos, la secreción de esta hormona ocurre de forma circadiana y pulsátil cada 60 a 90 minutos, observando niveles más altos en la mañana y niveles más bajos en la noche (revisión Liverman y Blazer, 2004).

A través de un mecanismo de retroalimentación negativa, la T inhibe la secreción de GnRH y gonadotrofinas, por su acción sobre el hipotálamo y la hipófisis, respectivamente (Araujo y Wittert, 2011).

La T es una hormona esteroide que deriva del colesterol, su síntesis ocurre principalmente en los testículos y en las glándulas adrenales (Chung y Hu, 2002), aunque también se sintetiza en áreas cerebrales como la corteza, el hipocampo, los ganglios basales, el hipotálamo y el cerebelo (Mellon, Griffin y Compagnone, 2001). Las acciones fisiológicas de la T pueden estar mediadas por la hormona misma o bien por la acción de sus metabolitos, de ellos se puede destacar a un andrógeno: la dihidrotestosterona (DHT) y a un estrógeno: el estradiol (E2).



*Figura 6.* Eje Hipotálamo-hipófisis-testicular. Se representa el funcionamiento del eje gonadal masculino. (+) estimulación, (-) inhibición, GnRH=hormona liberadora de gonadotrofinas, LH= hormona luteinizante, FSH= hormona folículo estimulante, T= testosterona. (Corradi, Corradi y Greene, 2016).

Aproximadamente, el 98% de la T en sangre se une a proteínas plasmáticas. Donde el 54% se une con baja afinidad a la albúmina, esta fracción es biológicamente activa y tiene una rápida disociación en los tejidos, el 44% de la T se une con alta afinidad a la globulina fijadora de hormonas sexuales (SHGB), por lo que no tiene actividad biológica. Mientras que sólo el 2% de la T permanece libre (sin unirse a proteínas) y disponible para los tejidos (Liverman y Blazer, 2004).

Los andrógenos y estrógenos ejercen la mayoría de sus efectos biológicos a través de mecanismos de acción genómicos, es decir, mediante la interacción con receptores a andrógenos (RA) o receptores a estrógenos (RE), respectivamente.

En particular, los RAs se encuentran en el núcleo, en el citoplasma o en la membrana celular (Sarkey, Azcoitia, García-Segura, García-Ovejero y DonCarlos, 2008). Estos receptores se expresan en regiones del cerebro cruciales para el aprendizaje y la memoria, incluyendo al hipocampo (Beyenburg, et al., 2000), la CPF (Finley y Kritzer, 1999) y la amígdala (Abdelgadir, Roselli, Choate y Resko, 1999).

### • Cambios en el eje gonadal masculino en el envejecimiento

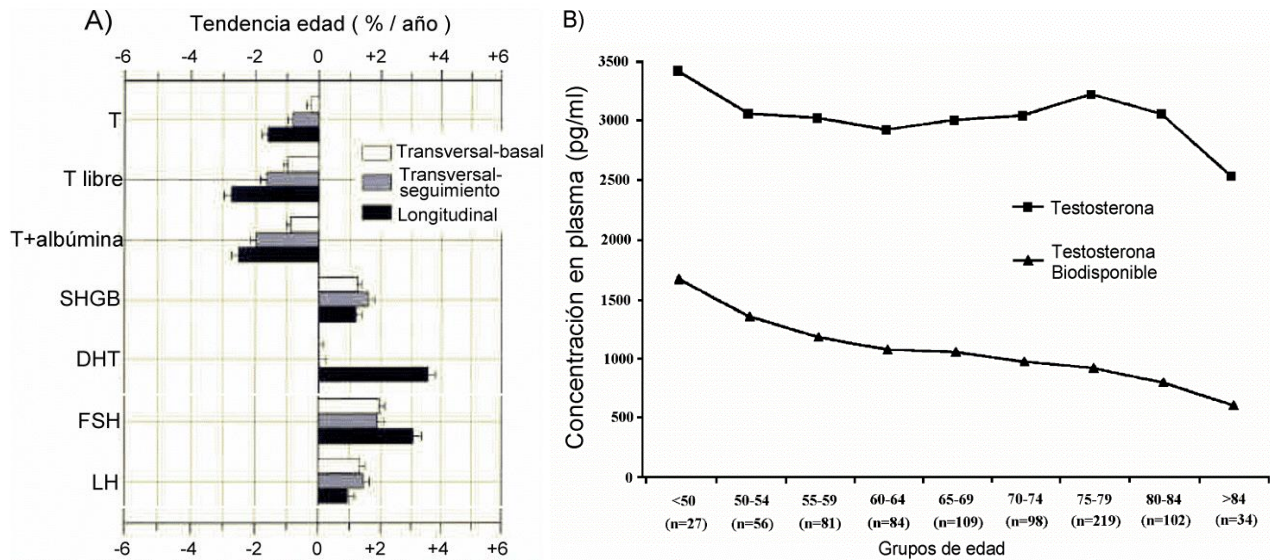
Estudios transversales (Barrett-Connor, Goodman-Gruen y Patay, 1999; Gray, Feldman, McKinlay y Longcope, 1991; Feldman et al., 2002) y longitudinales (Morley et al., 1997; Zmuda et al., 1997; Harman, Metter, Tobin, Pearson y Blackman, 2001) han reportado el declive gradual y progresivo en los niveles de T con el envejecimiento (Fig. 7), los cuales están precedidos por cambios en los diferentes componentes del eje gonadal:

- En el hipotálamo, disminuye la síntesis y liberación de GnRH, como consecuencia se altera la respuesta de la adenohipófisis y repercute en los pulsos de liberación de LH y FSH que se reducen en amplitud y aumentan en frecuencia (Veldhuis et al., 2009).
- En las gónadas, el número de células de Leydig disminuye, responden con menor eficiencia a LH y pierden hasta 75% su capacidad para producir T (Beattie, Adekola, Papadopoulos, Chen y Zirkin, 2015).
- A nivel periférico las concentraciones de SHGB aumentan a una velocidad de 1.6% por año en una cohorte de edad de 40 años en adelante (Feldman et al, 2002).
- El envejecimiento también ocasiona cambios en la sensibilidad de los RAs que disminuye los efectos de la T, además, su desregulación y pérdida en número conduce a un estado de hipoandrogenismo (Wu y Gore, 2010).

Todo esto contribuye a que los niveles de T disminuyan a partir de la cuarta década de vida (Wu et al., 2008). Así, el declive en los niveles de esta hormona, se observa en los niveles séricos tanto de T total como de la fracción de T biodisponible (T libre + T unida a albúmina), los cuales disminuyen a una tasa constante de 0.8-1.6% por año y 2-3%, respectivamente (Feldman et al., 2002).

Como resultado de estas alteraciones, se ha reportado que más del 60% de los hombres viejos de 70 años presentan la mitad de los niveles de T que tiene un hombre adulto de 30-35 años (0.55 ng/ml vs 0.25 ng/ml), es decir, los hombres viejos presentan una deficiencia parcial de andrógenos (Plymate, Tenover y Bremner, 1989), ésta genera alteraciones fisiológicas y conductuales que deterioran la calidad de vida del hombre. De

ellas se destacan la disminución en la masa y fuerza muscular, la densidad ósea, la función reproductiva, la función cognitiva y otros parámetros fisiológicos (Vermeulen, 2000; Matsumoto, 2002).



**Figura 7.** Disminución en los niveles de hormonas y proteínas asociadas al eje gonadal masculino. A) Tendencias en la disminución de gonadotropinas (FSH y LH), niveles de testosterona (T libre, total y unida a albúmina), la proteína SHGB y DHT durante el envejecimiento, estos fueron reportados en estudios transversales y longitudinales (durante 8 años) (Imagen modificada de Araujo et al, 2001; Fuente: MMAS, Feldman et al., 2002). B) Disminución en los niveles de T total y biodisponible en hombres viejos. Imagen modificada de Liverman y Blazer, 2004.

### 1.8 Efectos neuroprotectores de la testosterona

Por sus acciones en el SNC, la T ha sido clasificada como un esteroide neuroactivo. Si bien su secreción ocurre en glándulas, esta hormona es capaz de regular la actividad neuronal. Además, la T se sintetiza de *novo* en el tejido nervioso, independientemente de las glándulas adrenales y de las gónadas, de esta manera también se considera un neuroesteroide (Compagnone y Mellon, 2000).

Se ha visto que la T tiene un papel neuroprotector en el SNC a través de sus efectos activacionales en la etapa adulta, regulando la diferenciación, la supervivencia y la conectividad neuronal. Asimismo, mediante mecanismos de acción genómicos, la T modula la neurotransmisión serotoninérgica, dopaminérgica y colinérgica (Compagnone y Mellon, 2000; Zheng, 2009), también tiene funciones reguladoras en la señalización de calcio (Zup y Madden, 2016).

En el hipocampo, la T disminuye el proceso de muerte neuronal por apoptosis provocado por la toxicidad de la proteína  $\beta$ -amiloide (Pike, 2001) y el estrés oxidativo (Ahlbom, Prins y Ceccatelli, 2001). Otro estudio muestra que la administración de T a ratas macho jóvenes, suprime el daño oxidativo y revierte las alteraciones morfológicas inducidas por

la castración en las neuronas dopaminérgicas (Meydan et al., 2010), estos datos nos permiten plantear que la administración de T podría atenuar o disminuir el daño oxidativo en el envejecimiento. En línea con esta idea, se ha reportado que el tratamiento crónico con T en ratas viejas además de disminuir los niveles de estrés oxidativo, funciona como una estrategia terapéutica en el tratamiento de enfermedades asociadas a la conducta motora (Zhang et al., 2013).

Los andrógenos también influyen en la neurogénesis a través de la gran cantidad de RAs que se expresan en el hipocampo (Kerr et al., 1995; Tabori et al., 2005). Al respecto se encontró que la administración de T en ratas macho adultas castradas aumenta la neurogénesis en el giro dentado por mecanismos de acción genómicos. Este efecto también se observó con la administración de DHT, pero no con estradiol, indicando que el efecto de la T en la neurogénesis hipocampal ocurre por un mecanismo de acción dependiente de los RAs (Galea et al., 2006).

Además de los efectos de neuroprotección por mecanismos de acción genómicos, la T ejerce efectos protectores en el SNC por vías no genómicas. Mediante este mecanismo, la T promueve la activación de la vía de señalización de MAPK/ERK (Nguyen, Yao y Pike, 2005). Esta vía es importante en la regulación de la supervivencia y viabilidad celular (Kousteni et al., 2001; Zhu et al., 2002), su señalización facilita la formación de memorias a corto y a largo plazo (Peng, Zhang, Zhang, Wang y Ren, 2010; Phillips, Ye, Kopec y Carew, 2013).

A través de mecanismos de acción no genómicos, la T también participa en el mantenimiento de la plasticidad neuronal del hipocampo, ejemplos de este se dan en estudios donde la aplicación de T en cultivos neuronales aumenta la densidad de las espinas dendríticas en las neuronas piramidales del hipocampo a las 0.5 y 2 hrs después de haber sido administrada (Hatanaka et al., 2015).

Finalmente, los andrógenos participan en el mantenimiento y reparación del SNC después de lesiones cerebrales traumáticas y accidentes cerebrovasculares; su administración tiene efectos terapéuticos y reparadores en la médula espinal protegiendo a las neuronas motoras de la atrofia (Tehranipour y Moghimi, 2010). También se ha reportado que los andrógenos regulan la expresión de los receptores a factores tróficos; proteínas críticas para el mantenimiento de la estructura y función neuronal (Tehranipour y Moghimi, 2010). Además, se ha descrito que la T protege a las neuronas contra la neurotoxicidad de  $\beta$ -amiloide y mediante vías de señalización rápidas también contribuye a la inhibición de la apoptosis neuronal (Pike, 2001).

Todos estos efectos sugieren un papel modulador de la T sobre la memoria, de esta manera uno de los enfoques para prevenir o disminuir las deficiencias cognitivas en el envejecimiento es la restitución de los niveles de T en los sujetos viejos, lo cual se describirá en el siguiente apartado.

## 1.9 Efectos de la testosterona sobre la memoria

- **Estudios en humanos**

Numerosos estudios se han enfocado en establecer una asociación entre el declive cognitivo y la disminución en los niveles de T durante el envejecimiento del hombre.

Algunos estudios epidemiológicos muestran que la disminución en los niveles de T libre que se presenta durante el envejecimiento se relaciona con un deterioro cognitivo (Barrett-Connor et al., 1999; Yaffe et al., 2002). En línea con esta idea, se ha encontrado una relación positiva entre los niveles de T biodisponible con el funcionamiento de la memoria y con la velocidad de procesamiento de la información en sujetos viejos (Barrett-Connor et al., 1999). De manera similar, niveles altos de T total se relacionan con una mejor función cognitiva (Muller, Aleman, Grobbee, de Haan y van der Schouw, 2005).

Esta asociación entre la T y la cognición no es tan clara en los estudios que usan un tratamiento de restitución con T en hombres viejos, ya que se presentan resultados contradictorios. Se han encontrado efectos positivos de la T sobre dominios específicos de la función cognitiva, entre ellos en la memoria verbal (Cherrier et al., 2007), la memoria espacial (Janowsky, Oviatt y Orwoll, 1994; Gray et al., 2005; Cherrier et al., 2001; 2007) y la memoria de trabajo (Janowsky, Chavez y Orwoll, 2000) en hombres viejos cuando la duración del tratamiento hormonal es de 1 a 3 meses (Janowsky et al., 1994; Janowsky, et al., 2000; Cherrier et al., 2001; 2005a; 2005b). Sin embargo, hay resultados controversiales que refutan estos resultados al no encontrar efectos de la T utilizando el mismo tiempo de tratamiento (Kenny, Fabregas, Song, Biskup y Bellantonio, 2004), incluso se ha reportado que la restitución con T durante 2 meses perjudica el rendimiento en tareas de memoria espacial (O'Connor, Archer, Hair y Wu, 2001).

Otros esquemas de administración de T (ya sea durante 6 meses, de 1-3 años, o bien, una restitución aguda en una sola dosis) tampoco tuvieron efecto en la memoria espacial de hombres viejos (Wolf et al., 2000; Kenny, Bellantonio, Gruman, Acosta y Prestwood, 2002; Vaughan, Goldstein y Tenover, 2007; Emmelot-Vonk et al., 2008).

Las variaciones en los resultados de estos estudios, pueden explicarse (además de la duración del tratamiento hormonal) por factores como la edad de los participantes, el estado cognitivo y la severidad de hipogonadismo que presentan, también por la vía de administración utilizada (oral, intramuscular, transdérmica, incluso intra-nasal) que produce variaciones en la absorción hormonal.

Otro factor que influye en estas variaciones es el grado con el que los niveles de T aumentan con un tratamiento, el cual depende de la dosis. Se ha observado que los efectos de la T en la memoria espacial de hombres viejos presentan una relación dosis-respuesta en forma de U invertida (Cherrier et al., 2007), es decir, un tratamiento hormonal que utiliza una dosis baja de T (50 mg) no ejerce ningún efecto en la memoria.

Sin embargo, administrar dosis moderadas de esta hormona (100 mg) produce efectos positivos en la memoria verbal y la memoria espacial de hombres viejos. Por el contrario, suministrar dosis altas de T (300 mg), resultan en niveles suprafisiológicos de esta hormona que perjudican la memoria espacial en hombres viejos. Otras investigaciones también ratifican esta hipótesis, los niveles moderados de T muestran una relación positiva en la memoria (Gouchie y Kimura, 1991; Barrett-Connor et al., 1999; Yaffe et al., 2002) y de forma similar, los tratamientos que resultan en niveles suprafisiológicos de T perjudican la memoria espacial de los hombres viejos (Wolf et al., 2000; Maki et al., 2007).

Por otra parte, se ha sugerido la posibilidad de que los niveles bajos de T predispongan a los hombres viejos a desarrollar la enfermedad de Alzheimer (Moffat et al., 2004, Rosario, 2004), esta idea se fundamenta en reportes que indican que pacientes con Alzheimer presentan niveles de T significativamente más bajos, comparado con hombres viejos saludables (Hogervorst et al, 2001; Hogervost, Combrinck y Smith, 2003). Además, se ha reportado que el tratamiento de restitución con T mejora la función cognitiva en pacientes con Alzheimer y declive cognitivo moderado, en particular en las habilidades viso-espaciales, en la memoria espacial y en la memoria verbal (Tan y Pu, 2003; Cherrier et al., 2005b).

- **Estudios en modelos animales**

Igual que en la clínica, los estudios en modelos animales muestran una relación controversial entre los andrógenos y la cognición, esto se puede explicar por las variaciones metodológicas que utiliza la investigación. Contrario a la investigación clínica, son escasos los reportes que utilizan animales viejos para evaluar dicha relación. Considerando lo anterior, para determinar los efectos de la disminución en los niveles de T en la memoria espacial de roedores, el procedimiento tradicional es remover los testículos, a este procedimiento se le conoce como orquidectomía o castración (ORX), mediante este método se eliminan los niveles de hormonas gonadales endógenas, lo que permite simular la deficiencia de andrógenos en el envejecimiento y así estudiar el papel de la T en el aprendizaje y la memoria espacial de los roedores. Posteriormente se proporciona T exógena bajo un régimen de tratamiento y se determinan los efectos de éste sobre la conducta (Bimonte-Nelson et al., 2010).

De manera general, la eliminación de T por la castración deteriora el aprendizaje y la memoria espacial de los roedores como lo muestran diversos estudios (Kritzer, McLaughlin, Smirlis y Robinson, 2001; Daniel, Winsauer y Moerschbaeche, 2003), los cuales se han enfocado en comparar los efectos de la ausencia o presencia de andrógenos en la memoria de trabajo y en la memoria de referencia espacial en roedores (Tabla 1). Al respecto, se ha encontrado que la castración deteriora el aprendizaje (Kritzer et al., 2001) y la memoria de trabajo en diferentes tareas espaciales (Daniel et al., 2003; Spritzer, Gill, Weinberg y Galea, 2007; Kritzer, Brewer, Montalmant, Davenport y

Robinson, 2007; Gibbs y Johnson, 2008), esto también se ha observado cuando aumenta el intervalo de tiempo entre los ensayos de adquisición y retención de la tarea (Sandstrom, Kim y Wasserman, 2006). Por el contrario, la ausencia de andrógenos parece no afectar la memoria de referencia espacial (Gibbs y Johnson, 2008; Spritzer et al., 2007). También se ha reportado una mejor retención de la información espacial en ratas con castración falsa que presentan niveles altos de T (Spritzer et al., 2007).

Tabla 1.

Estudios en roedores sobre el efecto de la testosterona en la memoria espacial.

Referencia	Animales	Hormona (o cirugía)	Prueba (memoria a evaluar)	Resultados
Sandstrom et al., 2006	Ratas ♂ adultas-jóvenes	ORX y ORXF Implante s.c. de 10mm de largo con colesterol o T	Laberinto acuático de Morris (MT). Intervalos de 10 y 60 mins entre ensayos de adquisición y retención.	La ORX ↓ la MT con el intervalo de 60 mins en la fase de retención. La T ↑ la MT en la retención del laberinto acuático con ambos intervalos de tiempo.
Gibbs y Johnson, 2008	Ratas ♂ adultas- jóvenes.	ORX Implante s.c. 8mm de largo con PT.	Laberinto radial de 12 brazos (MT-MR).	La ORX ↓ la MT y no afectó la MR. El tratamiento con T no revirtió el deterioro en la MT inducido por la ORX y ↓ la MR.
Spritzer et al., 2011	Ratas ♂ adultas-jóvenes (60 días)	ORX Inyección s.c. con T (0.5 mg por 30 días).	Laberinto radial de 8 brazos (MT-MR)	Las inyecciones con T ↑ la MT pero no afectaron la MR.
Spritzer et al., 2011	Ratas ♂ adultas-jóvenes (60 días)	ORX Inyección s.c de T (0.06 a 1 mg). Los 7 días de prueba o 7 días antes y durante (15 días).	Laberinto acuático de Morris (MT-MR)	Todas las dosis de T ↑ el aprendizaje espacial. 15 días con T ↑ aprendizaje espacial y ↑ la MR. 7 días con T ↑ la retención de la memoria espacial. Ningún tratamiento afectó la MT.
Hawley et al., 2013	Ratas ♂ adultas-jóvenes.	ORX 1 o 2 implantes s.c. T libre 20mm de largo	Laberinto en Y (memoria espacial) Intervalos de 24 o 48hrs entre adquisición y retención.	La ORX y el tratamiento con T no afectaron la memoria con 24 hrs entre pruebas. La ORX ↓ y el tratamiento con T ↑ la memoria espacial con 48 hrs en la retención.



Bimonte-Nelson et al., 2003	Ratas ♂ adultas-jóvenes y viejas intactas.	Implante s.c. con T (50 mg durante 60 días)	Laberinto radial acuático de 12 brazos (MT-MR)	El tratamiento ↑ los niveles de T en ratas viejas que ↑ la MT en la retención de la tarea. La T no afectó la MR.
Kritzer et al., 2001	Ratas ♂ adultas-jóvenes.	ORX y ORXF Implante s.c. PT (3-4 ng/ml) o E2 (25pg/ml).	Laberinto en T (aprendizaje espacial)	La ORX ↓ el aprendizaje. El tratamiento con T ↑ el aprendizaje espacial. El E2 no tuvo efecto en la adquisición de la tarea.
Kritzer et al., 2007	Ratas ♂ adultas-jóvenes.	ORX y ORXF Implantes s.c. PT (3-4 ng/ml) E2 (25 pg/ml).	Prueba de reconocimiento de objetos novedosos (MT)	La ORX ↓ la MT. El tratamiento con T revertió el deterioro en esta memoria.
Khalil et al.,(2005)	Ratas ♂ jóvenes	Inyección s.c. de T (2.5 mg).	Laberinto acuático de Morris (MR)	La T ↑ la MR y previene el deterioro cognitivo inducido por etanol.
Goudsmit et al., 1990	Ratas ♂ adultas-jóvenes mediana edad y viejas.	Implante s.c. 2.5 cm de largo con PT	Laberinto acuático de Morris (aprendizaje y memoria espacial)	La T en ratas viejas no afectó el aprendizaje ni memoria espacial. En ratas jóvenes y de mediana edad la T ↓ la retención de la memoria espacial.
Naghdi et al., 2001	Ratas ♂ adultas-jóvenes	Inyección i.h. en CA1 con enantato de T (20,40 o 80 µg/0.5µL)	Laberinto acuático de Morris (aprendizaje y memoria espacial)	La dosis de 20 µg de T facilitó el aprendizaje espacial sin ser significativo. Dosis de 80 µg ↑ los niveles de T y ↓ la memoria espacial.
Borbélyová et al., 2016	Ratas ♂ viejas ORX	Una sola inyección s.c PT (1mg/kg)	Campo abierto, laberinto en cruz tarea de transición luz- oscuridad Interacción social Consumo de sacarosa y prueba de nado forzado.	La ORX ↑ la conducta depresiva. La deficiencia de andrógenos a largo plazo no afectó las conductas evaluadas. El tratamiento agudo con T no afectó los parámetros medidos.

↑ mejora, aumenta o facilita, ↓ disminuye, MT= memoria de trabajo, MR= memoria de referencia, ORX=castración, ORXF= castración falsa, s.c.= administración subcutánea, i.h.=inyección intrahipocampal, T= testosterona, PT=propionato de T, E2= estradiol.

El hecho de que la ausencia de hormonas gonadales afecte el aprendizaje y la memoria espacial en roedores, nos permite sugerir un papel regulador de la T en estos procesos cognitivos, y podemos plantear la idea de que la restitución con T puede revertir este deterioro, sin embargo, los estudios que evalúan el efecto de la restitución hormonal con T como estrategia para mejorar la memoria espacial en modelos animales presentan resultados contradictorios (Tabla 2).

En este contexto, la administración de T puede revertir el deterioro en la memoria de trabajo inducido por la castración (Sandstrom et al., 2006) y el daño en la memoria de referencia cuando es inducido por etanol (Khalil, King y Soliman, 2005). No obstante, hay investigaciones donde el tratamiento con T no revierte el daño en la memoria de trabajo (Kritzer et al., 2001; Gibbs y Johnson, 2008), incluso su administración produce efectos perjudiciales en la memoria (Goudsmit, Vandepoll y Swaab, 1990; Naghdi, Nafisy y Majlessi, 2001), por ejemplo, dañando la memoria de referencia espacial (Gibbs y Johnson, 2008).

Los efectos de la T en la memoria espacial de los roedores varían en función de la demanda de la tarea (Spritzer et al., 2007, 2011) y de la dosis utilizada. Al respecto, los tratamientos que producen niveles moderados de T (dentro del rango fisiológico), revierten el deterioro en la memoria espacial inducido por la castración (Naghdi et al., 2001; Bimonte-Nelson et al., 2003; Sandstrom et al., 2006; Kritzer et al., 2007; Hawley et al., 2013; Locklear y Kritzer; 2014). Por el contrario, los tratamientos que producen niveles supra fisiológicos de T repercuten en la memoria espacial (Naghdi et al., 2001; Borbélyová et al., 2016).

Las discrepancias en los resultados de estos estudios también se pueden explicar por los intervalos de tiempo entre tareas (Daniel et al., 2003), la demanda y estímulos que éstas utilizan (Spritzer et al., 2007; 2011), las dosis administradas, la duración del tratamiento hormonal (Naghdi et al., 2001; Spritzer et al., 2011) así como de la privación de andrógenos (Borbélyová et al., 2016) y la edad de los animales (Bimonte-Nelson et al., 2003).

De ésta última, se ha reportado que el tratamiento de restitución hormonal con T en ratas viejas, mejora la memoria espacial (Bimonte-Nelson et al., 2003), apoyando la hipótesis de que la terapia con T durante el envejecimiento del hombre provee efectos positivos en la memoria.

## **2. Justificación**

En el envejecimiento del hombre ocurren dos eventos de forma paralela: el declive en la memoria espacial y la disminución en los niveles de testosterona, lo que sugiere una asociación entre estas dos variables. Estudios que abordan esta relación en humanos y modelos animales muestran que la restitución con testosterona genera resultados contradictorios.

Estas controversias pueden ser explicadas por diferencias en el método de restitución hormonal, la dosis y, en el caso de los modelos animales, por la inclusión de estresores que demanden una actividad física importante, lo cual interfiere con los resultados en sujetos viejos.

El uso de modelos animales que no involucren una respuesta de estrés importante podría revelar de una manera más contundente si existe una relación entre la memoria, el envejecimiento y la testosterona. Esto permitirá establecer si el empleo de esta hormona es eficiente como terapia de remplazo para prevenir o retrasar el declive cognitivo presentado durante el envejecimiento.

## **3. Hipótesis**

El envejecimiento producirá un deterioro en la memoria espacial. Si existe una relación entre el deterioro en la memoria espacial y la disminución en los niveles de testosterona, entonces los animales viejos intactos (que ya presentan niveles bajos de esta hormona) y los animales castrados, mostrarán un deterioro en el aprendizaje y la memoria espacial el cual será evidenciado por un desempeño ineficiente en el laberinto de Barnes. Este deterioro cognitivo será revertido con el tratamiento hormonal.

## **4. Objetivos**

### **4.1 Objetivo general**

-Evaluar el efecto del envejecimiento y de la restitución con testosterona en la memoria espacial de la rata macho.

### **4.2 Objetivos particulares**

-Determinar el efecto del envejecimiento en el aprendizaje y la memoria espacial de la rata macho

-Evaluar si la disminución en los niveles de testosterona, inducida por la castración, modifica el aprendizaje y la memoria espacial de los animales

-Establecer si la restitución con testosterona mejora el aprendizaje y la memoria espacial de los animales castrados, y si el efecto de este tratamiento es dependiente de la edad.

-Registrar la actividad locomotora con el fin de descartar factores físicos que pudieran afectar el rendimiento de los roedores en la prueba de memoria espacial.

## **5. Metodología**

### **5.1 Animales**

Se utilizaron ratas Wistar macho adultas jóvenes (3 meses al inicio del experimento) y viejas (21 meses al inicio del experimento) criadas en el Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz.

Los roedores se alojaron en cajas de policarbonato (de 3 a 4 ratas por caja), en un cuarto con ciclo luz-oscuridad invertido (12:12 h, la luz se apagó a las 10:00 h), con acceso *ad libitum* a comida y agua, bajo condiciones controladas de temperatura ( $23 \pm 1^\circ\text{C}$ ).

El manejo de los animales se realizó conforme a los principios generales para el cuidado de los animales de laboratorio (*NIH publication* 85-23, 1985). Todos los procedimientos experimentales se hicieron de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana para el cuidado y uso de los animales de laboratorio (NOM-062-ZOO-1999). El proyecto fue aprobado por el Comité de Ética del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz.

En todo el protocolo se usó el menor número de animales empleados para cada grupo experimental y se tomaron medidas especiales para el cuidado de los animales viejos, tales como: desparasitación, administración de antibiótico (en caso de ser necesario) y una continua inspección externa para detectar alguna infección, presencia de tumores, pérdida de peso o cualquier otra anomalía. Aquellos animales que presentaron deterioro en su salud fueron descartados del estudio.

### **5.2 Orquidectomía**

La orquidectomía o castración es una cirugía que consiste en remover los testículos de los animales, este procedimiento se realizó en los roedores bajo anestesia con tribromoetanol al 2% (Sigma-Aldrich) a una dosis de 200 mg/kg. Una vez que el animal estuvo inconsciente, se hizo una incisión en la línea media del área abdominal baja para exponer los testículos, los conductos deferentes fueron ligados bilateralmente y se removieron las gónadas.

Al finalizar la operación, se suturó el músculo y la piel, el área ventral abdominal se limpió con solución antiséptica (Germisin, Farmacéuticos Altamirano). Posteriormente, los animales se regresaron a sus cajas para su recuperación y se les administró antibiótico (Enroxil, 0.5mL x 1L de agua, vía de administración oral) durante una semana.

### **5.3 Restitución hormonal**

Los animales castrados recibieron un tratamiento hormonal utilizando implantes hechos con tubos de polidimetilsilicona (Silastic Rx 50, Dow Corning, diámetro interno 1.57 mm y externo 3.18 mm) de 1 cm de longitud, los cuales se llenaron con ~9 mg de propionato de testosterona en polvo (PT, Sigma Chemicals) y fueron sellados en ambos extremos con silicón.

Para llevar a cabo el procedimiento las ratas fueron anestesiadas con tribromoetanol al 2% (200mg/kg), después se realizó una incisión en la región cervical del animal y se colocó el implante con T. La incisión se suturó y fue limpiada con solución antiséptica. Al finalizar la cirugía, los animales se regresaron a sus cajas de alojamiento para su recuperación.

En un estudio previo, se determinó el curso temporal de liberación de T para estos implantes, se demostró que en ratas macho intactas de más de 12 meses, la cápsula de PT mantuvo durante al menos cuatro semanas una liberación de T suficiente para alcanzar niveles séricos semejantes a los encontrados en machos jóvenes intactos (Herrera-Pérez, Martínez-Mota, Chavira y Fernández-Guasti, 2012). De manera similar se demostró que el implante con T en ratas jóvenes castradas mantiene durante tres semanas niveles séricos semejantes a los encontrados en machos jóvenes intactos (datos no publicados, ver anexo). Con base en estas evidencias, los implantes de T se reemplazaron cada cuatro semanas en ratas viejas y cada tres semanas en los animales jóvenes.

#### **5.4 Prueba de Laberinto de Barnes**

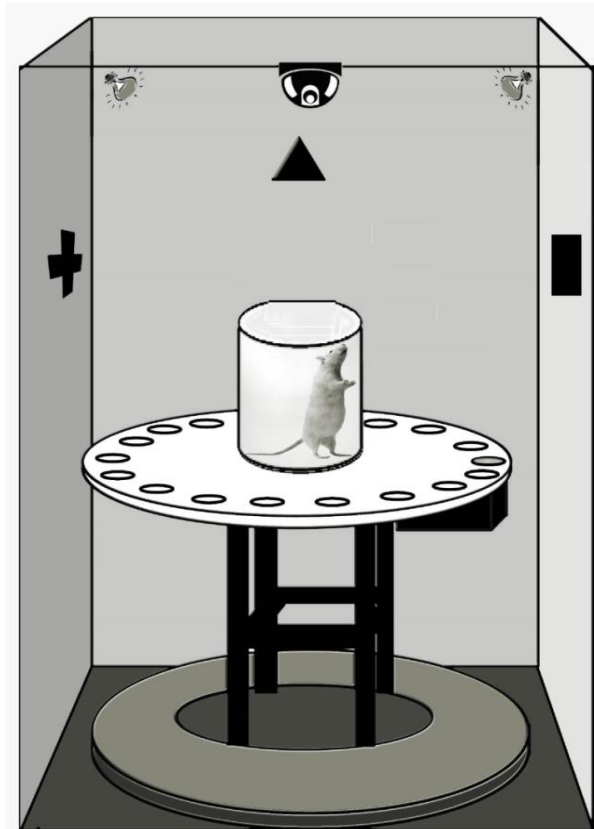
Para evaluar los efectos del envejecimiento, de la eliminación de hormonas gonadales y de la restitución con T, en la memoria espacial de los roedores, se utilizó la prueba de Laberinto de Barnes (Barnes 1979; McLay et al., 1999).

Este laberinto consiste en una plataforma circular blanca (122 cm de diámetro) elevada a 91 cm del suelo por un soporte de metal. La plataforma tiene 18 agujeros (de 9.5 cm de diámetro) uniformemente espaciados en la periferia y debajo de uno de ellos se localiza una cámara de escape oscura.

El laberinto está rodeado por cuatro cortinas blancas, cada una cuenta con una figura geométrica (una cruz, un triángulo, un cuadrado o un círculo, de color negro y de 30 cm c/u), estas figuras funcionan como claves espaciales que le permiten al roedor localizar la cámara de escape (Fig. 8).

En cada sesión se motivó a los roedores a encontrar la cámara de escape aplicando ruido blanco (85 dB) y luz brillante (200 W). Al término de cada sesión, la plataforma se limpió y se giró una posición en sentido a las manecillas del reloj, de esta manera se eliminaron claves olfatorias que pudieran alterar la búsqueda de la cámara de escape.

Las claves espaciales y la cámara de escape permanecieron en el mismo sitio durante todas las sesiones.



*Figura 8.* Dibujo representativo del laberinto de Barnes: prueba conductual para la evaluación del aprendizaje y la memoria espacial dependientes del hipocampo.

Previo a comenzar las sesiones de prueba se llevó a cabo una fase de habituación al laberinto, para ello los roedores se colocaron dentro de la cámara de escape durante 4 minutos. Posteriormente, a partir del centro de la plataforma, los animales se guiaron manualmente al agujero objetivo y permanecieron dentro de la cámara de escape otros 2 minutos.

Una vez finalizada la fase de habituación al laberinto, los roedores comenzaron las sesiones de prueba para la evaluación de la memoria espacial, ésta se realizó en dos periodos:

1) Periodo de adquisición: Esta etapa consiste en 4 días con 4 ensayos (por día) para el aprendizaje o la adquisición de la tarea espacial. Cada una de las sesiones inicia colocando al animal en un cilindro blanco situado en el centro de la plataforma, 30 segundos después el cilindro se levanta manualmente y el roedor tiene un tiempo máximo de 4 minutos para encontrar la cámara de escape. Una vez que el animal la localiza permanece dentro de ella 2 minutos.

De no hallarla en los 4 minutos correspondientes, el animal se guía manualmente hacia la cámara de escape y permanece dentro de ella los 2 minutos correspondientes.

2) Periodo de retención: esta etapa comprende la evaluación de la memoria espacial a corto y a largo plazo, a los 3 y 12 días después de finalizar el periodo de adquisición respectivamente (día 7 y 16 del protocolo).

Durante este periodo los animales también comienzan la prueba en el centro de la plataforma, pero a diferencia del periodo de adquisición, en la fase de retención no se usa el cilindro. Además, la evaluación de la memoria espacial durante este periodo consta sólo de una sesión por día.

En este estudio se realizaron dos evaluaciones adicionales de la memoria a largo plazo, a los 24 y 36 días después de concluir el periodo de adquisición del laberinto de Barnes, estas pruebas se omitieron del presente trabajo porque no mostraron resultados significativos.

Para el procesamiento y la adquisición de datos a través de videos se empleo el software OMNIALVA, con este se evaluaron los siguientes parámetros:

a) Latencia: es el tiempo total (en segundos) que tarda el animal en encontrar la cámara de escape. Este parámetro disminuye conforme avanzan los ensayos y los días de prueba si los roedores aprenden y retienen la información de la tarea espacial.

b) Velocidad: se define como la rapidez (en cm/segundo) con la que un animal encuentra la cámara de escape en una sesión de prueba, también se considera un parámetro de locomoción.

c) Distancia: con esta medida se determina la longitud recorrida por el roedor (en centímetros) en la plataforma del laberinto para encontrar la cámara de escape. Este parámetro disminuye cuando los roedores aprenden y retienen la información de la tarea espacial.

d) Búsqueda en el área objetivo: es el porcentaje de exploraciones o visitas que realizaron los roedores en el área objetivo: conformada por el agujero que contiene la cámara de escape (hoyo 1) y los dos agujeros adyacentes a este (hoyo 2 y 18), véase la figura 9. Este parámetro es un indicador de asertividad que debe aumentar a través del tiempo. Matemáticamente se calculó con la siguiente ecuación:

$$\text{Búsqueda en el área objetivo} = \frac{\text{No. visitas en el área objetivo}}{\text{No. visitas totales}} \times 100$$

e) Frecuencia de búsqueda: se refiere al número de exploraciones o visitas que realizaron los roedores a los agujeros de la plataforma. En caso de que el animal realizara su búsqueda en el agujero objetivo y no entrara a la cámara de escape, esto también se contó como visita. El parámetro nos permite conocer si los roedores aprenden y retienen la información espacial del laberinto de Barnes mediante la disminución en la actividad exploratoria para encontrar la cámara de escape al avanzar los días de prueba.

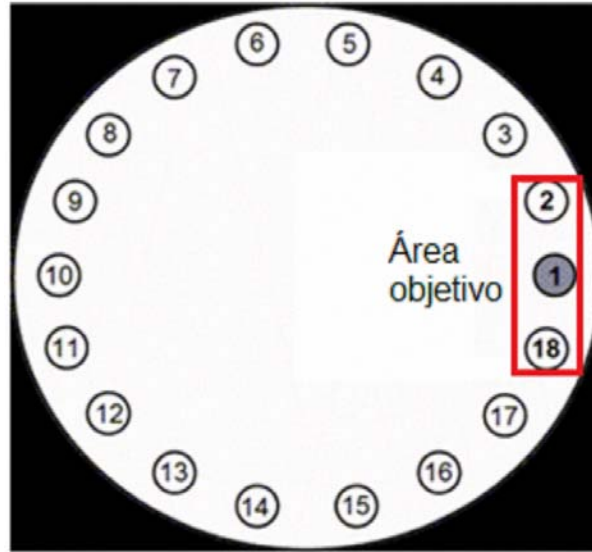


Figura 9. Definición del área objetivo en la plataforma del Laberinto de Barnes. Agujero que contiene la cámara de escape (#1) y los dos agujeros adyacentes (#2 y 18).

f) Estrategias de búsqueda: con este parámetro se evalúa si el roedor es capaz de generar alguna estrategia para encontrar la cámara de escape, permite distinguir si el roedor usa las claves espaciales para resolver el laberinto. De acuerdo con Locklear y Kritzer, 2014, las estrategias se definen de la siguiente manera:

- Búsqueda aleatoria: Cuando el 60% de los agujeros explorados por los roedores no fueron adyacentes al agujero que contiene la cámara de escape o bien, cuando en la búsqueda para encontrarla realizaron más de dos cambios de dirección y cruzaron el centro de la plataforma (Fig. 10A).
- Búsqueda serial: Los roedores exploraron en la periferia de la plataforma visitando los agujeros de forma consecutiva, sin realizar cambios de dirección o cuando el 80% de los agujeros visitados fueron adyacentes (Fig. 10B).
- Búsqueda dirigida al objetivo: La búsqueda se realizó sólo en los agujeros 2 y 18 previo a entrar a la cámara de escape (Fig. 10C).

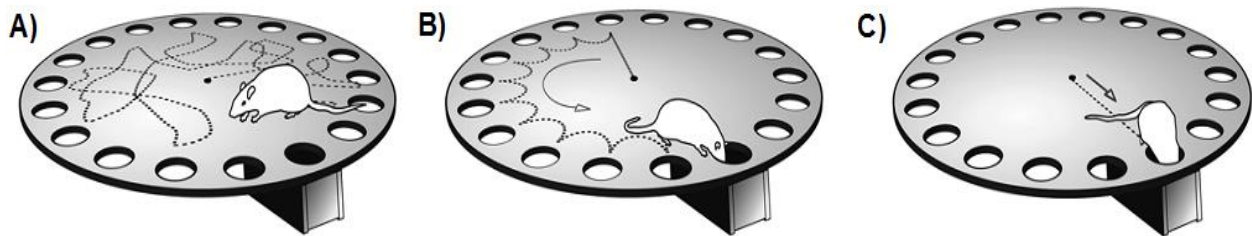


Figura 10. Representación de las estrategias de búsqueda para encontrar la cámara de escape en el laberinto de Barnes. A) Aleatoria B) Serial y C) Dirigida al objetivo. (Bimonte-Nelson et al., 2015).



## 5.5 Prueba de Campo Abierto

La prueba de campo abierto se utilizó para determinar la presencia de afectaciones en la actividad locomotora inducidas por el envejecimiento, la castración o el tratamiento hormonal, que pudieran interferir con el desempeño de los animales en la prueba de laberinto de Barnes.

La evaluación se desarrolló en un actímetro de polipropileno y aluminio (45 X 45 X 20 cm, Panlab, modelo LE 8811 IR Motor Activity Monitor) con sensores infrarrojos que detectan los movimientos del animal.

Para realizar la prueba, los roedores fueron colocados individualmente en el actímetro durante 5 minutos, al término de cada evaluación, la caja se limpió para eliminar los olores de heces y orina que pudieran alterar la conducta del siguiente animal a evaluar.

El registro de la actividad locomotora de los animales en esta prueba se hizo usando el software SEDACOM32; para el análisis de datos se cuantificó el número de movimientos totales, este parámetro se obtuvo con la suma de los movimientos rápidos y lentos de los roedores durante los 5 minutos que dura la prueba.

## 5.6 Muestras de sangre

Al finalizar la prueba de campo abierto los animales fueron sacrificados por decapitación, se colectó la sangre periférica del tronco de cada animal y se colocó en tubos de vidrio fríos. La separación del suero se realizó mediante la centrifugación de las muestras a 4000 r.p.m. (revoluciones por minuto) durante 25 minutos a 4°C. Posteriormente, los sueros se conservaron a -20°C hasta el momento de realizar la determinación de los niveles de T.

## 5.7 Medición de los niveles de testosterona en suero

La medición en los niveles de T, de algunas ratas de los diferente grupos experimentales, se realizó mediante una prueba de ELISA (por sus siglas en inglés *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*) utilizando un kit comercial (DRG International, Marburg, Germany). Esta prueba consiste en un ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas en fase sólida, basado en el principio de unión competitiva, como se indica a continuación:

- Se usa una microplaca cuyos pozos están recubiertos con un anticuerpo monoclonal (de ratón) que reconoce un sitio antigénico único en la molécula de T.
- La T endógena de una muestra compite con un conjugado de T con peroxidasa de rábano para unirse al anticuerpo.
- Después de la incubación, el conjugado de T-peroxidasa que no se unió es eliminado por lavado, de este modo,

- la cantidad de conjugado de peroxidasa unido es inversamente proporcional a la concentración de T en la muestra.
- Posteriormente se añade la solución de sustrato para que, por acción de la peroxidasa se produzca un producto colorido, así la intensidad del color desarrollado es inversamente proporcional a la concentración de T en la muestra.

La lectura de la absorbancia se realiza con un lector para microplacas Thermoscientific Multiskan Ascent.

## 5.8 Diseño experimental

Para cumplir con los objetivos del presente trabajo, se utilizaron los grupos experimentales indicados en la figura 11, los cuales se sometieron al protocolo y las manipulaciones correspondientes (Fig. 12), considerando los siguientes experimentos:

- Experimento 1: Efecto del envejecimiento en la memoria espacial.  
Para este propósito se usaron ratas macho jóvenes (n=19) y viejas (n=12) intactas (Jov-int y Viej-int en Fig. 11, respectivamente), las cuales fueron evaluadas en el laberinto de Barnes como lo indica la figura 12A.
- Experimento 2: Efecto de la castración en la memoria espacial.  
Se utilizaron ratas macho jóvenes (n=13) y viejas (n=11) castradas (JORX y VORX en Fig. 11, respectivamente) para estudiar el efecto de la ausencia de hormonas gonadales en la memoria espacial. En el caso de las ratas jóvenes, la castración también nos permitió simular la disminución en los niveles de T durante el envejecimiento. A las cuatro semanas de realizar la castración, estos animales recibieron implantes vacíos (como un control del tratamiento hormonal) y cuatro semanas después de colocar el primer implante, comenzó la prueba de laberinto de Barnes (Fig.12B).
- Experimento 3: Efecto de la restitución hormonal con T en la memoria espacial.  
Se emplearon ratas jóvenes (n=14) y viejas (n=12) castradas, a las cuales se les colocó un implante con T cuatro semanas después de la cirugía (JORX+T y VORX+T en Fig. 11, respectivamente). Un mes después de colocar el primer implante comenzó la prueba de Laberinto de Barnes. Los implantes fueron reemplazados cada 3 semanas en ratas jóvenes y cada 4 semanas en ratas viejas (Fig.12C).

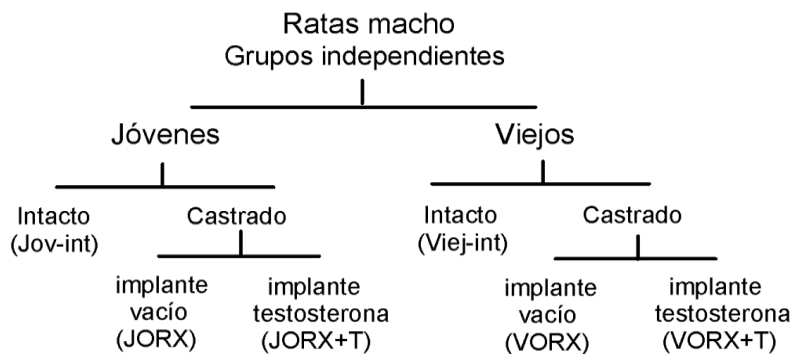


Figura 11. Diagrama de los grupos experimentales utilizados para evaluar el efecto del envejecimiento, la eliminación y la restitución hormonal con T en la memoria espacial.

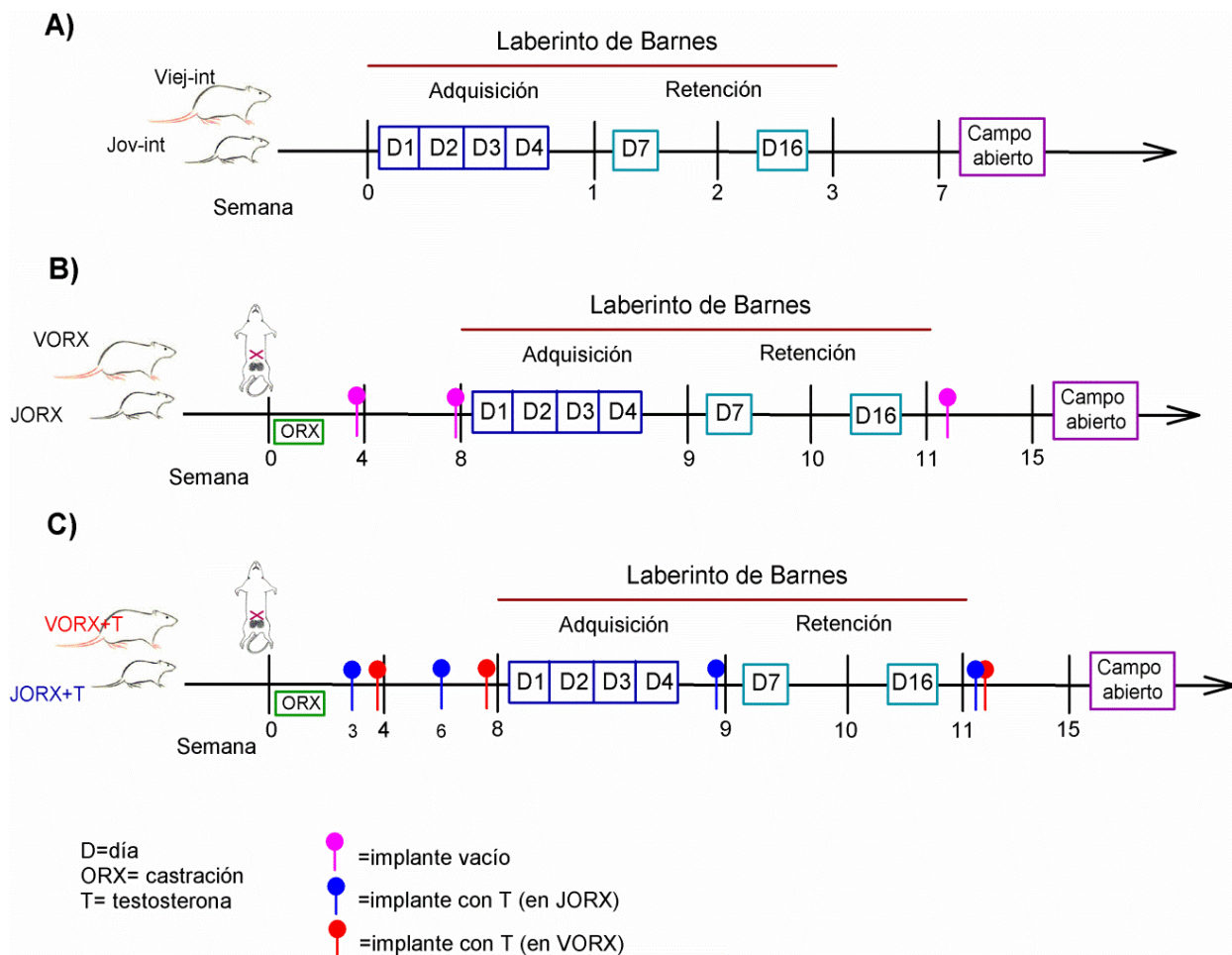


Figura 12. Diseño experimental. A) Experimento 1: efecto del envejecimiento en la memoria espacial de ratas macho. B) Experimento 2: efecto de la castración en la memoria espacial de ratas macho jóvenes y viejas. C) Experimento 3: efecto de la restitución con T en la memoria espacial de ratas macho jóvenes y viejas castradas. En todos los experimentos se muestran los tiempos para la realización de la castración, la restitución hormonal, la prueba de laberinto de Barnes y la evaluación locomotriz en campo abierto.

## 5.9 Análisis estadístico

Se utilizó el software Sigma Plot 11 para la elaboración de las gráficas y el análisis estadístico.

Los datos del desempeño de los animales durante el periodo de adquisición en el laberinto de Barnes (latencia, búsqueda en el área objetivo, frecuencia de búsqueda, velocidad y distancia), se evaluaron a través de un análisis de varianza con medidas repetidas (ANOVA MR) de dos vías usando los siguientes factores: tiempo y edad para evaluar el efecto del envejecimiento; tiempo y cirugía para determinar el efecto de la castración; finalmente tiempo y tratamiento para evaluar el efecto de la restitución con T. Como prueba *post hoc* se utilizó Tukey. Asimismo, se realizó un ANOVA MR de una vía para analizar el desempeño de los grupos en los diferentes parámetros a través del tiempo, y en su caso una prueba t para comparar dos grupos específicos.

Para el periodo de retención del laberinto de Barnes, los parámetros se evaluaron con una prueba t para determinar diferencias entre los grupos.

Las estrategias de búsqueda utilizadas por los animales en el periodo de adquisición y retención del laberinto de Barnes, fueron analizadas usando una prueba F de Fisher para determinar el efecto de la edad, de la cirugía y del tratamiento sobre la proporción de animales que realizaron cada estrategia de búsqueda. Asimismo se realizó una prueba F de Fisher para evaluar el uso de las estrategias de búsqueda a través del tiempo, comparando la proporción de animales que utilizaron cada estrategia en el ensayo uno del primer día de adquisición (D1E1) respecto a los demás ensayos de ese mismo periodo (15 ensayos en total).

El análisis estadístico para la prueba de campo abierto se hizo mediante un ANOVA de dos vías con los factores edad (joven y viejo) y tratamiento (intacto, castrado y restituido con T).

Los niveles de T también se analizaron estadísticamente con un ANOVA de dos vías; con los factores edad (joven y viejo) y tratamiento (intacto, castrado y restituido con T).

Todos los datos se expresaron como la media  $\pm$  el error estándar de la media (EEM). Un valor de  $p \leq 0.05$  se consideró como estadísticamente significativo.

## 6. Resultados

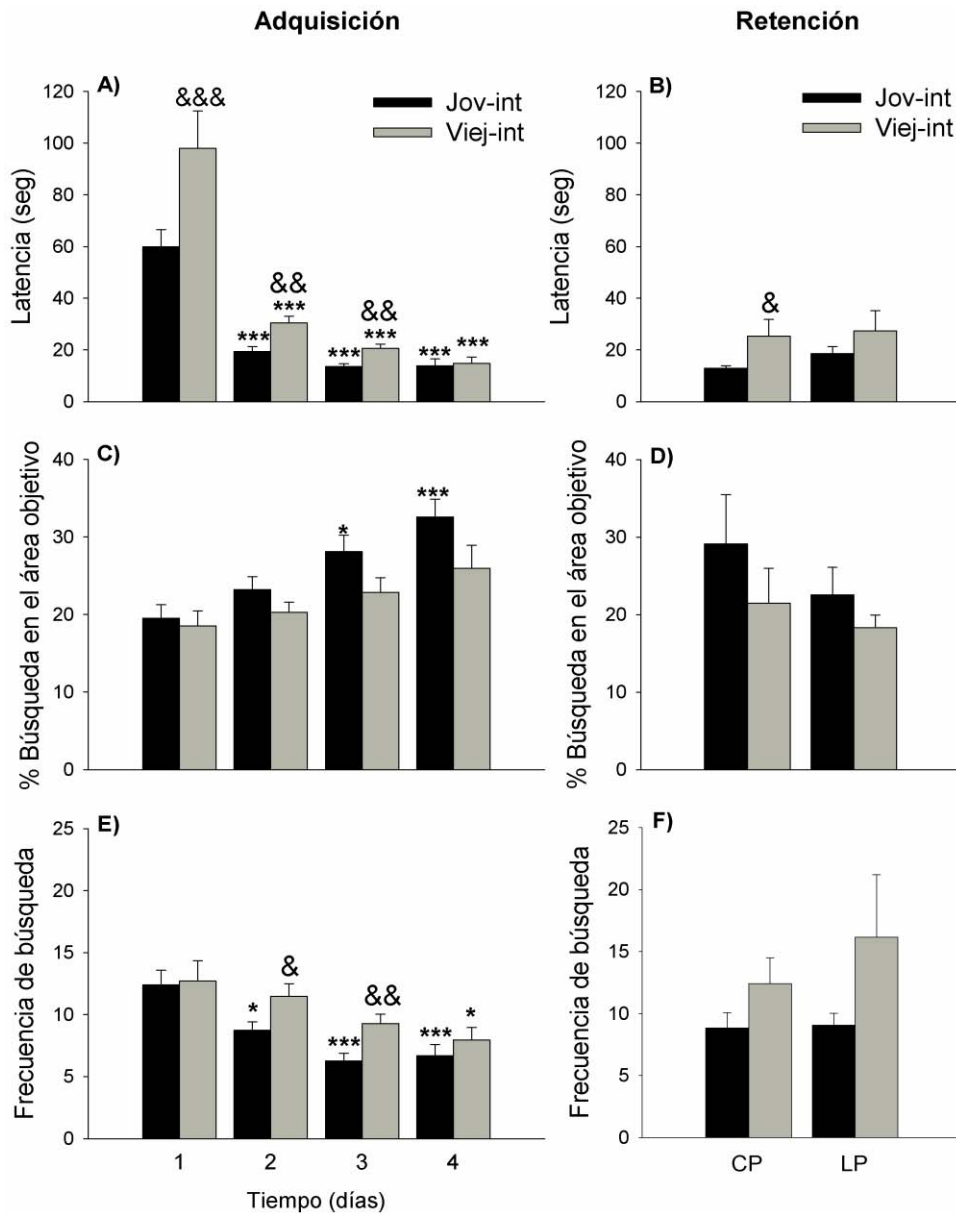
### 6.1 El envejecimiento disminuye el desempeño en el laberinto de Barnes

De acuerdo con la literatura, el envejecimiento se asocia con un deterioro de la memoria espacial, de esta manera se esperaría que, en este estudio, las ratas macho viejas mostraran un desempeño ineficiente en la adquisición y retención del laberinto de Barnes

Al analizar el efecto del envejecimiento en la fase de adquisición, en el parámetro latencia el ANOVA MR de dos vías reveló diferencias significativas determinadas por la edad ( $F_{1,86}=13.632$ ,  $p<0.001$ ), el tiempo ( $F_{3,86}=61.696$ ,  $p<0.001$ ) y la interacción entre ambos factores ( $F_{3,86}=4.593$ ,  $p<0.01$ ). La prueba Tukey indicó que las ratas jóvenes y viejas disminuyeron significativamente este parámetro en el periodo de adquisición (día 2, 3 y 4 vs día 1,  $p<0.001$ , en ambos grupos de edad), el análisis *post hoc* también mostró que las ratas macho viejas tuvieron mayor latencia que las ratas jóvenes para encontrar la cámara de escape en el día 1 ( $p<0.001$ ). La prueba t mostró diferencias entre los grupos de edad, donde las ratas viejas presentaron una mayor latencia que los animales jóvenes en los días 2 y 3 ( $p<0.01$  en ambos casos) de la fase de adquisición (Fig. 13A). En el periodo de retención (Fig.13B), la prueba t señaló que las ratas viejas emplearon más tiempo que las jóvenes para encontrar la cámara de escape en la evaluación de la memoria a corto plazo ( $p<0.05$ ).

En la búsqueda en el área objetivo, el ANOVA MR de dos vías mostró diferencias significativas determinadas por el tiempo ( $F_{3,86}=10.531$ ,  $p<0.001$ ) y la edad ( $F_{1,86}=5.934$ ,  $p<0.05$ ), pero no por la interacción entre factores. El análisis posterior con ANOVA MR de una vía y la prueba Tukey para cada grupo de edad, reveló que sólo las ratas jóvenes ( $F_{3,75}=9.146$ ,  $p<0.001$ ) aumentaron significativamente su búsqueda en el área objetivo o bien su asertividad para encontrar la cámara de escape en los días 3 y 4 ( $p<0.05$  y  $p<0.001$  vs día 1, respectivamente) del periodo de adquisición (Fig. 13C). En el periodo de retención (Fig.13D), no se encontraron diferencias significativas entre los grupos.

En cuanto a la frecuencia de búsqueda (Fig.13E), el ANOVA MR de dos vías indicó diferencias significativas determinadas por el tiempo ( $F_{3,86}=11.811$ ,  $p<0.001$ ) y la edad ( $F_{1,86}=5.560$ ,  $p<0.05$ ) pero no por la interacción entre factores. El análisis posterior con ANOVA MR de una vía y la prueba Tukey para cada grupo de edad reportó que, comparado con el día 1, las ratas jóvenes disminuyeron significativamente ( $F_{3,54}=9.585$ ,  $p<0.001$ ) su frecuencia de búsqueda en el día 2 ( $p<0.05$ ), 3 y 4 ( $p<0.001$ , ambos casos) del periodo de adquisición, mientras que en las ratas viejas la disminución de este parámetro ( $F_{3,33}=4.307$ ,  $p<0.05$ ) fue evidente hasta el último día de aprendizaje ( $p<0.05$ ). Además, la prueba t reveló que las ratas viejas presentaron una mayor frecuencia de búsqueda que las ratas jóvenes en los días 2 ( $p<0.05$ ) y 3 ( $p<0.01$ ) de la fase de adquisición. En el periodo de retención (Fig. 13F), el análisis no presentó diferencias significativas entre los grupos.



*Figura 13.* Efecto del envejecimiento en el aprendizaje y la retención de la memoria espacial en el laberinto de Barnes. Latencia en la etapa de adquisición (A) y retención (B). Búsqueda en el área objetivo en la etapa de adquisición (C) y retención (D). Frecuencia de búsqueda en la etapa de adquisición (E) y retención (F). Los datos se expresan como la media  $\pm$  error estándar de la media (EEM). CP= memoria a corto plazo, LP= memoria a largo plazo. \*\*\*  $p < 0.001$ , \*  $p < 0.05$  vs día 1, &&&  $p < 0.001$ , &&  $p < 0.01$  y &  $p < 0.05$  vs joven.

En resumen, las ratas macho viejas mostraron mayores latencias y menor asertividad para encontrar la cámara de escape, además de un aumento en la frecuencia de búsqueda durante el periodo de aprendizaje en el laberinto de Barnes. De manera similar, en el periodo de retención de la memoria espacial, las ratas viejas presentaron mayor latencia. Estos datos sugieren que el envejecimiento ocasiona un deterioro en el aprendizaje y la retención de la memoria espacial.

## 6.2 Papel de la testosterona en la memoria espacial de ratas macho jóvenes y viejas

Para estudiar la participación de la testosterona en la memoria espacial, se usaron dos aproximaciones: 1) la eliminación de T endógena mediante la castración y 2) la restitución en los niveles de esta hormona a partir de implantes.

- **La castración deteriora el desempeño de los animales jóvenes en la adquisición del laberinto Barnes**

Al evaluar el efecto de la castración en los animales jóvenes, en el parámetro de latencia el ANOVA MR de dos vías sólo indicó una influencia significativa del tiempo sobre este parámetro ( $F_{3,90}=49.333$ ,  $p<0.001$ ). El análisis subsecuente con ANOVA MR de una vía para cada grupo experimental señaló que las ratas jóvenes intactas ( $F_{3,75}=35.534$ ,  $p<0.001$ ) y castradas ( $F_{3,51}=17.251$ ,  $p<0.001$ ) disminuyeron significativamente la latencia para encontrar la cámara de escape conforme avanzaron los días de prueba en la fase de adquisición (día 2, 3 y 4 vs día 1  $p<0.001$ , en todos los casos) (Fig.14A). En el periodo de retención no se encontraron diferencias significativas entre los grupos (Fig. 14B).

Respecto a la búsqueda en el área objetivo, el ANOVA MR de dos vías reveló diferencias significativas determinadas sólo por el tiempo ( $F_{3,90}=7.606$ ,  $p<0.001$ ). El análisis posterior con ANOVA MR de una vía y la prueba Tukey para cada grupo mostró que sólo las ratas jóvenes intactas ( $F_{3,75}=9.146$ ,  $p<0.001$ ) aumentaron significativamente la asertividad para encontrar la cámara de escape en los días 3 y 4 del periodo de adquisición ( $p<0.05$  y  $p<0.001$  vs día 1, respectivamente) (Fig.14C). En el periodo de retención (Fig. 14D) la prueba t no exhibió diferencias entre los grupos.

En cuanto a la frecuencia de búsqueda, el ANOVA MR de dos vías presentó diferencias significativas determinadas sólo por el tiempo ( $F_{3,90}=7.656$ ,  $p<0.001$ ). El análisis posterior mediante un ANOVA MR de una vía y la prueba Tukey para cada grupo experimental, mostró que sólo las ratas jóvenes intactas ( $F_{3,54}=9.585$ ,  $p<0.001$ ) disminuyeron significativamente la frecuencia de búsqueda en el día 2 ( $p<0.05$ ) 3 y 4 ( $p<0.001$ ) de la fase de adquisición (Fig. 14E). Asimismo, la prueba t señaló que las ratas jóvenes castradas tuvieron mayor frecuencia de búsqueda que las jóvenes intactas en el día 3 ( $p<0.05$ ) de este periodo. Por su parte, en el periodo de retención no hubo diferencias significativas en las mediciones (Fig. 14F).

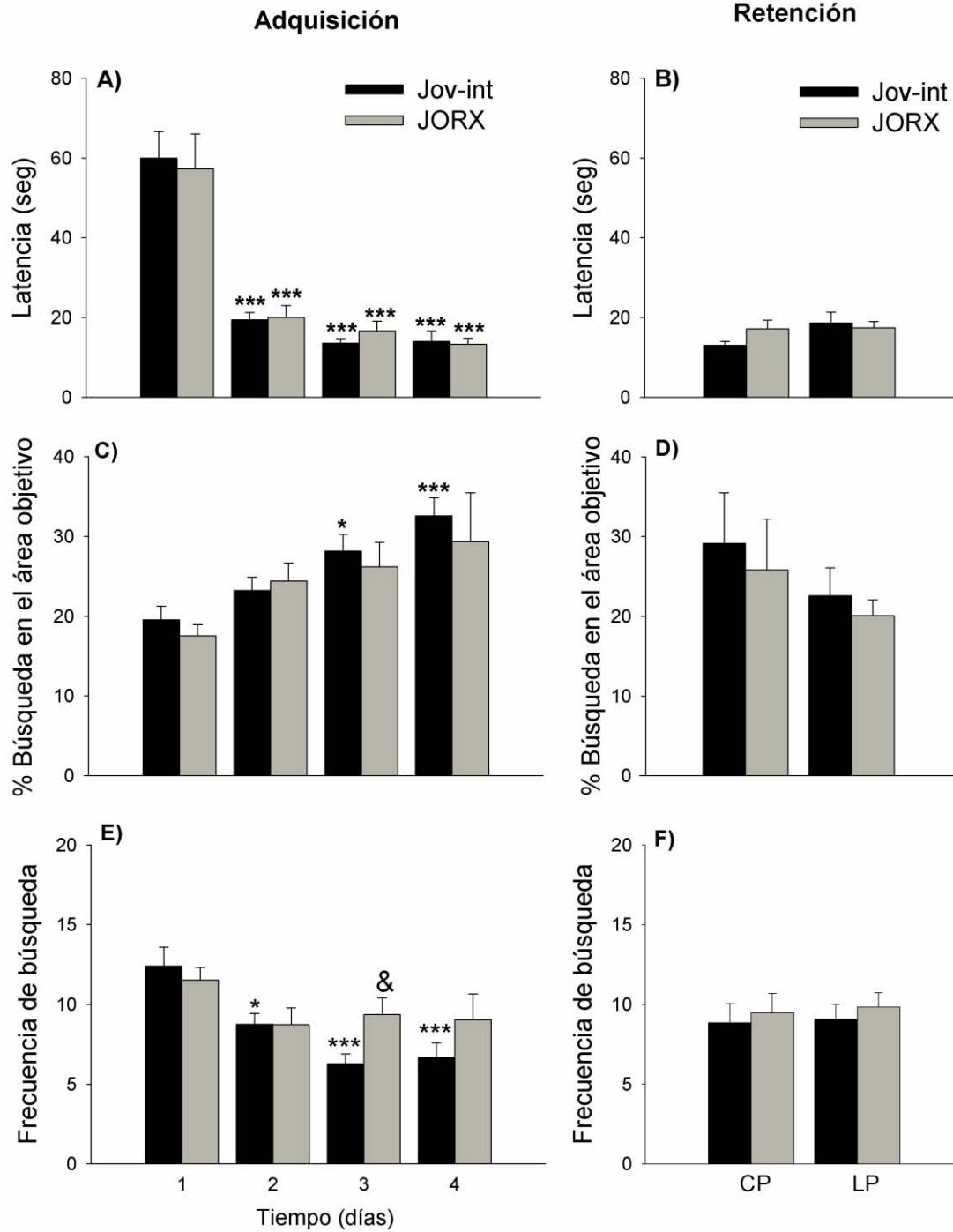


Figura 14. Efecto de la castración en ratas jóvenes durante el aprendizaje y la retención de la memoria espacial en el laberinto de Barnes. Latencia en la etapa de adquisición (A) y retención (B). Búsqueda en el área objetivo en la etapa de adquisición (C) y retención (D). Frecuencia de búsqueda en la etapa de adquisición (E) y retención (F). Los datos se expresan como la media  $\pm$  EEM. CP= memoria a corto plazo, LP= memoria a largo plazo. \*\*\*  $p < 0.001$ , \*  $p < 0.05$  vs día 1. &  $p < 0.05$  vs joven intacto.



- **La castración no afecta el desempeño de los animales viejos en el laberinto de Barnes**

Respecto a la comparación del desempeño de las ratas viejas intactas y castradas en el laberinto, el ANOVA MR de dos vías sólo mostró diferencias significativas determinadas por el tiempo ( $F_{3,63}=45.349$ ,  $p<0.001$ ) en el parámetro de latencia. El análisis posterior con ANOVA MR de una vía y la prueba Tukey para cada grupo experimental, presentó que las ratas viejas intactas ( $F_{3,47}=26.043$ ,  $p<0.001$ ) y castradas ( $F_{3,43}=19.870$ ,  $p<0.001$ ) disminuyeron significativamente la latencia para encontrar la cámara de escape en el periodo de adquisición (día 2, 3 y 4 vs día 1,  $p<0.001$  en ambos grupos) (Fig. 15A). Mientras que en el periodo de retención (Fig. 15B), la prueba t no reportó diferencias significativas entre los grupos.

En relación a la asertividad, el ANOVA MR de dos vías presentó una influencia significativa del tiempo sobre este parámetro ( $F_{3,63}=4.310$ ,  $p<0.01$ ). El análisis posterior con ANOVA MR de una vía para cada grupo, no reportó diferencias significativas en las mediciones en la fase de adquisición (Fig. 15C). En el periodo de retención (Fig. 15D) no se encontraron diferencias significativas en las mediciones.

En el análisis de la frecuencia de búsqueda, el ANOVA MR de dos vías reveló diferencias significativas determinadas sólo por el tiempo ( $F_{3,63}=4.667$ ,  $p<0.01$ ). El análisis posterior con ANOVA MR de una vía y la prueba Tukey para cada grupo experimental, mostró que sólo las ratas viejas intactas ( $F_{3,33}=4.307$ ,  $p<0.05$ ) disminuyeron significativamente la frecuencia de búsqueda en el último día de aprendizaje (día 4  $p<0.05$  vs día 1) (Fig. 15E). Por su parte, en el periodo de retención no hubo diferencias significativas entre los grupos (Fig. 15F).

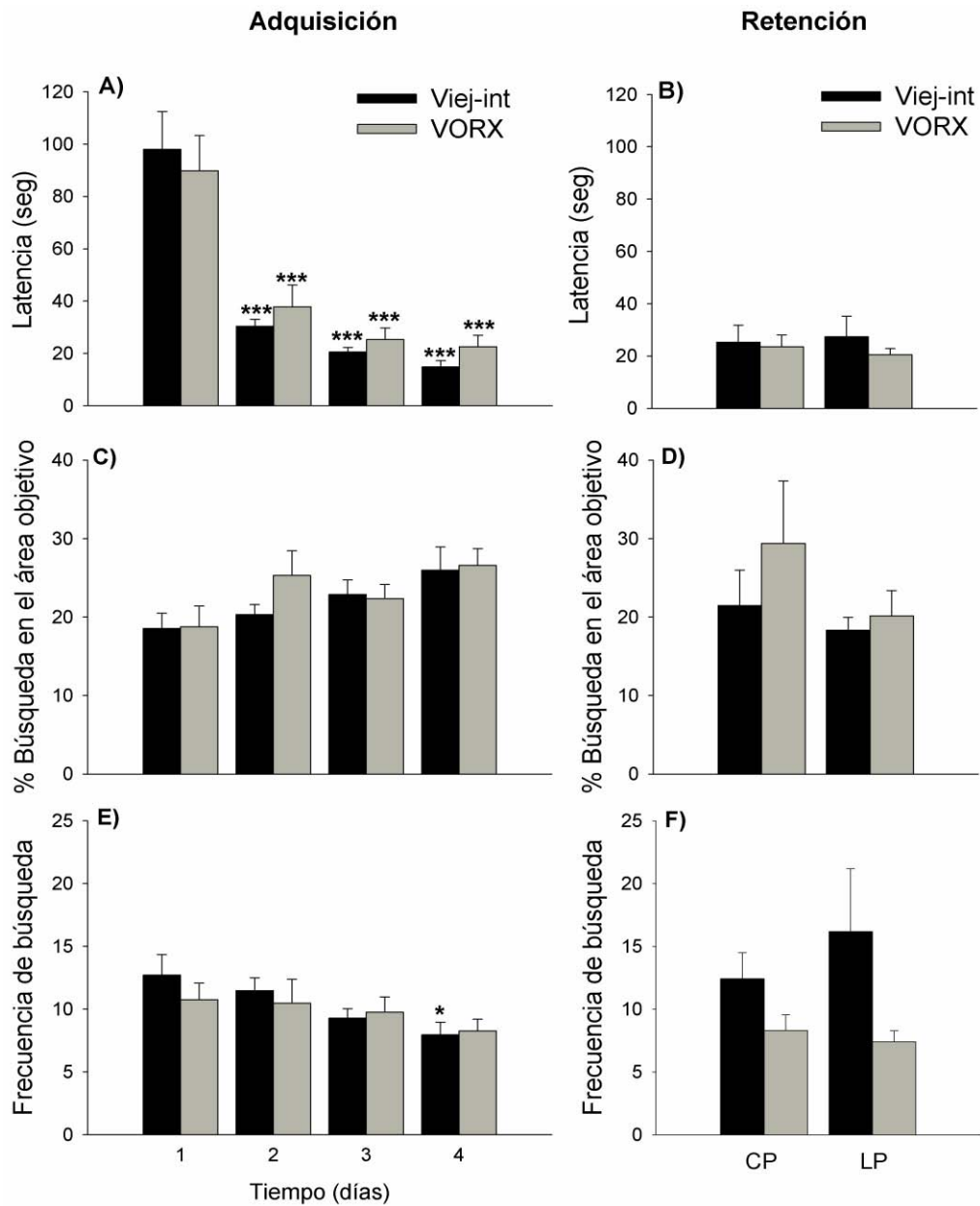


Figura 15. Efecto de la castración en ratas viejas durante el aprendizaje y la retención de la memoria espacial en el laberinto de Barnes. Latencia en la etapa de adquisición (A) y retención (B). Búsqueda en el área objetivo en la etapa de adquisición (C) y retención (D). Frecuencia de búsqueda en la etapa de adquisición (E) y retención (F). Los datos se expresan como la media  $\pm$  EEM. CP= memoria a corto plazo, LP= memoria a largo plazo. \*\*\*  $p < 0.001$  y \*  $p < 0.05$  vs día 1.

Estos resultados indican que la eliminación de hormonas gonadales en machos jóvenes afecta la asertividad o búsqueda en el área objetivo durante el aprendizaje del laberinto de Barnes. Por otra parte, en animales viejos la castración produjo efectos aislados, de esta manera se puede considerar que no afectó el aprendizaje ni la retención de la memoria espacial en el laberinto de Barnes.

- **La restitución con testosterona incrementa el desempeño de las ratas jóvenes castradas en la prueba de memoria a largo plazo en el laberinto de Barnes.**

Al evaluar el efecto de la restitución con T en animales jóvenes castrados, en el parámetro de latencia el ANOVA MR de dos vías presentó diferencias significativas determinadas sólo por el tiempo ( $F_{3,75}=31.082$ ,  $p<0.001$ ).

El análisis posterior con ANOVA MR de una vía y la prueba Tukey para cada grupo experimental, reportó que ambos grupos (castrados:  $F_{3,51}=17.251$ ,  $p<0.001$ , castrados restituidos con T:  $F_{3,55}=14.328$ ,  $p<0.001$ ) disminuyeron la latencia para encontrar la cámara de escape conforme avanzaron los días de prueba en la fase de adquisición (castrados:  $p<0.001$  en los días 2, 3 y 4 vs día 1, castrados restituidos con T:  $p<0.01$  en el día 2 y  $p<0.001$  en los días 3 y 4 vs día 1) (Fig. 16A).

Por su parte, en el periodo de retención (Fig. 16B) no hubo diferencias significativas entre los grupos.

El análisis estadístico no indicó efectos significativos de la restitución con T en la asertividad de los animales jóvenes en el periodo de adquisición (Fig.16C).

Sin embargo, en el periodo de retención (Fig. 16D), la prueba t reveló que el tratamiento hormonal incremento la asertividad de los animales jóvenes castrados en la prueba de memoria a largo plazo ( $p<0.01$ ) pero no en la de corto plazo.

En cuanto a la frecuencia de búsqueda de las ratas jóvenes castradas y castradas restituidas con T, el análisis estadístico no reveló diferencias significativas en las mediciones en la fase de adquisición (Fig.16E) ni en la fase de retención (Fig.16F).

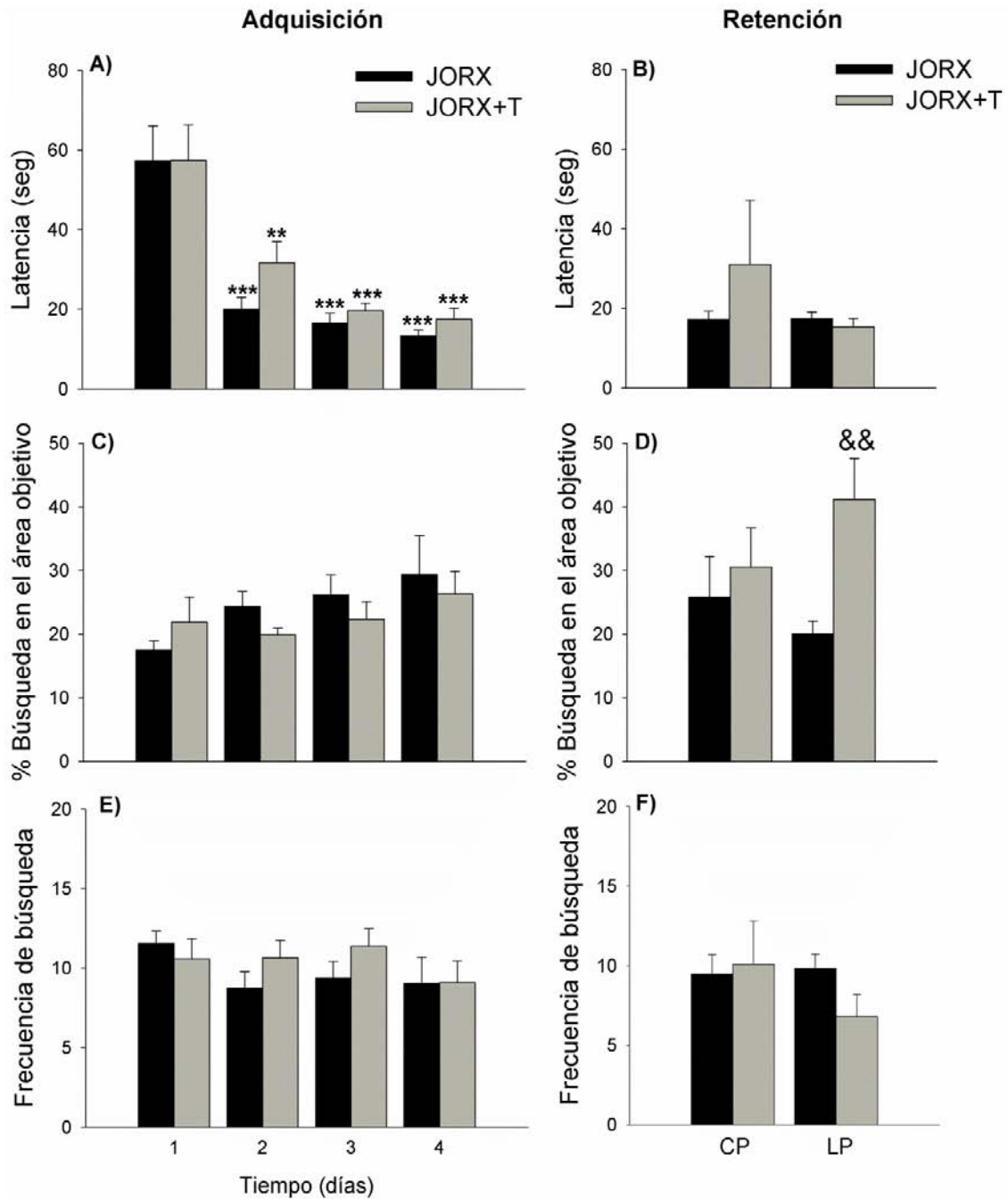


Figura 16. Efecto de la restitución con testosterona en ratas jóvenes castradas durante el aprendizaje y la retención de la memoria espacial en el laberinto de Barnes. Latencia en la etapa de adquisición (A) y retención (B). Búsqueda en el área objetivo en la etapa de adquisición (C) y retención (D). Frecuencia de búsqueda en la etapa de adquisición (E) y retención (F). CP= memoria a corto plazo, LP= memoria a largo plazo. Los datos se expresan como la media  $\pm$  EEM. \*\*\*  $p < 0.001$ , \*\*  $p < 0.01$  vs día 1. &&  $p < 0.01$  vs joven castrado.

- **La restitución con T no afecta el rendimiento de los animales viejos en el laberinto de Barnes**

En cuanto al efecto de la restitución con T en animales viejos, el análisis estadístico del parámetro latencia indicó diferencias significativas determinadas sólo por el tiempo ( $F_{3,63}=49.620$ ,  $p<0.001$ ). El análisis posterior con ANOVA MR de una vía y la prueba Tukey para cada grupo experimental, reveló que los animales viejos castrados ( $F_{3,43}=19.870$ ,  $p<0.001$ ) y los castrados restituidos con T ( $F_{3,47}=30.516$ ,  $p<0.001$ ) disminuyeron significativamente la latencia para encontrar la cámara de escape en los días 2, 3 y 4 ( $p<0.001$  vs día 1) del periodo de adquisición (Fig.17A).

Por su parte, en el periodo de retención (Fig.17B), la prueba t no indicó diferencias significativas en las mediciones.

Respecto a la búsqueda en el área objetivo, el ANOVA MR de dos vías sólo mostró una influencia significativa del tiempo sobre este parámetro ( $F_{3,63}=3.854$ ,  $p<0.05$ ). El análisis posterior con ANOVA MR de una vía para cada grupo, no reportó diferencias significativas en la asertividad durante el periodo de adquisición (Fig.17C).

En el periodo de retención (Fig.17D) el análisis no presentó diferencias significativas entre los grupos.

En la frecuencia de búsqueda, el ANOVA MR de dos vías indicó diferencias significativas determinadas sólo por el tiempo ( $F_{3,63}=3.521$ ,  $p<0.05$ ). El análisis posterior con ANOVA MR de una vía para cada grupo, no reportó diferencias significativas en este parámetro durante la fase de adquisición (Fig. 17E).

En el periodo de retención (Fig. 17F), no se reportaron diferencias significativas en las mediciones.

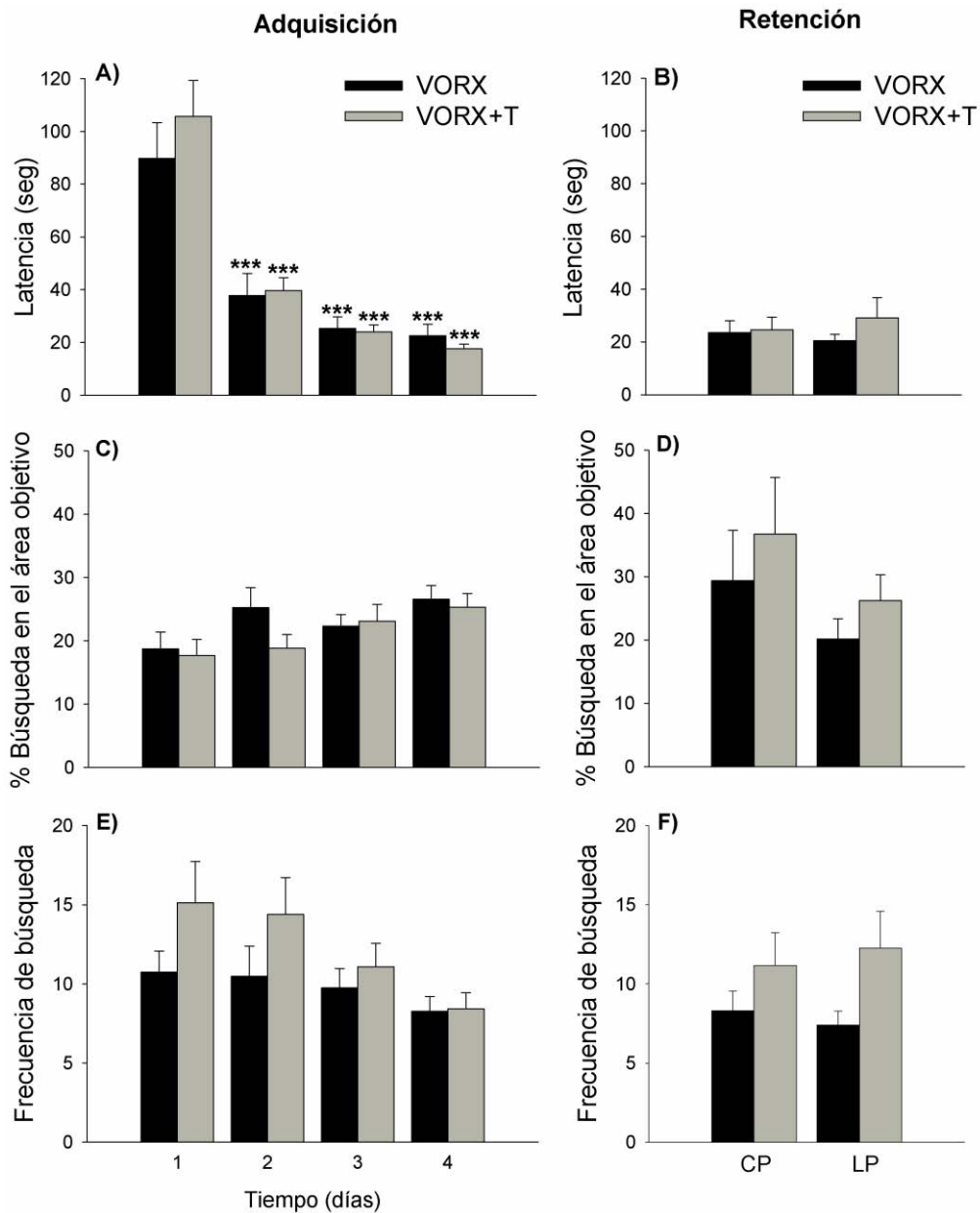


Figura 17. Efecto de la restitución con testosterona en ratas macho viejas castradas durante el aprendizaje y la retención de la memoria espacial en el laberinto de Barnes. Latencia en la etapa de adquisición (A) y retención (B). Búsqueda en el área objetivo en la etapa de adquisición (C) y retención (D). Frecuencia de búsqueda en la etapa de adquisición (E) y retención (F). Los datos se expresan como la media  $\pm$  EEM. CP= memoria a corto plazo, LP= memoria a largo plazo. \*\*\*  $p < 0.001$  vs día 1.

Estos resultados nos muestran que la restitución con T en ratas jóvenes castradas, facilitó la retención de la memoria espacial a largo plazo a través de un aumento en la asertividad para encontrar la cámara de escape. En contraste, el tratamiento con este andrógeno en los machos viejos castrados no afectó el aprendizaje ni la retención de la memoria espacial del laberinto de Barnes.

### 6.3 Estrategias de búsqueda para la resolución del laberinto de Barnes

Se evaluó el efecto del envejecimiento así como de la eliminación y de la restitución con T, en las estrategias de búsqueda para la resolución del laberinto de Barnes utilizadas por los animales, estas se clasificaron en aleatoria, serial y dirigida al objetivo.

Para ello se determinó la estrategia de búsqueda por cada uno de los ensayos (E1 a E4) correspondientes a los cuatro días (D1 a D4) del periodo de adquisición. Se realizó un análisis de proporciones con la prueba F de Fisher en el cual todas las diferencias significativas fueron comparadas contra el ensayo 1 del primer día de adquisición (D1E1) y un valor de  $p < 0.05$ .

- **El envejecimiento disminuye la estrategia espacial dirigida al objetivo**

La mayor parte del grupo de ratas jóvenes (~60%) presentó una búsqueda aleatoria para encontrar la cámara de escape en el primer ensayo de la fase de adquisición del laberinto (Fig. 18A). Esta proporción se redujo a partir del segundo ensayo y permaneció por debajo del 30% en todos los ensayos siguientes del periodo de adquisición. A la par con esta reducción de la búsqueda aleatoria, se presentó un aumento en la proporción de animales jóvenes que emplearon una estrategia serial o dirigida al objetivo para encontrar la cámara de escape. La proporción de sujetos con búsqueda serial alcanzó diferencias significativas en el ensayo 3 y 4 del día 1 y en todos los ensayos del día 2, mientras que en los días 3 y 4 el uso de la estrategia serial disminuyó y la proporción de sujetos que utilizaron la búsqueda dirigida al objetivo se hizo más evidente; esta proporción aumentó conforme avanzaron los días del periodo de adquisición y alcanzó diferencias significativas en el ensayo 1 del día 4.

Al igual que los jóvenes, las ratas viejas también mostraron una alta proporción de animales (70%) que buscaron aleatoriamente la cámara de escape al inicio de la fase de adquisición del laberinto de Barnes (Fig. 18D), esta proporción disminuyó rápidamente a partir del ensayo 3 y 4 del día 1 y prácticamente dejó de ser usada por los animales viejos a partir del día 2 del periodo de adquisición. La disminución en la búsqueda aleatoria ocurrió de forma paralela con un incremento en la proporción de animales que emplearon una estrategia serial, que predominó en el grupo de animales viejos a partir del ensayo 3 y 4 del primer día, así como todos los ensayos en los días 2, 3 y 4 de la fase de adquisición.

Al realizar la comparación con los animales jóvenes, estos resultados indican que la proporción de sujetos que buscan de manera serial la cámara de escape es mayor en los animales viejos, estableciéndose diferencias significativas determinadas por la edad en el ensayo 2 del día 3 y en el ensayo 1 del día 4. Asimismo, se puede destacar que el grupo de ratas viejas, en comparación con las jóvenes, utilizó menos la búsqueda dirigida al objetivo en el aprendizaje de la tarea espacial.

De forma similar, en el periodo de retención se observó que los animales envejecidos no utilizaron la búsqueda dirigida al objetivo y predominó la búsqueda serial. Aunque la mayor parte de las ratas jóvenes también utilizaron la búsqueda serial en la retención del laberinto, una proporción de este grupo empleo la búsqueda dirigida al objetivo.

- **En animales jóvenes la castración disminuye y la restitución con testosterona aumenta la preferencia por la estrategia espacial dirigida al objetivo**

En el primer ensayo del periodo de adquisición del laberinto, la mayor parte de las ratas jóvenes castradas mostró una estrategia de búsqueda serial (50%) para encontrar la cámara de escape y en una proporción menor la búsqueda aleatoria (40%) y la dirigida al objetivo (10%) (Fig.18B). La búsqueda aleatoria disminuyó a partir del segundo ensayo del día 1 y prácticamente dejó de ser empleada por los animales jóvenes castrados en el resto de la fase de adquisición. A la par con esta disminución en la búsqueda aleatoria, se presentó un aumento en la proporción de animales jóvenes castrados que usaron una estrategia serial para localizar la cámara de escape, así la proporción de animales con esta búsqueda alcanzó diferencias significativas en el ensayo 4 del día 1.

Al comparar estos resultados con los obtenidos en los animales jóvenes intactos, estos datos indican que la eliminación de hormonas gonadales ocasionó una rápida disminución en el uso de la búsqueda aleatoria y produjo un incremento en la estrategia de búsqueda serial en la fase de adquisición. En este periodo también se puede observar que las ratas jóvenes intactas y castradas tuvieron una preferencia similar por la búsqueda dirigida al objetivo (Fig. 18 A y B), pero en las ratas jóvenes intactas el incremento de esta estrategia fue más claro, es decir, aumentó conforme avanzaron los ensayos, siendo más evidente en los días 3 y 4 de adquisición del laberinto.

En el periodo de retención de la memoria espacial prácticamente todo el grupo de animales jóvenes castrados utilizó la búsqueda serial en comparación con los animales jóvenes intactos que además de usar esta estrategia (Fig.18A), mostraron un incremento en la proporción de sujetos con búsqueda dirigida al objetivo.

Respecto al grupo de jóvenes castrados restituidos con T, la figura 18C muestra que realizaron una búsqueda aleatoria (~60%) para encontrar la cámara de escape en el primer ensayo del periodo de adquisición del laberinto de Barnes. Esta proporción se redujo a partir del ensayo 2 del día 1, permaneció por debajo del 20% de los animales en todos los ensayos del día 2 y prácticamente dejó de ser usada por los animales a partir del día 3 del periodo de adquisición. A la par con la disminución de la búsqueda aleatoria, se presentó un aumento en la proporción de animales que usaron una búsqueda serial o dirigida al objetivo para encontrar la cámara de escape. La proporción de animales con búsqueda serial aumentó en los ensayos 2 y 3 del día 1, se mantuvo constante en los ensayos del día 2 y volvió a incrementar en los ensayos 2, 3 y 4 del día 3 así como en los



primeros 2 ensayos del día 4. Aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas, los datos sugieren un incremento en la proporción de animales que utilizaron la búsqueda dirigida al objetivo conforme avanzaron los días del periodo de adquisición, siendo más evidente en los últimos ensayos del día 4.

Al evaluar el efecto del tratamiento con T en las estrategias de búsqueda utilizadas por los animales jóvenes castrados, se observó tanto en animales castrados sin restitución como en los restituidos con T, una transición similar de la búsqueda aleatoria a la estrategia de búsqueda serial, así como en la proporción de animales que tuvieron preferencia por la búsqueda dirigida al objetivo en el periodo de adquisición (Fig. 18 B y C).

Por su parte, en el periodo de retención de la memoria espacial, aunque la prueba F de Fisher no reportó diferencias significativas entre los grupos, los datos sugieren que el tratamiento con T facilitó la búsqueda dirigida al objetivo en la evaluación de la memoria a largo plazo (Fig. 18 B y C), lo cual es consistente con el aumento en la asertividad para encontrar la cámara de escape durante esta evaluación.

- **En animales viejos la castración aumenta la búsqueda aleatoria y la restitución con testosterona aumenta la búsqueda serial en el laberinto de Barnes**

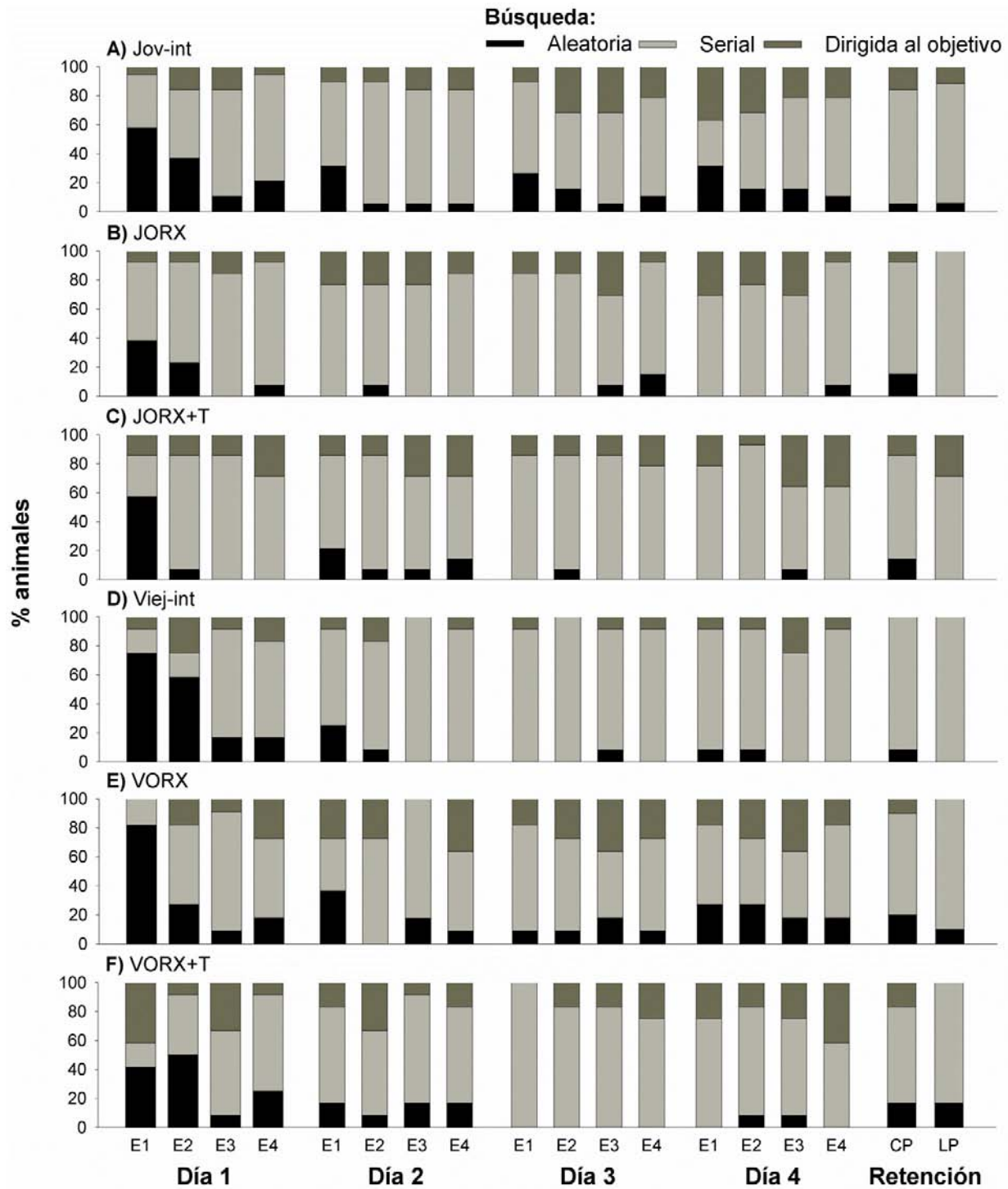
Al evaluar el efecto de la castración en las estrategias de búsqueda utilizadas por los animales viejos, se puede observar en la figura 18E que la mayor parte de estos animales (80%) mostró una búsqueda aleatoria para encontrar la cámara de escape en el primer ensayo de adquisición del laberinto. Esta proporción disminuyó (a 20%) en los ensayos siguientes del día 1 y se mantuvo así en los ensayos restantes del periodo de adquisición. De forma paralela, se presentó un incremento en la proporción de animales viejos castrados que emplearon una estrategia serial o dirigida al objetivo para ubicar la cámara de escape. Al respecto, la proporción de sujetos con búsqueda serial incrementó significativamente en el ensayo 3 del día 1, en el ensayo 2 y 3 del día 2 y en el ensayo 1 del día 3, mientras que en el día 4 la búsqueda serial se redujo y la proporción de sujetos con preferencia a la búsqueda dirigida al objetivo se hizo más evidente.

Al comparar estos resultados con los obtenidos en las ratas viejas intactas, se observó que la castración ocasionó que una proporción considerable de animales (~20%) fuera incapaz de generar una estrategia para encontrar la cámara de escape y continuaron buscándola de manera aleatoria (Fig. 18 D y E). Además, la prueba F de Fisher indicó que la proporción de animales que realizaron una búsqueda serial fue mayor en las ratas viejas intactas respecto a las castradas en el ensayo 2 del día 3. En el periodo de retención, las ratas viejas castradas además de emplear la estrategia de búsqueda serial, una proporción considerable (~20%) buscó aleatoriamente la cámara de escape, mientras que las ratas viejas intactas mostraron una mayor preferencia por la estrategia de búsqueda serial.

Los animales viejos restituidos con T, presentaron una mayor proporción de búsqueda aleatoria (40%) o dirigida al objetivo (40%) para encontrar la cámara de escape (Fig.18F) en el primer ensayo del periodo de adquisición. La proporción de animales que utilizaron la búsqueda aleatoria disminuyó progresivamente en los días 1 y 2, mientras que en todos los ensayos de los días 3 y 4 dejó de ser utilizada por este grupo. A la par se mostró un aumento en la proporción de animales que usaron una estrategia serial o dirigida al objetivo. En relación a esto, la proporción de sujetos con búsqueda serial aumentó a partir del ensayo 4 del día 1 y se mantuvo arriba del 60% en todos los ensayos de los días 2, 3 y 4 del periodo de adquisición. Asimismo, conforme avanzaron los días de este periodo, una proporción de estos animales mostró preferencia por la búsqueda dirigida al objetivo en los días 3 y 4, alcanzando diferencias significativas en el ensayo 1 del día 3.

Al comparar estos resultados con los obtenidos en los animales viejos castrados que no recibieron la restitución de T (Fig. 18E), se observó que el tratamiento con T redujo la búsqueda aleatoria y favoreció la búsqueda serial en la fase de adquisición. Además, en la búsqueda dirigida al objetivo, la prueba F de Fisher indicó que, en el primer ensayo del aprendizaje del laberinto de Barnes, la preferencia por esta estrategia fue mayor en el grupo de animales viejos restituidos con T que en los animales sin restitución.

En el periodo de retención de la memoria espacial, tanto los animales viejos sin restitución como los restituidos con T utilizaron en proporción similar la estrategia de búsqueda serial.



*Figura 18.* Estrategias de búsqueda utilizadas por los grupos experimentales para encontrar la cámara de escape en el laberinto de Barnes. Animales jóvenes A) intactos (Jov-int), B) castrados (JORX) y C) castrados restituidos con T (JORX+T). Animales viejos D) intactos (Viej-int), E) castrados (VORX) y F) castrados restituidos con T (VORX+T). Estrategias de búsqueda: aleatoria (color negro), serial (gris claro) y dirigida al objetivo (gris oscuro). E= ensayo, CP= prueba de memoria a corto plazo. LP=evaluación de memoria a largo plazo.

## 6.4 El envejecimiento disminuye la actividad locomotora

Con el objetivo de detectar la presencia de alteraciones en la actividad locomotora (inducidas por la edad, la castración o el tratamiento hormonal), que pudieran afectar el rendimiento de los roedores en el laberinto de Barnes, se realizó la prueba de campo abierto. En esta se registraron los movimientos totales o ambulatorios de los animales (Fig.19). El análisis estadístico con ANOVA de dos vías indicó diferencias significativas determinadas por la edad ( $F_{1,57}=14.741$ ,  $p<0.001$ ). La prueba Tukey indicó que los grupos de animales viejos presentaron menor número de movimientos ambulatorios en comparación con los grupos de jóvenes ( $p<0.001$ ). Por su parte, la castración y el tratamiento hormonal con implantes no afectaron la actividad locomotora de los animales.

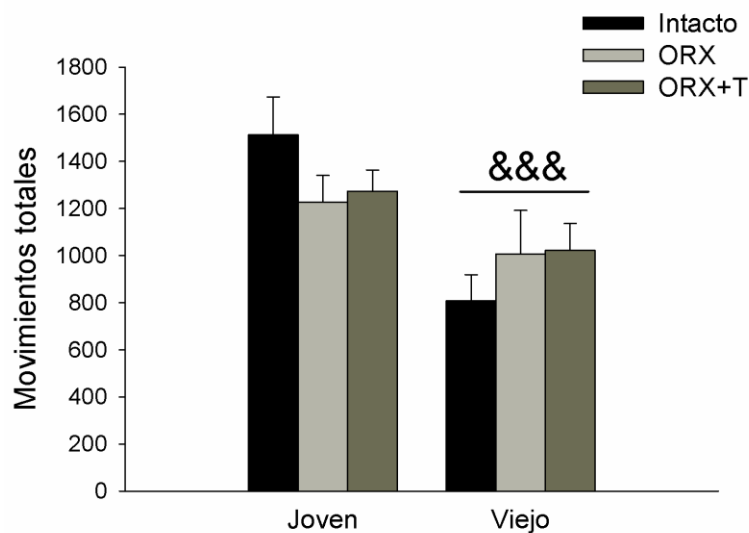


Figura 19. Evaluación de la actividad locomotora en la prueba de campo abierto. La gráfica muestra el número de movimientos totales realizados por los diferentes grupos experimentales. Los datos se expresan como la media  $\pm$  EEM. &&&  $p<0.001$  vs joven.

## 6.5 El tratamiento con implantes fue eficiente para restituir los niveles de T en los animales jóvenes y viejos castrados

Los niveles de T se analizaron mediante un ANOVA de dos vías, con los factores edad (joven y viejo) y tratamiento (intacto, castrado y castrado restituido con T).

El análisis estadístico con ANOVA de dos vías indicó diferencias significativas determinadas por el tratamiento ( $F_{2,41}=9.550$ ,  $p<0.001$ ) y por su interacción con la edad ( $F_{2,41}=3.280$ ,  $p<0.05$ ). La prueba Tukey indicó que los animales viejos intactos presentaron niveles más bajos de T que las ratas jóvenes intactas ( $p<0.05$ ). El análisis *post hoc* también indicó que la castración redujo significativamente los niveles de T en los animales jóvenes ( $p<0.01$ ) pero no en viejos y que el tratamiento con implantes de T incrementó los niveles de esta hormona en los animales castrados jóvenes ( $p<0.05$ ) y viejos ( $p<0.01$ ).

Con estos datos se comprueba la eficacia del tratamiento con implantes para restituir los niveles de T en animales castrados a niveles similares de un animal joven intacto (Fig.20).

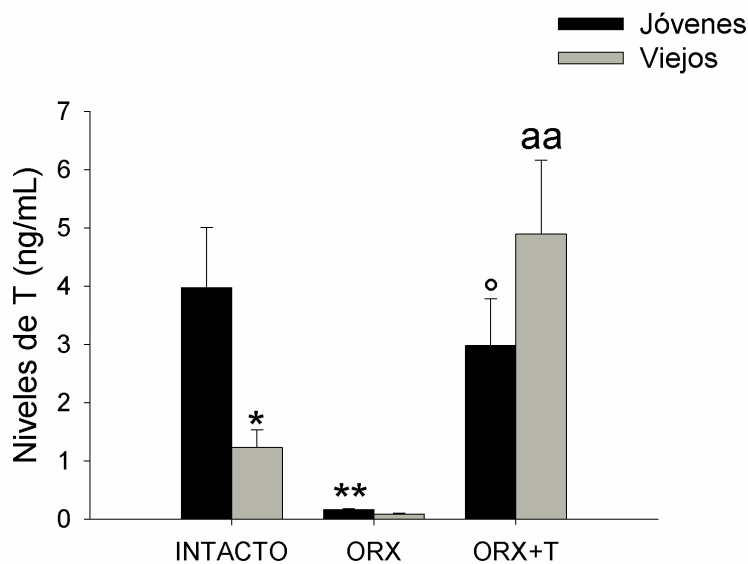


Figura 20. Medición de los niveles de testosterona. La gráfica muestra los niveles de T (en ng/mL) de los animales jóvenes y viejos: intactos, castrados (ORX) y castrados restituidos con T (ORX+T). Los datos se expresan como la media  $\pm$  EEM. \*  $p<0.05$ , \*\*  $p<0.01$  vs joven intacto, °  $p<0.05$  vs joven castrado, aa  $p<0.01$  vs viejo castrado.

## **7. Discusión**

Es importante mencionar que hasta donde tenemos conocimiento, este es el primer estudio que utiliza la búsqueda en el área objetivo y la frecuencia de búsqueda como parámetros que evalúan la memoria espacial en roedores jóvenes y viejos en la prueba de laberinto de Barnes, el primero de ellos refleja la asertividad de los animales para encontrar la cámara de escape y el segundo indica la eficacia de los roedores en la búsqueda del objetivo. Además, estos parámetros resultaron efectivos para estudiar el deterioro cognitivo dependiente del envejecimiento.

En el presente trabajo también se evaluó si los animales fueron capaces de usar las claves espaciales para resolver el laberinto, esto se indicó mediante el desarrollo de estrategias de búsqueda. Así, la búsqueda aleatoria indicó que los animales no aprendieron la tarea. La búsqueda serial es una estrategia no espacial donde el animal explora de forma consecutiva los agujeros hasta encontrar la cámara de escape. Finalmente, la búsqueda dirigida al objetivo es una estrategia espacial que refleja un aprendizaje óptimo de la tarea, el animal identifica eficientemente la ubicación de la cámara de escape en relación a las claves espaciales (Illouz et al., 2016).

### **7.1 El envejecimiento deteriora el aprendizaje y la memoria espacial**

En el presente estudio se encontró que, durante el aprendizaje espacial en el laberinto de Barnes, los animales viejos tardaron más tiempo que los jóvenes en encontrar la cámara de escape, este hallazgo coincide con la incapacidad de los animales viejos para mejorar la búsqueda en el área objetivo y con visitas a un mayor número de hoyos antes de encontrar la cámara de escape. De manera similar, en el periodo de retención de la memoria espacial, las ratas viejas presentaron mayor latencia. Estas evidencias sugieren que el envejecimiento ocasiona un aprendizaje más lento y deteriora la retención de la información espacial en el laberinto de Barnes.

Los resultados de este trabajo son consistentes con otros estudios en ratas macho viejas, que muestran que estos sujetos tienen un deterioro en el aprendizaje de la ubicación de la cámara de escape (Barnes 1979, Barnes y McNaughton; 1985), en el aprendizaje reverso, es decir, cuando se modifica la asociación existente entre las claves espaciales y la ubicación de la cámara de escape (Barnes, 1979), así como en la retención de la memoria espacial en el laberinto de Barnes (Barnes et al., 1980). Estas evidencias en conjunto muestran que los organismos envejecidos tienen un deterioro en el procesamiento de la información espacial.

Este deterioro asociado al envejecimiento también se ha descrito en la memoria de trabajo y en la memoria de referencia espacial (Bizon et al., 2009) cuando se evalúan en otras tareas conductuales, como el laberinto radial de 8 brazos (Barnes et al., 1980; Wallace et al., 1980; de Toledo-Morrell, Morrell y Fleming, 1984), el laberinto radial

acuático (Bimonte-Nelson et al., 2003), el laberinto acuático de Morris (Gage et al., 1984; Rapp et al., 1987) y el laberinto en T (Barnes et al., 1980).

Los resultados del presente trabajo también son consistentes con varios estudios clínicos que reportan que el envejecimiento en el hombre afecta la función hipocampal, manifestada por un deterioro en la habilidad espacial, en donde los hombres viejos presentan un bajo desempeño en tareas que involucran la formación y uso de mapas cognitivos (Newman y Kasznaik, 2000; Iaria, Palermo, Comitteri y Barton, 2009).

Otro resultado interesante que se encontró en este estudio fue que en los animales viejos predomina la búsqueda serial para encontrar la cámara de escape. Esta forma de navegación no espacial aumentó la eficacia de los animales viejos para resolver el laberinto, resultando en una disminución de la latencia al avanzar los días de prueba, sin embargo, estos animales fueron incapaces de generar una búsqueda dirigida al objetivo; en contraste, una proporción importante de sujetos jóvenes utilizó esta estrategia espacial durante las fases de adquisición y retención, estos datos sugirieron una mayor habilidad de los sujetos jóvenes para utilizar las claves espaciales en la resolución de la tarea y que el envejecimiento ocasiona un deterioro en la generación de representaciones espaciales, lo que los limita al uso de la estrategia serial.

Estos resultados se pueden explicar en función del procesamiento y organización de la información espacial aprendida. Se sabe que estos procesos se llevan a cabo mediante dos estrategias de orientación: por un lado se encuentra la estrategia aloécéntrica dependiente del hipocampo, los roedores la utilizan al memorizar una ubicación objetivo (ej. la cámara de escape) en relación a claves espaciales de referencia (Carrillo-Mora et al., 2009), lo cual sería similar a realizar una búsqueda dirigida al objetivo. Por otro lado, la orientación egocéntrica subyace en el núcleo caudado y es dependiente de la posición del cuerpo en el espacio, es decir que una ubicación objetivo se define en relación a la posición del sujeto en el ambiente y no por claves espaciales (Carrillo-Mora et al., 2009).

Considerando lo anterior, existen investigaciones que reportan que el envejecimiento deteriora el procesamiento de la información espacial aloécéntrica, tanto en roedores (Begega et al., 2001) como en humanos (Colombo et al., 2017), lo que conduce a un mayor uso de estrategias egocéntricas. De este modo, dichas evidencias respaldan la idea de que los animales viejos, debido a la incapacidad de representar la información espacial en mapas cognitivos, modifican sus estrategias de navegación espacial por métodos extrahipocampales o egocéntricos, que en el presente trabajo se reflejó como el uso predominante de una estrategia serial en los sujetos viejos para resolver el laberinto.

Debido a que la T modula positivamente la plasticidad cerebral mediante efectos específicos en la estructura y función hipocampal, uno de los enfoques para explicar las deficiencias cognitivas en el envejecimiento es la reducción de los niveles de T en los sujetos viejos. En el presente trabajo esta hipótesis se abordó usando dos

aproximaciones: la eliminación de T endógena mediante la castración y la restitución de los niveles de esta hormona utilizando implantes.

## **7.2 La deficiencia de testosterona en animales jóvenes afecta el aprendizaje pero no la retención de la memoria espacial en el laberinto de Barnes**

La castración ocasionó que los animales jóvenes no fueran capaces de aumentar su asertividad a través de los ensayos y tampoco modificaron su frecuencia de búsqueda, en las estrategias de búsqueda, la castración disminuyó la búsqueda dirigida al objetivo, todo esto en la fase de adquisición. A pesar de ello, en la retención de la memoria espacial no se presentaron diferencias significativas en el rendimiento de los animales jóvenes castrados en relación a los jóvenes intactos.

Los resultados sugieren que, en línea con la hipótesis de este trabajo, la ausencia de T en animales jóvenes deteriora algunos aspectos de la memoria espacial, viéndose afectada la asertividad y la capacidad de generar una estrategia espacial para resolver el laberinto.

Estas deficiencias cognitivas de los animales jóvenes, contrastan con otros estudios que indican que la eliminación de hormonas gonadales en machos jóvenes no afecta la preferencia por estrategias espaciales o alocéntricas, cómo lo reporta un estudio previo donde los machos intactos presentaron una fuerte tendencia a utilizar estrategias alocéntricas y que la eliminación de hormonas gonadales, aunque disminuyeron el aprendizaje, no modificaron la preferencia por esta estrategia espacial (Hawley, Grissom, Barratt, Conrad y Dohanich, 2012). Aquí, las diferencias en los resultados se pueden atribuir al tipo de tarea utilizada, ya que en el estudio referido utilizaron el laberinto en T acuático, lo que implica el uso de motivación aversiva (estrés por nado) que pudo haber acelerado la transición de una estrategia egocéntrica a una alocéntrica, es decir, que esta respuesta pudo haber ocurrido independientemente de la ausencia hormonas testiculares. Por otro lado, y en contraste con los resultados del presente estudio, en el laberinto de Barnes (que no involucra la generación de estrés), la eliminación de hormonas gonadales en machos jóvenes sólo ocasiona una transición lenta de la búsqueda aleatoria a la estrategia serial y de esta hacia una búsqueda dirigida al objetivo (Locklear y Kritzer, 2014).

El hecho de que en este estudio las ratas jóvenes castradas presentaran un rendimiento menor que los jóvenes intactos en el periodo de aprendizaje pero no en la fase de retención de la memoria espacial en el laberinto de Barnes es consistente con estudios que señalan que la castración en ratas jóvenes genera un aprendizaje lento en tareas de memoria espacial, pero después de un entrenamiento suficiente, los animales castrados alcanzan el desempeño de los intactos, aunque esto se reportó en el laberinto acuático de Morris (Spritzer et al., 2007; 2011) y en el laberinto radial (Daniel et al., 2003; Gibbs y Johnson, 2008).



Sin embargo, los resultados de este trabajo contrastan con otro estudio que reportó que la castración en animales jóvenes, también deteriora la retención de la información espacial en el laberinto de Barnes (Locklear y Kritzer, 2014), este contraste se puede explicar por diferencias en el protocolo utilizado ya que en el estudio mencionado, los animales sólo recibieron dos días de aprendizaje de la tarea y la retención de la memoria espacial se realizó a los cinco días después, mientras que en el presente estudio, el periodo de adquisición del laberinto fue de cuatro días y la retención de la memoria espacial se evaluó a los tres (memoria a corto plazo) y doce (memoria a largo plazo) días después de finalizar la adquisición del laberinto. A partir de estos estudios se puede sugerir que los efectos de la castración sobre la memoria espacial disminuyen cuando se emplea un mayor periodo de aprendizaje.

En este estudio, la evaluación de la memoria de referencia se realizó con el parámetro de frecuencia de búsqueda, el cual indica el número de visitas totales en los agujeros incorrectos, lo que corresponde a los errores en la memoria de referencia. Así, a mayor frecuencia de búsqueda, mayor será el deterioro en esta memoria. Considerando esta asociación, es posible mencionar que en el presente trabajo la reducción en los niveles de T mediante la castración, afectó la memoria de referencia espacial en los animales jóvenes durante el aprendizaje del laberinto de Barnes. Estos resultados son consistentes con estudios que muestran que la castración en animales jóvenes deteriora la memoria de referencia espacial en el aprendizaje del laberinto de Barnes (Locklear y Kritzer, 2014) y en otras tareas como el laberinto en T (Kritzer et al., 2001) y el condicionamiento operante (van Hest, van Kempen, van Haaren y van de Poll, 1988).

Por otra parte, el hecho de que en el presente estudio los animales jóvenes castrados mostraran un rendimiento similar a los jóvenes intactos en la fase de retención de la memoria espacial, se podría explicar por la presencia de mecanismos compensadores que responden a las alteraciones en alguno de sus componentes (McEwen et al., 2010). En este contexto existen reportes que indican que la deficiencia de andrógenos a largo plazo no afecta la memoria espacial (Hou, Bao, Wei, Luo y Liu, 2011) y tampoco otras funciones relacionadas, como la actividad locomotora, conducta de ansiedad, anhedonia o conducta social (Borbelyova et al., 2016). En función con los resultados de este trabajo es posible que la castración en ratas jóvenes no perjudicara la retención de la memoria espacial en el laberinto de Barnes debido a la presencia de alternativas fisiológicas capaces de contrarrestar la ausencia de T y evitar el deterioro en la memoria.

### **7.3 La castración en animales viejos no afecta el aprendizaje ni la memoria espacial en el laberinto de Barnes**

En animales viejos, la castración no modificó la latencia ni la asertividad, mientras que si previno la reducción de la frecuencia de búsqueda en último día del periodo de aprendizaje. De forma similar, en el periodo de retención la castración no modificó el desempeño de los animales viejos (en ningún parámetro evaluado). Aunque la castración tuvo efectos aislados, estos resultados indican que la eliminación de T endógena en los animales viejos no afecta el aprendizaje ni la retención de la memoria espacial en el laberinto de Barnes, posiblemente por las alteraciones relacionadas con la disminución en los niveles de T que ya presentaban estos animales.

Sin embargo, en las estrategias de búsqueda la castración ocasionó que una proporción considerable de los animales viejos buscara aleatoriamente la cámara de escape tanto en el periodo de aprendizaje como en la retención de la memoria espacial en el laberinto. Estos datos sugieren que la T es capaz de modular el procesamiento egocéntrico y aloecéntrico de la información espacial en el envejecimiento; esto también indica que, aunque son bajos, los niveles de T en sujetos viejos favorecen en cierta medida el aprendizaje espacial. En soporte con esta idea, existen algunos reportes clínicos en hombres viejos (de 60 años), donde los niveles de T y el uso de estrategias aloecéntricas se relacionan de forma positiva (Choi y Silverman, 2002).

### **7.4 La restitución con testosterona en ratas jóvenes castradas incrementa la memoria espacial a largo plazo en el laberinto de Barnes**

En el presente trabajo, el tratamiento con T no afectó el desempeño de los animales jóvenes castrados en el aprendizaje del laberinto de Barnes. En cambio, en el periodo de retención, el tratamiento con T aumentó la asertividad y la búsqueda dirigida al objetivo en la prueba de memoria a largo plazo, sugiriendo un papel positivo de la T en la retención de la información espacial.

De acuerdo con los resultados de este estudio, se ha reportado que la restitución de los niveles de T (usando implantes) a un rango fisiológico en animales jóvenes castrados, mejora la memoria espacial en tareas que no involucran estresores intensos (demanda de actividad física importante o privación de alimento) para su resolución. Hay estudios que muestran que el tratamiento con implantes de T en animales jóvenes castrados, favorece la búsqueda dirigida al objetivo e incrementa el aprendizaje y memoria espacial en el laberinto de Barnes (Locklear y Kritzer, 2014). Este tratamiento también incrementa la memoria de reconocimiento espacial en el laberinto en Y (Hawley et al., 2013) y la memoria de trabajo espacial en la tarea de localización de objetos (McConnell et al., 2012).

Los resultados de este trabajo indican que la restitución con T facilita la retención de la memoria espacial a largo plazo pero no la de corto plazo. Estos resultados coinciden con otros estudios donde los implantes de T en animales jóvenes castrados favorecen la retención de la memoria espacial a intervalos de tiempo grandes, es decir, cuando hay un mayor tiempo de descanso entre el periodo de adquisición y retención, esto se ha observado en el laberinto de Barnes (Locklear y Kritzer, 2014), el laberinto en Y (Hawley et al., 2013), la tarea de localización de objetos (McConnell et al., 2012) y el laberinto acuático de Morris (Sandstrom et al., 2006) respaldando el papel del tratamiento con implantes de T en la retención de la memoria espacial a largo plazo en animales jóvenes castrados.

### **7.5 La restitución con testosterona en animales viejos no afecta el aprendizaje ni la memoria espacial**

El tratamiento con T no afectó la memoria espacial de los animales viejos castrados en la fase de adquisición y retención del laberinto de Barnes, sólo en las estrategias de búsqueda, la restitución con T incrementó la búsqueda serial en el aprendizaje pero no en la retención de la memoria espacial.

De esta manera, aunque el tratamiento con T facilitó la búsqueda serial para resolver el laberinto, los resultados indican que no afecta la memoria espacial de los animales viejos, sugiriendo también que el deterioro de este dominio cognitivo en el envejecimiento no parece estar asociado con los cambios en la concentración de hormonas de origen gonadal.

El efecto de la restitución con T en la memoria espacial de animales viejos sólo se ha reportado en otro estudio y difícilmente se puede comparar con los resultados del presente trabajo por diferencias en el modelo animal utilizado y la condición endócrina de los sujetos envejecidos. En dicho estudio, Bimonte-Nelson et al., (2003), reportó que el tratamiento con implantes de T en ratas viejas gonadalmente intactas mejora la retención de la memoria de trabajo en el laberinto radial acuático de 12 brazos, (Bimonte-Nelson et al., 2003). A diferencia del laberinto de Barnes, el laberinto radial acuático somete a los animales viejos a un estrés por nado que demanda mucho esfuerzo físico y aumenta significativamente los niveles de corticosterona en plasma, lo que puede comprometer el rendimiento de los roedores, además, esa tarea presenta una mayor dificultad de aprendizaje en términos de la demanda en la memoria de trabajo y de referencia espacial. A pesar de estas características que podrían dañar el rendimiento de los animales envejecidos, y contrario a los resultados del presente trabajo, el tratamiento con T mejoró la memoria de trabajo espacial en esta prueba. Aunque no puede haber una comparación estricta de este estudio con el presente trabajo, esta evidencia abre la posibilidad de que la restitución con T pueda funcionar diferente en el animal envejecido dependiendo si está

gonadalmente intacto o no, esto es, existe la posibilidad de que la presencia de gónadas en animales viejos represente una ventaja importante (quizás en la regulación endócrina) cuando se restituye con T al animal envejecido. Se conoce poco al respecto y esta hipótesis necesita probarse, en función a esto sería interesante evaluar si el tratamiento con T (a partir de los implantes de 1cm), revierte el deterioro en la memoria espacial de ratas viejas intactas en el laberinto de Barnes.

Los resultados de este trabajo también contrastan con algunos estudios clínicos que muestran que el tratamiento con T en hombres viejos mejora la memoria espacial (Janowsky et al 1994; 2000; Cherrier et al., 2001; 2005a; Gray et al., 2005), no obstante, al igual que en modelos animales, los estudios clínicos son poco concluyentes debido a que intervienen muchos factores en esta relación (entre ellos la edad de los participantes, el estado cognitivo, la severidad de hipogonadismo, la vía de administración, así como la duración y dosis del tratamiento), que pueden oscurecer la asociación entre la memoria espacial y la T (Celec, Ostatníková y Hodosy, 2015; Hua, Hildreth, y Pelak, 2016).

## **7.6 Los efectos de la testosterona en la memoria espacial son dependientes de la edad**

Los datos del presente trabajo sugieren que los efectos de la castración y del tratamiento con T sobre la memoria espacial son dependientes de la edad, esta idea se sustenta en el hecho de que la castración disminuyó el aprendizaje espacial de los animales jóvenes pero no tuvo efecto en los animales viejos. De igual manera, el tratamiento con T mejoró la retención de la memoria espacial en los animales jóvenes castrados, pero no afectó el rendimiento de los animales viejos castrados en el laberinto de Barnes.

Las diferencias por edad en el efecto de la castración se puede explicar por la magnitud de la reducción de los niveles de T en cada grupo de edad, es decir, en el caso de los animales jóvenes la reducción fue significativa ( $3.97 \pm 1.03$  ng/mL), mientras que en los machos viejos la disminución fue muy sutil ( $1.23 \pm 0.30$  ng/mL). Esto en soporte con estudios que indican que un cambio grande, pero no pequeño, en los niveles de T afecta a los animales jóvenes (Zhu et al., 2000).

Por otra parte, el efecto diferencial de la restitución con T en los animales jóvenes y viejos puede estar relacionado con las capacidades fisiológicas de cada grupo animal, esto es, a diferencia de los jóvenes, los animales viejos presentan una disminución en la complejidad de sus funciones fisiológicas (Lipsitz y Goldberger, 1992) que le impiden dar una respuesta eficiente al tratamiento hormonal. Es el caso de la dificultad para desarrollar plasticidad cerebral (Cameron y McKay, 1999), de esta manera es posible que la ineficacia de la T para mejorar la memoria espacial en animales viejos se deba a cuestiones temporales y para observar un incremento en la memoria se requiera de un mayor periodo de exposición al tratamiento.

Finalmente, considerando que el tratamiento con implantes en animales viejos castrados resultó eficaz para restituir los niveles de T a los encontrados en un joven intacto, se podrían sugerir dosis más altas de T, dentro del rango fisiológico, para estimular los mecanismos fisiológicos del organismo envejecido y promover el incremento en la memoria, una hipótesis que necesita probarse.

## 8. Conclusiones

Es importante destacar que hasta donde tenemos conocimiento este es el primer trabajo que evalúa la relación entre la memoria, el envejecimiento y la T en el laberinto de Barnes, una prueba conductual que no involucra estresores intensos que pueden afectar el rendimiento de los animales. Además, es de los pocos estudios que han empleado animales viejos para estudiar dicha relación.

Los resultados del presente trabajo confirman el deterioro en el aprendizaje y la memoria espacial dependiente del envejecimiento, el cual se mostró por un bajo rendimiento de los animales viejos en los periodos de aprendizaje y retención de la memoria espacial en el laberinto de Barnes.

En animales jóvenes, el declive en la memoria espacial está relacionado con los niveles de T, ya que 1) la deficiencia de andrógenos (inducida por la castración), afectó negativamente la asertividad y la búsqueda dirigida al objetivo en el periodo de aprendizaje del laberinto de Barnes, mientras que 2) el tratamiento con T revirtió el deterioro en la memoria espacial aumentando la asertividad y la búsqueda dirigida al objetivo en el periodo de retención del laberinto de Barnes. Estos resultados nos permiten sugerir la utilidad terapéutica de la T para tratar problemas cognitivos asociados con el hipogonadismo en sujetos jóvenes.

En animales viejos la castración y la restitución con T no afectaron de forma significativa el aprendizaje ni la retención de la memoria espacial. A pesar de ello, el análisis de las estrategias de búsqueda permitió visualizar que la castración aumentó la búsqueda aleatoria y el tratamiento con T incrementó la búsqueda serial en estos animales, lo que nos permite sugerir que la T es capaz de modular el procesamiento egocéntrico y aloecéntrico de la información espacial y que, aunque son bajos, los niveles de T en sujetos viejos favorecen en cierta medida el aprendizaje espacial.

Finalmente, los efectos de la T en la memoria espacial son dependientes de la edad, posiblemente porque un organismo envejecido presenta una disminución en la complejidad de sus funciones fisiológicas que le impiden dar una respuesta eficiente al tratamiento hormonal. Así, los efectos del tratamiento con T en sujetos envejecidos pueden llegar a ser insuficientes para producir un cambio a nivel conductual.

## 9. Perspectivas

En este trabajo la restitución con T no revirtió el deterioro en el aprendizaje y la memoria espacial dependiente del envejecimiento. Tomando en cuenta que la respuesta del tratamiento con T cambia en animales viejos castrados respecto a los gonadalmente intactos, se puede sugerir que la presencia de gónadas y de los pocos niveles de este andrógeno, podrían tener un papel importante en la memoria espacial en el envejecimiento. Para probar esta hipótesis se deberá evaluar el efecto de la restitución con T sobre la memoria espacial de animales viejos gonadalmente intactos en el laberinto de Barnes.

También se encontró que la castración en los animales viejos evita la generación de estrategias de búsqueda mientras que la restitución con T incrementa la estrategia serial (egocéntrica) en el laberinto de Barnes, de aquí se puede sugerir estudiar los efectos de la restitución con T en las estrategias de orientación egocéntrica y aloecéntrica en animales viejos gonadalmente intactos.

Otro aspecto que hay que tener presente es que en presencia de gónadas la T se sintetiza en otros compuestos (principalmente E2 y DHT). Se ha reportado que la administración de E2 (Kritzer et al., 2007; Gibbs, 2005; Locklear et al., 2014), DHT (Benice y Raber, 2009) y  $3\alpha$ -androstenediol (Frye et al., 2010) son efectivos como tratamiento para revertir el deterioro en la memoria espacial inducido por la castración. En función a esto, sería interesante evaluar el efecto de la administración directa de los metabolitos de la T, en la memoria espacial de ratas viejas.

Más recientemente, un estudio reportó que la administración del esteroide adrenal dehidroepiandrosterona (DHEA) aumenta la proliferación y sobrevivencia de neuronas en el hipocampo de ratas de más de 13 meses (Herrera-Pérez et al., 2017). Esto abre la posibilidad de que el tratamiento con esta hormona favorezca la memoria espacial en ratas viejas y promueva un mejor desempeño de estos animales en el laberinto de Barnes.

Finalmente, se ha sugerido que para observar una mejora en la memoria por el tratamiento con T, se requiere la presencia de un proceso o evento patológico como el Alzheimer. En relación a esto se propone evaluar el efecto de la restitución con T en la memoria espacial de modelos animales de Alzheimer. Para ello se podría utilizar (por ejemplo), ácido okadaico para inducir la formación de ovillos neurofibrilares y placas  $\beta$ -amiloide, relacionados con la pérdida de memoria en esta enfermedad, y posteriormente administrar T para evaluar el rendimiento de los animales en el laberinto de Barnes.

## 10. Bibliografía

1. Abdelgadir, S., Roselli, C., Choate, J. y Resko, J. (1999). Androgen Receptor Messenger Ribonucleic Acid in Brains and Pituitaries of Male Rhesus Monkeys: Studies on Distribution, Hormonal Control, and Relationship to Luteinizing Hormone Secretion. *Biology of Reproduction*, 60(5), 1251-1256
2. Ahlbom, E., Prins, G. y Ceccatelli, S. (2001). Testosterone protects cerebellar granule cells from oxidative stress-induced cell death through a receptor mediated mechanism. *Brain Research*, 892(2), 255-262
3. Araujo, A. y Wittert, G. (2011). Endocrinology of the aging male. *Best Practice y Research Clinical Endocrinology and Metabolism*, 25(2), 303-319
4. Astur, R., Taylor, L., Mamelak, A., Philpott, L. y Sutherland, R. (2002). Humans with hippocampus damage display severe spatial memory impairments in a virtual Morris water task. *Behavioural Brain Research*, 132(1), 77-84.
5. Atkinson, R. y Shiffrin, R. (1968). Human Memory: A Proposed System and its Control Processes. *Psychology of Learning and Motivation*, 89-195.
6. Bäckman, L., Lindenberger, U., Li, S. y Nyberg, L. (2010). Linking cognitive aging to alterations in dopamine neurotransmitter functioning: Recent data and future avenues. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 34(5), 670-677
7. Baddeley, A. (2000). The episodic buffer: a new component of working memory?. *Trends in Cognitive Sciences*, 4(11), pp.417-423.
8. Baddeley, A. (2006). Working memory: An overview. En S. J. Pickering (Ed.), *Working memory and education* (p. 47-90). New York: Academic Press.
9. Baddeley, A. y Hitch, G. J. (1974). Working memory. In G. A. Bower (Ed.), *Recent Advances in Learning and Motivation*. (Vol. 8, pp. 47-90). New York: Academic Press
10. Barak, B., Feldman, N. y Okun, E. (2014). Cardiovascular Fitness and Cognitive Spatial Learning in Rodents and in Humans. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, 70(9), 1059-1066.
11. Barnes, C. (1988). Aging and the physiology of spatial memory. *Neurobiology of Aging*, 9, 563-568.
12. Barnes, C. A. y McNaughton, B. L. (1985). An age comparison of the rates of acquisition and forgetting of spatial information in relation to long-term enhancement of hippocampal synapses. *Behavioral Neuroscience*, 99(6), 1040-1048
13. Barnes, C., A. (1979). Memory deficits associated with senescence: A neurophysiological and behavioral study in the rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 93(1), 74-104
14. Barnes, C., Nadel, L. y Honig, W. (1980). Spatial memory deficit in senescent rats. *Canadian Journal of Psychology/Revue Canadienne De Psychologie*, 34(1), 29-39
15. Barrett-Connor, E., Goodman-Gruen, D. y Patay, B. (1999). Endogenous Sex Hormones and Cognitive Function in Older Men. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 84(10), 3681-3685
16. Basu, J. y Siegelbaum, S. A. (2015). The Corticohippocampal Circuit, Synaptic Plasticity, and Memory. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 7(11), a021733.
17. Beattie, M., Adekola, L., Papadopoulos, V., Chen, H. y Zirkin, B. (2015). Leydig cell aging and hypogonadism. *Experimental Gerontology*, 68, 87-91
18. Begega, A., Cienfuegos, S., Rubio, S., Santín, J., Miranda, R. y Arias, J. (2001). Effects of ageing on allocentric and egocentric spatial strategies in the Wistar rat. *Behavioural Processes*, 53(1-2), 75-85.
19. Benice, T. y Raber, J. (2009). Dihydrotestosterone modulates spatial working-memory performance in male mice. *Journal of Neurochemistry*, 110 (3) 902-911.
20. Beyenburg, S., Watzka, M., Clusmann, H., Blümcke, I., Bidlingmaier, F., Elger, C. y Stoffel-Wagner, B. (2000). Androgen receptor mRNA expression in the human hippocampus. *Neuroscience Letters*, 294(1), 25-28
21. Bimonte-Nelson, H. (2015). *The Maze Book: Theories, Practice, and Protocols for Testing Rodent Cognition*. New York, NY: Humana Press.
22. Bimonte-Nelson, H. A., Acosta, J. I. y Talboom, J. S. (2010). Neuroscientists as Cartographers: Mapping the Crossroads of Gonadal Hormones, Memory and Age Using Animal Models. *Molecules* (Basel, Switzerland), 15(9), 6050–6105.



23. Bimonte-Nelson, H., Singleton, R., Nelson, M., Eckman, C., Barber, J., Scott, T. y Granholm, A. (2003). Testosterone, but not nonaromatizable dihydrotestosterone, improves working memory and alters nerve growth factor levels in aged male rats. *Experimental Neurology*, 181(2), pp.301-312
24. Bizon, J., LaSarge, C., Montgomery, K., McDermott, A., Setlow, B. y Griffith, W. (2009). Spatial reference and working memory across the lifespan of male Fischer 344 rats. *Neurobiology of Aging*, 30(4), 646-655
25. Borbélyová, V., Domonkos, E., Bábíčková, J., Tóthová, L., Bosý, M., Hodosy, J. y Celec, P. (2016). No effect of testosterone on behavior in aged Wistar rats. *Aging*, 8(11), 2848-2861
26. Burgess, N., Maguire, E. y O'Keefe, J. (2002). The Human Hippocampus and Spatial and Episodic Memory. *Neuron*, 35(4), 625-641.
27. Burke, S. y Barnes, C. (2006). Neural plasticity in the ageing brain. *Nature Reviews Neuroscience*, 7(1), 30-40
28. Cameron, H. y McKay, R. (1999). Restoring production of hippocampal neurons in old age. *Nature Neuroscience*, 2(10), 894-897.
29. Carrillo-Mora, P., Giordano, M. y Santamaría, A. (2009). Spatial memory: Theoretical basis and comparative review on experimental methods in rodents. *Behavioural Brain Research*, 203(2), 151-164.
30. Celec, P., Ostatníková, D. y Hodosy, J. (2015). On the effects of testosterone on brain behavioral functions. *Frontiers in Neuroscience*, 9, 12.
31. Cherrier, M., Asthana, S., Plymate, S., Baker, L., Matsumoto, A., y Peskind, E. et al. (2001). Testosterone supplementation improves spatial and verbal memory in healthy older men. *Neurology*, 57(1), 80-88
32. Cherrier, M., Matsumoto, A., Amory, J., Ahmed, S., Bremner, W., y Peskind, E. et al. (2005a). The role of aromatization in testosterone supplementation: Effects on cognition in older men. *Neurology*, 64(2), 290-296
33. Cherrier, M., Matsumoto, A., Amory, J., Asthana, S., Bremner, W., y Peskind, E. et al. (2005b). Testosterone improves spatial memory in men with Alzheimer disease and mild cognitive impairment. *Neurology*, 64(12), 2063-2068.
34. Cherrier, M., Matsumoto, A., Amory, J., Johnson, M., Craft, S., Peskind, E. y Raskind, M. (2007). Characterization of verbal and spatial memory changes from moderate to supraphysiological increases in serum testosterone in healthy older men. *Psychoneuroendocrinology*, 32(1), 72-79
35. Choi, J. y Silverman, I. (2002). The relationship between testosterone and route-learning strategies in humans. *Brain and Cognition*, 50(1), 116-120.
36. Chung, B. y Hu, M.,C. (2002). Androgen biosynthesis and degradation. In book: Chang C, editor. *Androgens and Androgen Receptor: Mechanisms, Functions, and Clinical Applications*. Boston: Kluwer, pp 1–15.
37. Colombo, D., Serino, S., Tuena, C., Pedroli, E., Dakanalis, A., Cipresso, P. y Riva, G. (2017). Egocentric and allocentric spatial reference frames in aging: A systematic review. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 80, pp.605-621.
38. Compagnone, N. y Mellon, S. (2000). Neurosteroids: Biosynthesis and Function of These Novel Neuromodulators. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 21(1), 1-56
39. Conner, J., Franks, K., Titterness, A., Russell, K., Merrill, D. y Christie, B. et al. (2009). NGF is Essential for Hippocampal Plasticity and Learning. *Journal of Neuroscience*, 29(35), 10883-10889.
40. Corradi, P., Corradi, R. y Greene, L. (2016). Physiology of the Hypothalamic Pituitary Gonadal Axis in the Male. *Urologic Clinics of North America*, 43 (2), 151-162.
41. Daniel, J., Winsauer, P. y Moerschbaeche, J. (2003). Castration in rats impairs performance during acquisition of a working memory task and exacerbates deficits in working memory produced by scopolamine and mecamylamine. *Psychopharmacology*, 170(3), 294-300
42. de Toledo-Morrell, L., Morrell, F. y Fleming, S. (1984). Age-dependent deficits in spatial memory are related to impaired hippocampal kindling. *Behavioral Neuroscience*, 98(5), 902-907
43. Dere, E., Kartteke, E., Huston, J. y De Souza Silva, M. (2006). The case for episodic memory in animals. *Neuroscience y Biobehavioral Reviews*, 30(8), pp.1206-1224
44. Driscoll, I. y Sutherland, R., J. (2005). The aging hippocampus: navigating between rat and human experiments. *Reviews in the Neurosciences*, 16(2), 87-122

45. Eichenbaum, H. (2000). A cortical-hippocampal system for declarative memory. *Nature Reviews Neuroscience*, 1(1), pp.41-50.
46. Eichenbaum, H. (2004). Hippocampus: Cognitive Processes and Neural Representations that underlie declarative memory. *Neuron*, 44(1), 109-120.
47. Emmelot-Vonk, M., Verhaar, H., Nakhai Pour, H., Aleman, A., Lock, T. y Bosch, J. et al. (2008). Effect of Testosterone Supplementation on Functional Mobility, Cognition, and Other Parameters in Older Men. *JAMA*, 299(1).
48. Euston, D., Gruber, A. y McNaughton, B. (2012). The Role of Medial Prefrontal Cortex in Memory and Decision Making. *Neuron*, 76(6), 1057-1070.
49. Feldman, H., Longcope, C., Derby, C., Johannes, C., Araujo, A. y Coviello, A. et al. (2002). Age Trends in the Level of Serum Testosterone and Other Hormones in Middle-Aged Men: Longitudinal Results from the Massachusetts Male Aging Study. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 87(2), 589-598.
50. Finley, S. y Kritzer, M. (1999). Immunoreactivity for intracellular androgen receptors in identified subpopulations of neurons, astrocytes and oligodendrocytes in primate prefrontal cortex. *Journal of Neurobiology*, 40(4), 446-457
51. Fischer, W. (1994). Nerve growth factor reverses spatial memory impairments in aged rats. *Neurochemistry International*, 25(1), 47-52.
52. Frye, C. A., Edinger, K. L., Lephart, E. D. y Walf, A. A. (2010). 3 $\alpha$ -Androstanediol, but Not Testosterone, Attenuates Age-Related Decrements in Cognitive, Anxiety, and Depressive Behavior of Male Rats. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 2, 15.
53. Funahashi, S. (2006). Prefrontal cortex and working memory processes. *Neuroscience*, 139(1), 251-261.
54. Gage, F. H., Dunnett, S. B. y Björklund, A. (1984). Spatial learning and motor deficits in aged rats. *Neurobiology of aging*, 5(1), 43-48.
55. Galea, L., Spritzer, M., Barker, J. y Pawluski, J. (2006). Gonadal hormone modulation of hippocampal neurogenesis in the adult. *Hippocampus*, 16(3), 225-232.
56. Galvan, V. y Jin, K. (2007). Neurogenesis in the aging brain. *Clinical Interventions in Aging*, 2(4), 605–610
57. Gibbs, R. B. (2005). Testosterone and estradiol produce different effects on cognitive performance in male rats. *Hormones and Behavior*, 48(3), 268–277.
58. Gibbs, R. y Johnson, D. (2008). Sex-Specific Effects of Gonadectomy and Hormone Treatment on Acquisition of a 12-Arm Radial Maze Task by Sprague Dawley Rats. *Endocrinology*, 149(6), 3176-3183
59. Glisky, E. L. (2007). Changes in cognitive function in human aging. In Book: *Brain aging: models, methods, and mechanisms*. Riddle, D., y Riddle, D. (2007). Brain Aging. Hoboken: Taylor and Francis. Section I, Assessing Cognitive Aging. 3-20.
60. Gouchie, C. y Kimura, D. (1991). The relationship between testosterone levels and cognitive ability patterns. *Psychoneuroendocrinology*, 16(4), pp.323-334.
61. Goudsmit, E., Vandepoll, N.E. y Swaab, D.F. (1990). Testosterone fails to reverse spatial memory decline in aged rats and impairs retention in young and middle-aged animals. *Behavioral and Neural Biology*; 53:6–20
62. Gray, A., Feldman, H., McKinlay, J. y Longcope, C. (1991). Age, Disease, and Changing Sex Hormone Levels in Middle-Aged Men: Results of the Massachusetts Male Aging Study\*. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 73(5), 1016-1025.
63. Gray, P., Singh, A., Woodhouse, L., Storer, T., Casaburi, R. y Dzekov, J. et al. (2005). Dose-Dependent Effects of Testosterone on Sexual Function, Mood, and Visuospatial Cognition in Older Men. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 90(7), 3838-3846
64. Grieves, R. y Jeffery, K. (2017). The representation of space in the brain. *Behavioural Processes*, 135, 113-131.
65. Gu, Y., Janoschka, S. y Ge, S. (2012). Neurogenesis and Hippocampal Plasticity in Adult Brain. *Neurogenesis and Neural Plasticity*, 31-48.
66. Hamson, D., Wainwright, S., Taylor, J., Jones, B., Watson, N. y Galea, L. (2013). Androgens Increase Survival of Adult-Born Neurons in the Dentate Gyrus by an Androgen Receptor-Dependent Mechanism in Male Rats. *Endocrinology*, 154(9), 3294-3304.

67. Harman, S., Metter, E., Tobin, J., Pearson, J. y Blackman, M. (2001). Longitudinal Effects of Aging on Serum Total and Free Testosterone Levels in Healthy Men. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 86(2), 724-731.
68. Harrison, F. E., Reiserer, R. S., Tomarken, A. J. y McDonald, M. P. (2006). Spatial and nonspatial escape strategies in the Barnes maze. *Learning and memory*, 13(6), 809-819
69. Harrison, F., Hosseini, A. y McDonald, M. (2009). Endogenous anxiety and stress responses in water maze and Barnes maze spatial memory tasks. *Behavioural Brain Research*, 198(1), 247-251.
70. Hartley, T., Lever, C., Burgess, N. y O'Keefe, J. (2013). Space in the brain: how the hippocampal formation supports spatial cognition. *Philosophical Transactions of The Royal Society B: Biological Sciences*, 369(1635), 20120510-20120510.
71. Hatanaka, Y., Hojo, Y., Mukai, H., Murakami, G., Komatsuzaki, Y. y Kim, J. et al. (2015). Rapid increase of spines by dihydrotestosterone and testosterone in hippocampal neurons: Dependence on synaptic androgen receptor and kinase networks. *Brain Research*, 1621, 121-132
72. Hawley, W., Grissom, E., Barratt, H., Conrad, T. y Dohanich, G. (2012). The effects of biological sex and gonadal hormones on learning strategy in adult rats. *Physiology and Behavior*, 105(4), 1014-1020.
73. Hawley, W., Grissom, E., Martin, R., Halmos, M., Bart, C. y Dohanich, G. (2013). Testosterone modulates spatial recognition memory in male rats. *Hormones and Behavior*, 63(4), 559-565
74. Herrera-Pérez, J., Martínez-Mota, L., Chavira, R. y Fernández-Guasti, A. (2012). Testosterone prevents but not reverses anhedonia in middle-aged males and lacks an effect on stress vulnerability in young adults. *Hormones and Behavior*, 61(4), 623-630.
75. Herrera-Pérez, J., Martínez-Mota, L., Jiménez-Rubio, G., Ortiz-López, L., Cabrera-Muñoz, E. y Galindo-Sevilla, N. et al. (2017). Dehydroepiandrosterone increases the number and dendrite maturation of doublecortin cells in the dentate gyrus of middle age male Wistar rats exposed to chronic mild stress. *Behavioural Brain Research*, 321, 137-147.
76. Hogervorst, E., Combrinck, M. y Smith, A.,D. (2003). Testosterone and gonadotropin levels in men with dementia. *Neuroendocrinology Letters*; 24(3-4):203-208
77. Hogervorst, E., Williams, J., Biudge, M., Barnetson, L., Combrinck, M. y Smith, A.,D. (2001). Serum total testosterone is lower in men with Alzheimer's disease. *Neuroendocrinology Letters*; 22(3):163-168
78. Hou, Y., Bao, X., Wei, H., Luo, Y. y Liu, G. (2011). Long-term deprivation of gonadal hormone accelerates brain aging in mice. *Neurological Research*, 33(1), 43-49.
79. Hua, J. T., Hildreth, K. L. y Pelak, V. S. (2016). Effects of Testosterone Therapy on Cognitive Function in Aging: A Systematic Review. *Cognitive and Behavioral Neurology: Official Journal of the Society for Behavioral and Cognitive Neurology*, 29(3), 122-138.
80. Iaria, G., Palermo, L., Committeri, G. y Barton, J. (2009). Age differences in the formation and use of cognitive maps. *Behavioural Brain Research*, 196(2), 187-191.
81. Illouz, T., Madar, R., Clague, C., Griffioen, K., Louzoun, Y. y Okun, E. (2016). Unbiased classification of spatial strategies in the Barnes maze. *Bioinformatics*, 32(21), 3314-3320.
82. INEGI 2016: <http://cuentame.inegi.org.mx/poblacion/esperanza.aspx?tema=P>
83. Janowsky, J., Chavez, B. y Orwoll, E. (2000). Sex Steroids Modify Working Memory. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 12(3), 407-414
84. Janowsky, J., Oviatt, S. y Orwoll, E. (1994). Testosterone influences spatial cognition in older men. *Behavioral Neuroscience*, 108(2), 325-332
85. Kaptan, Z. y Üzümlü, G. (2016). The Role of Adult Hippocampal Neurogenesis in Learning and Memory Function. *Turkish Journal of Neurology*, 22(4), 149-155.
86. Kempermann, G., Song, H. y Gage, F. (2015). Neurogenesis in the Adult Hippocampus. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 7(9), a018812.
87. Kennard, J. A. y Woodruff-Pak, D. S. (2011). Age Sensitivity of Behavioral Tests and Brain Substrates of Normal Aging in Mice. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 3, 9.
88. Kenny, A., Bellantonio, S., Gruman, C., Acosta, R., y Prestwood, K. (2002). Effects of Transdermal Testosterone on Cognitive Function and Health Perception in Older Men With Low Bioavailable Testosterone Levels. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, 57(5), M321-M325

89. Kenny, A., Fabregas, G., Song, C., Biskup, B. y Bellantonio, S. (2004). Effects of Testosterone on Behavior, Depression, and Cognitive Function in Older Men With Mild Cognitive Loss. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, 59(1), M75-M78
90. Kerr, J., Allore, R., Beck, S. y Handa, R. (1995). Distribution and hormonal regulation of androgen receptor (AR) and AR messenger ribonucleic acid in the rat hippocampus. *Endocrinology*, 136(8), 3213-3221
91. Khalil, R., King, M. y Soliman, M. (2005). Testosterone Reverses Ethanol-Induced Deficit in Spatial Reference Memory in Castrated Rats. *Pharmacology*, 75(2), 87-92
92. Korte, M., Carroll, P., Wolf, E., Brem, G., Thoenen, H. y Bonhoeffer, T. (1995). Hippocampal long-term potentiation is impaired in mice lacking brain-derived neurotrophic factor. *Proceedings of The National Academy of Sciences*, 92(19), 8856-8860.
93. Kousteni, S., Bellido, T., Plotkin, L., O'Brien, C., Bodenner, D. y Han, L. et al. (2001). Nongenotropic, Sex-Nonspecific Signaling through the Estrogen or Androgen Receptors. *Cell*, 104(5), 719-730
94. Kritzer, M., Brewer, A., Montalman, F., Davenport, M. y Robinson, J. (2007). Effects of gonadectomy on performance in operant tasks measuring prefrontal cortical function in adult male rats. *Hormones and Behavior*, 51(2), 183-194.
95. Kritzer, M., McLaughlin, P., Smirlis, T. y Robinson, J. (2001). Gonadectomy Impairs T-Maze Acquisition in Adult Male Rats. *Hormones and Behavior*, 39(2), 167-174
96. Lamberts, S., van den Beld, A. and van der Lely, A. (1997). The Endocrinology of Aging. *Science*, 278(5337), pp.419-424.
97. Lavenex, P. y Amaral, D. (2000). Hippocampal-neocortical interaction: A hierarchy of associativity. *Hippocampus*, 10(4), 420-430.
98. Leal, G., Afonso, P., Salazar, I. y Duarte, C. (2015). Regulation of hippocampal synaptic plasticity by BDNF. *Brain Research*, 1621, 82-101.
99. Leutgeb, S. (2005). Independent Codes for Spatial and Episodic Memory in Hippocampal Neuronal Ensembles. *Science*, 309(5734), 619-623.
100. Lieberwirth, C., Pan, Y., Liu, Y., Zhang, Z. y Wang, Z. (2016). Hippocampal adult neurogenesis: its regulation and potential role in spatial learning and memory. *Brain Research*, 1644, 127-140
101. Lipsitz, L. y Goldberger, A. (1992). Loss of 'Complexity' and Aging: Potential applications of fractals and chaos theory to senescence. *JAMA*, 267(13), 1806.
102. Liverman, C. y Blazer, D. (2004). Testosterone and aging. Washington, DC: National Academies Press. pp 14-17
103. Locklear, M. y Kritzer, M. (2014). Assessment of the effects of sex and sex hormones on spatial cognition in adult rats using the Barnes maze. *Hormones and Behavior*, 66(2), 298-308.
104. López-Otín, C., Blasco, M., Partridge, L., Serrano, M. y Kroemer, G. (2013). The Hallmarks of Aging. *Cell*, 153(6), 1194-1217
105. MacLusky, N., Hajszan, T., Prange-Kiel, J. y Leranth, C. (2006). Androgen modulation of hippocampal synaptic plasticity. *Neuroscience*, 138(3), 957-965.
106. Maki, P., Ernst, M., London, E., Mordecai, K., Perschler, P. y Durso, S. et al. (2007). Intramuscular Testosterone Treatment in Elderly Men: Evidence of Memory Decline and Altered Brain Function. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 92(11), 4107-4114
107. Martin, A. y Chao, L. (2001). Semantic memory and the brain: structure and processes. *Current Opinion in Neurobiology*, 11(2), 194-201.
108. Martin, S. y Clark, R. (2007). The rodent hippocampus and spatial memory: from synapses to systems. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 64(4), 401-431.
109. Matsumoto, A. (2002). Andropause: Clinical Implications of the Decline in Serum Testosterone Levels With Aging in Men. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, 57(2), M76-M99.
110. Maviel, T. (2004). Sites of Neocortical Reorganization Critical for Remote Spatial Memory. *Science*, 305(5680), pp.96-99
111. McConnell, S., Alla, J., Wheat, E., Romeo, R., McEwen, B. y Thornton, J. (2012). The role of testicular hormones and luteinizing hormone in spatial memory in adult male rats. *Hormones and Behavior*, 61(4), 479-486.
112. McEwen, B. S. (2010). Stress, sex and neural adaptation to a changing environment: mechanisms of neuronal remodeling. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1204(Suppl), E38-E59.

113. McLay, R., Freeman, S., Harlan, R., Kastin, A. y Zadina, J. (1999). Tests Used to Assess the Cognitive Abilities of Aged Rats: Their Relation to Each Other and to Hippocampal Morphology and Neurotrophin Expression. *Gerontology*, 45(3), 143-155
114. Mellon, S., Griffin, L. y Compagnone, N. (2001). Biosynthesis and action of neurosteroids. *Brain Research Reviews*, 37(1-3), 3-12
115. Mendoza-Núñez, V., Martínez-Maldonado, M., y Correa-Muñoz, E. (2009). Implementation of an active aging model in Mexico for prevention and control of chronic diseases in the elderly. *BMC Geriatrics*, 9(1).
116. Meydan, S., Kus, I., Tas, U., Ogeturk, M., Sancakdar, E. y Dabak, D. et al. (2010). Effects of testosterone on orchietomy-induced oxidative damage in the rat hippocampus. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 40(4), 281-285
117. Miller, E. y Cohen, J. (2001). An Integrative Theory of Prefrontal Cortex Function. *Annual Review of Neuroscience*, 24(1), 167-202.
118. Mizuno, M., Yamada, K., Olariu, A., Nawa, H. y Nabeshima, T. (2000). Involvement of Brain-Derived Neurotrophic Factor in Spatial Memory Formation and Maintenance in a Radial Arm Maze Test in Rats. *The Journal of Neuroscience*, 20(18), 7116-7121.
119. Moffat, S., Zonderman, A., Metter, E., Kawas, C., Blackman, M., Harman, S. y Resnick, S. (2004). Free testosterone and risk for Alzheimer disease in older men. *Neurology*, 62(2), pp.188-193
120. Moghadami, S., Jahanshahi, M., Sepehri, H. y Amini, H. (2016). Gonadectomy reduces the density of androgen receptor-immunoreactive neurons in male rat's hippocampus: testosterone replacement compensates it. *Behavioral and Brain Functions*, 12(1).
121. Morley, J., Kaiser, F., Raum, W., Perry, H., Flood, J. y Jensen, J. et al. (1997). Potentially predictive and manipulable blood serum correlates of aging in the healthy human male: Progressive decreases in bioavailable testosterone, dehydroepiandrosterone sulfate, and the ratio of insulin-like growth factor-1 to growth hormone. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94(14), 7537-7542
122. Moser, E.I., Witter, M.P. y Moser, M.-B. (2010). "Entorhinal cortex". In *Handbook of Brain Microcircuits*. Charper 17. Eds. G.M. Shepher and S. Grillner (Oxford: Oxford University Press), 175–190.
123. Muller, M., Aleman, A., Grobbee, D., de Haan, E. y van der Schouw, Y. (2005). Endogenous sex hormone levels and cognitive function in aging men. *Neurology*, 64(5), 866-871
124. Naghdi, N., Nafisy, N. y Majlessi, N. (2001). The effects of intrahippocampal testosterone and flutamide on spatial localization in the Morris water maze. *Brain Research*, 897(1-2), 44-51
125. Newman, M. y Kaszniak, A. (2000). Spatial Memory and Aging: Performance on a Human Analog of the Morris Water Maze. *Aging, Neuropsychology, and Cognition (Neuropsychology, Development and Cognition: Section B)*, 7(2), 86-93.
126. Nguyen, T., Yao, M. y Pike, C. (2005). Androgens activate mitogen-activated protein kinase signaling: Role in neuroprotection. *Journal of Neurochemistry*, 94(6), 1639-1651
127. Nilsson, L. (2003). Memory function in normal aging. *Acta Neurologica Scandinavica*, 107(s179), 7-13
128. O'Connor, D., Archer, J., Hair, W. y Wu, F. (2001). Activational effects of testosterone on cognitive function in men. *Neuropsychologia*, 39(13), 1385-1394
129. O'Keefe, J. y Dostrovsky, J. (1971). The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. *Brain Research*, 34(1), 171-175.
130. O'Keefe, J. y Nadel, L. (1978). *The hippocampus as a cognitive map*. Oxford: Clarendon Press.
131. Olton, D. y Papas, B. (1979). Spatial memory and hippocampal function. *Neuropsychologia*, 17(6), 669-682.
132. OMS 2015: <http://www.who.int/ageing/publications/world-report-2015/es/>
133. Padgaonkar, N., Zanto, T., Bollinger, J. y Gazzaley, A. (2017). Predictive cues and age-related declines in working memory performance. *Neurobiology of Aging*, 49, 31-39
134. Park, D. y Festini, S. (2016). Theories of Memory and Aging: A Look at the Past and a Glimpse of the Future. *The Journals of Gerontology Series B: Psychological Sciences and Social Sciences*, 72(1), 82-90
135. Parslow, D., Morris, R., Fleminger, S., Rahman, Q., Abrahams, S. y Recce, M. (2005). Allocentric spatial memory in humans with hippocampal lesions. *Acta Psychologica*, 118(1-2), 123-147.
136. Peng, S., Zhang, Y., Zhang, J., Wang, H. y Ren, B. (2010). ERK in Learning and Memory: A Review of Recent Research. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(1), 222-232

137. Philips, G., Ye, X., Kopec, A. y Carew, T. (2013). MAPK Establishes a Molecular Context That Defines Effective Training Patterns for Long-Term Memory Formation. *Journal of Neuroscience*, 33(17), 7565-7573.
138. Pike, C. (2001). Testosterone attenuates  $\beta$ -amyloid toxicity in cultured hippocampal neurons. *Brain Research*, 919(1), 160-165
139. Pluchino, N., Russo, M., Santoro, A. N., Litta, P., Cela, V. y Genazzani, A. R. (2013). Steroid hormones and BDNF. *Neuroscience*, 239, 271-279.
140. Plymate, S., Tenover, J. y Bremner, W. (1989). Circadian variation in testosterone, sex hormone-binding globulin, and calculated non-sex hormone-binding globulin bound testosterone in healthy young and elderly men. *Journal of Andrology*, 10(5), 366-371
141. Preston, A. R. y Eichenbaum, H. (2013). Interplay of hippocampus and prefrontal cortex in memory. *Current Biology*, 23(17), R764-R773.
142. Ramiro-Cortes, Y., Hobbiss, A. e Israely, I. (2013). Synaptic competition in structural plasticity and cognitive function. *Philosophical Transactions of The Royal Society B: Biological Sciences*, 369(1633), 20130157-20130157.
143. Rapp, P. R., Rosenberg, R. A. y Gallagher, M. (1987). An evaluation of spatial information processing in aged rats. *Behavioral neuroscience*, 101(1), 3.
144. Repovš, G. y Baddeley, A. (2006). The multi-component model of working memory: Explorations in experimental cognitive psychology. *Neuroscience*, 139(1), 5-21
145. Rodríguez García, R. y Lazcano Botello, G. (2015). *Práctica de la geriatría (Tercera edición.)*. México, D.F. [etc.]: McGraw-Hill Interamericana.
146. Rosario, E. (2004). Age-Related Testosterone Depletion and the Development of Alzheimer Disease. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*, 292(12), pp.1431-1432
147. Samson, R. y Barnes, C. (2013). Impact of aging brain circuits on cognition. *European Journal of Neuroscience*, 37(12), 1903-1915
148. Sandstrom, N., Kim, J. y Wasserman, M. (2006). Testosterone modulates performance on a spatial working memory task in male rats. *Hormones and Behavior*, 50(1), 18-26
149. Sarkey, S., Azcoitia, I., Garcia-Segura, L., Garcia-Ovejero, D. y DonCarlos, L. (2008). Classical androgen receptors in non-classical sites in the brain. *Hormones and Behavior*, 53(5), 753-764
150. Schiller, D., Eichenbaum, H., Buffalo, E., Davachi, L., Foster, D., Leutgeb, S. y Ranganath, C. (2015). Memory and Space: Towards an Understanding of the Cognitive Map. *Journal of Neuroscience*, 35(41), 13904-13911.
151. Schliebs, R. y Arendt, T. (2011). The cholinergic system in aging and neuronal degeneration. *Behavioural Brain Research*, 221(2), 555-563.
152. Schmidt-Hieber, C., Jonas, P. y Bischofberger, J. (2004). Enhanced synaptic plasticity in newly generated granule cells of the adult hippocampus. *Nature*, 429(6988), 184-187.
153. Schultz, C. y Engelhardt, M. (2014). Anatomy of the Hippocampal Formation. *Frontiers of Neurology and Neuroscience*, 6-17
154. Segovia, G., Porras, A., Del Arco, A. y Mora, F. (2001). Glutamatergic neurotransmission in aging: a critical perspective. *Mechanisms of ageing and development*, 122(1), 1-29.
155. Shapiro, M. (2001). Plasticity, Hippocampal Place Cells, and Cognitive Maps. *Archives of Neurology*, 58(6), 874
156. Snyder, J., Hong, N., McDonald, R. y Wojtowicz, J. (2005). A role for adult neurogenesis in spatial long-term memory. *Neuroscience*, 130(4), 843-852.
157. Sorwell, K. y Urbanski, H. (2009). Dehydroepiandrosterone and age-related cognitive decline. *Age*, 32(1), 61-67.
158. Spritzer, M. y Galea, L. (2007). Testosterone and dihydrotestosterone, but not estradiol, enhance survival of new hippocampal neurons in adult male rats. *Developmental Neurobiology*, 67(10), 1321-1333
159. Spritzer, M., Daviau, E., Coneeny, M., Engelman, S., Prince, W., y Rodriguez-Wisdom, K. (2011). Effects of testosterone on spatial learning and memory in adult male rats. *Hormones and Behavior*, 59(4), 484-496
160. Spritzer, M., Gill, M., Weinberg, A., y Galea, L. (2007). Castration Differentially Affects Spatial Working and Reference Memory in Male Rats. *Archives of Sexual Behavior*, 37(1), 19-29

161. Squire, L. (1992). Declarative and Non declarative Memory: Multiple Brain Systems Supporting Learning and Memory. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 4(3), 232-243
162. Squire, L. y Zola-Morgan, S. (1991). The medial temporal lobe memory system. *Science*, 253(5026), 1380-1386.
163. Squire, L., Genzel, L., Wixted, J. y Morris, R. (2015). Memory Consolidation. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 7(8), a021766
164. Squire, L., Stark, C. y Clark, R. (2004). The Medial Temporal Lobe. *Annual Review of Neuroscience*, 27(1), 279-306.
165. Sunyer, B., Patil, S., Höger, H. y Luber, G. (2007). Barnes maze, a useful task to assess spatial reference memory in the mice. *Protocol Exchange*.
166. Sweatt, J. (2004). Hippocampal function in cognition. *Psychopharmacology*, 174(1).
167. Sweatt, J. (2010). Hippocampal Function in Cognition. In book: *Mechanisms of Memory*, Amsterdam: Academic Press. 128-149.
168. Tabori, N., Stewart, L., Znamensky, V., Romeo, R., Alves, S., McEwen, B. y Milner, T. (2005). Ultrastructural evidence that androgen receptors are located at extranuclear sites in the rat hippocampal formation. *Neuroscience*, 130(1), 151-163
169. Tan, R. y Pu, S. (2003). A pilot study on the effects of testosterone in hypogonadal aging male patients with Alzheimer's disease. *The Aging Male*, 6(1), 13-17
170. Tehranipour, M. y Moghimi, A. (2010). Neuroprotective Effects of Testosterone on Regenerating Spinal Cord Motoneurons in Rats. *Journal of Motor Behavior*, 42(3), 151-155
171. Tromp, D., Dufour, A., Lithfous, S., Pebayle, T. y Després, O. (2015). Episodic memory in normal aging and Alzheimer disease: Insights from imaging and behavioral studies. *Ageing Research Reviews*, 24, 232-262
172. Tulving, E. (2002). Episodic Memory: From Mind to Brain. *Annual Review of Psychology*, 53(1), 1-25.
173. van Hest, A., van Kempen, M., van Haaren, F. y van de Poll, N. (1988). Memory in male and female Wistar rats: Effects of gonadectomy, and stimulus presentations during the delay interval. *Behavioural Brain Research*, 29(1-2), 103-110.
174. Vaughan, C., Goldstein, F. y Tenover, J. (2007). Exogenous Testosterone Alone or With Finasteride Does Not Improve Measurements of Cognition in Healthy Older Men With Low Serum Testosterone. *Journal of Andrology*, 28(6), 875-882.
175. Veldhuis, J., Keenan, D., Liu, P., Iranmanesh, A., Takahashi, P. y Nehra, A. (2009). The aging male hypothalamic–pituitary–gonadal axis: Pulsatility and feedback. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 299(1), 14-22
176. Vermeulen, A. (2000). Andropause. *Maturitas*, 34(1), 5-15
177. Wagatsuma, H. y Yamaguchi, Y. (2007). Neural dynamics of the cognitive map in the hippocampus. *Cognitive Neurodynamics*, 1(2), 119–141.
178. Wallace, J., Krauter, E. y Campbell, B. (1980). Animal Models of Declining Memory in the Aged: Short-term and Spatial Memory in the Aged Rat. *Journal of Gerontology*, 35(3), 355-363
179. Wierzynski, C., Lubenov, E., Gu, M. y Siapas, A. (2009). State-Dependent Spike-Timing Relationships between Hippocampal and Prefrontal Circuits during Sleep. *Neuron*, 61(4), 587-596
180. Wolf, O., Preut, R., Hellhammer, D., Kudielka, B., Schürmeyer, T. y Kirschbaum, C. (2000). Testosterone and cognition in elderly men: a single testosterone injection blocks the practice effect in verbal fluency, but has no effect on spatial or verbal memory. *Biological Psychiatry*, 47(7), 650-654
181. Wu, D. y Gore, A. (2010). Changes in androgen receptor, estrogen receptor alpha, and sexual behavior with aging and testosterone in male rats. *Hormones and Behavior*, 58(2), 306-316
182. Wu, F., Tajar, A., Pye, S., Silman, A., Finn, J. y O'Neill, T. et al. (2008). Hypothalamic-Pituitary-Testicular Axis Disruptions in Older Men Are Differentially Linked to Age and Modifiable Risk Factors: The European Male Aging Study. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 93(7), 2737-2745
183. Wyss-Coray, T. (2016). Ageing, neurodegeneration and brain rejuvenation. *Nature*, 539(7628), 180-186.
184. Yaffe, K., Lui, L., Zmuda, J. y Cauley, J. (2002). Sex Hormones and Cognitive Function in Older Men. *Journal of the American Geriatrics Society*, 50(4), 707-712

185. Zhang, G., Wang, W., Kang, Y., Xue, Y., Yang, H., Zhou, C. y Shi, G. (2013). Chronic testosterone propionate supplement could activated the Nrf2-ARE pathway in the brain and ameliorated the behaviors of aged rats. *Behavioural Brain Research*, 252, 388-395
186. Zheng, P. (2009). Neuroactive steroid regulation of neurotransmitter release in the CNS: Action, mechanism and possible significance. *Progress in Neurobiology*, 89(2), 134-152
187. Zhu, Y., Yang, G. Y., Ahlemeyer, B., Pang, L., Che, X. M., Culmsee, C. y Krieglstein, J. (2002). Transforming growth factor- $\beta$ 1 increases bad phosphorylation and protects neurons against damage. *Journal of Neuroscience*, 22(10), 3898-3909
188. Zhu, L. J., Hardy, M. P., Inigo, I. V., Huhtaniemi, I., Bardin, C. W. y Moo-Young, A. J. (2000). Effects of androgen on androgen receptor expression in rat testicular and epididymal cells: a quantitative immunohistochemical study. *Biology of reproduction*, 63(2), 368-376.
189. Zmuda, J., Cauley, J., Kriska, A., Glynn, N., Gutai, J. y Kuller, L. (1997). Longitudinal Relation between Endogenous Testosterone and Cardiovascular Disease Risk Factors in Middle-aged Men: A 13-Year Follow-up of Former Multiple Risk Factor Intervention Trial Participants. *American Journal of Epidemiology*, 146(8), 609-617
190. Zup, S. y Madden, A. (2016). Gonadal hormone modulation of intracellular calcium as a mechanism of neuroprotection. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 42, 40-52



## 11. Anexos

### 11.1 Parámetros de locomoción

- **El bajo rendimiento de los animales viejos en el laberinto de Barnes se debe al deterioro en la memoria espacial y no a problemas en la locomoción.**

En la velocidad de las ratas jóvenes y viejas para encontrar la cámara de escape en el periodo de adquisición, el ANOVA MR de dos vías reveló diferencias significativas determinadas por el tiempo ( $F_{3,60}=16.874$ ,  $p<0.001$ ), la edad ( $F_{1,60}=8.462$ ,  $p<0.01$ ) y la interacción entre factores ( $F_{3,60}=3.038$ ,  $p<0.05$ ). La prueba Tukey mostró que las ratas jóvenes y viejas aumentaron significativamente la velocidad al avanzar los días de prueba en el periodo de adquisición (jóvenes: día 2, 3 y 4  $p<0.05$  vs día 1; viejos: día 3 y 4  $p<0.05$  vs día 1), el análisis *post hoc* también indicó que las ratas viejas fueron menos veloces que las jóvenes en los días 2 y 3 ( $p<0.05$  en ambos casos) de este periodo (Tabla 2). En el periodo de retención no se reportaron diferencias significativas entre los grupos.

En el parámetro de distancia el ANOVA MR de dos vías mostró diferencias significativas determinadas por los factores tiempo ( $F_{3,60}=36.790$ ,  $p<0.001$ ) y edad ( $F_{1,60}=4.749$ ,  $p<0.05$ ), pero no por su interacción. El análisis posterior con ANOVA MR de una vía y la prueba Tukey para cada grupo de edad, reportó que las ratas jóvenes ( $F_{3,27}=22.624$ ,  $p<0.001$ ) y viejas ( $F_{3,33}=16.541$ ,  $p<0.001$ ) disminuyeron significativamente la distancia para encontrar la cámara de escape en los días 2, 3 y 4 ( $p<0.05$  vs día 1 en todos los casos) del periodo de adquisición (Tabla 2). Además, la prueba t indicó que las ratas viejas presentaron una mayor distancia que las ratas jóvenes en el día 2 ( $p<0.05$ ) de este periodo. Por su parte, en el periodo de retención, no hubo diferencias significativas entre los grupos

- **La castración no afecta la velocidad y la distancia de los animales jóvenes y viejos en el laberinto de Barnes**

-Animales jóvenes castrados

En el análisis estadístico de la velocidad el ANOVA MR de dos vías presentó diferencias significativas determinadas por el tiempo ( $F_{3,63}= 19.969$ ,  $p<0.001$ ) y su interacción con el factor cirugía ( $F_{3,63}= 3.220$ ,  $p<0.05$ ). La prueba Tukey indicó que las ratas jóvenes intactas y castradas aumentaron la velocidad conforme avanzó el periodo de adquisición (intacto: día 2, 3 y 4, castrado: día 3 y 4,  $p<0.05$  vs día 1), también indicó que los animales jóvenes castrados mostraron una menor velocidad que los intactos en el día 2 ( $p<0.05$ ) de este periodo (Tabla 2). En el periodo de retención, la prueba t indicó que las ratas jóvenes castradas fueron más rápidas que las intactas en la prueba de memoria a largo plazo ( $p<0.05$ ) pero no a corto plazo.

Respecto a la distancia el ANOVA MR de dos vías indicó una influencia significativa del tiempo sobre este parámetro ( $F_{3,63}=25.434$ ,  $p<0.001$ ). El análisis posterior con ANOVA MR de una vía y la prueba Tukey para cada grupo experimental, reveló que las ratas jóvenes intactas ( $F_{3,27}=22.624$ ,  $p<0.001$ ) y castradas ( $F_{3,36}=8.042$ ,  $p<0.001$ ) disminuyeron significativamente la distancia para encontrar la cámara de escape en la fase de adquisición (día 2, 3 y 4  $p<0.05$  vs día 1 en ambos grupos) (Tabla 2). En el periodo de retención no hubo diferencias significativas en las mediciones.

#### -Animales viejos castrados

En cuanto a la velocidad de los animales viejos intactos y castrados para encontrar la cámara de escape en el periodo de adquisición, el ANOVA MR de dos vías indicó diferencias significativas determinadas sólo por el tiempo ( $F_{3,63}=30.442$ ,  $p<0.001$ ). El análisis posterior con ANOVA MR de una vía y la prueba Tukey para cada grupo experimental (Tabla 2) mostró que las ratas viejas intactas ( $F_{3,33}=19.349$ ,  $p<0.001$ ) y castradas ( $F_{3,30}=13.142$ ,  $p<0.001$ ) aumentaron significativamente la velocidad para encontrar la cámara de escape en la fase de adquisición (día 2, 3 y 4  $p<0.05$  vs día 1, en ambos casos). En el periodo de retención no hubo diferencias significativas entre los grupos.

En el análisis de la distancia el ANOVA MR de dos vías indicó diferencias significativas determinadas sólo por el tiempo ( $F_{3,63}=24.102$ ,  $p<0.001$ ). El análisis con ANOVA MR de una vía y la prueba Tukey para cada grupo experimental (Tabla 2), indicó que las ratas viejas intactas ( $F_{3,33}=16.541$ ,  $p<0.001$ ) y castradas ( $F_{3,30}=8.521$ ,  $p<0.001$ ) disminuyeron la distancia para encontrar la cámara de escape en la fase de adquisición (día 2, 3 y 4  $p<0.05$  vs día 1 en ambos grupos). En el periodo de retención la prueba t no reportó diferencias significativas entre los grupos.

- **El tratamiento con testosterona no afecta la velocidad y la distancia de los animales jóvenes y viejos castrados.**

#### -Animales jóvenes restituidos con T

En el análisis de la velocidad el ANOVA MR de dos vías indicó diferencias significativas determinadas sólo por el tiempo ( $F_{3,75}=41.388$ ,  $p<0.001$ ). El análisis posterior con ANOVA MR de una vía y la prueba Tukey para cada grupo, reveló que los animales jóvenes castrados ( $F_{3,36}=22.75$ ,  $p<0.001$ ) y castrados restituidos con T ( $F_{3,39}=19.229$ ,  $p<0.001$ ), aumentaron significativamente la velocidad conforme avanzaron los días de prueba en el periodo de adquisición (día 2, 3 y 4  $p<0.05$  vs día 1) (Tabla 2). En el periodo de retención no hubo diferencias significativas en las mediciones.

En la distancia el ANOVA MR de dos vías mostró una influencia significativa del tiempo sobre este parámetro ( $F_{3,75}=11.474$ ,  $p<0.001$ ). El análisis posterior con ANOVA MR de una vía y la prueba Tukey para cada grupo experimental, indicó que las ratas jóvenes

castradas ( $F_{3,36}=8.042$ ,  $p<0.001$ ) disminuyeron significativamente la distancia para encontrar la cámara de escape conforme avanzaron los días de prueba (día 2, 3 y 4  $p<0.05$  vs día 1), mientras que las castradas restituidas con T ( $F_{3,39}=3.822$ ,  $p<0.05$ ) disminuyeron este parámetro hasta el día 4 ( $p<0.05$ ) de la fase de adquisición (Tabla 2). En el periodo de retención la prueba t no reveló diferencias significativas entre los grupos.

**-Animales viejos restituidos con T**

En el análisis de la velocidad el ANOVA MR de dos vías reveló una influencia significativa del tiempo sobre este parámetro ( $F_{3,36}=24.139$ ,  $p<0.001$ ). El análisis posterior con ANOVA MR de una vía y la prueba Tukey para cada grupo experimental (Tabla 2), mostró que los animales viejos castrados ( $F_{3,30}=13.142$ ,  $p<0.001$ ) y los castrados restituidos con T ( $F_{3,33}=11.325$ ,  $p<0.001$ ) aumentaron significativamente la velocidad para encontrar la cámara de escape al avanzar los días del periodo de adquisición (día 2, 3 y 4  $p<0.05$  vs día 1 en ambos grupos). En el periodo de retención no hubo diferencias significativas en las mediciones.

En la distancia el ANOVA MR de dos vías indicó diferencias significativas determinadas sólo por el tiempo ( $F_{3,63}=9.965$ ,  $p<0.001$ ). El análisis posterior con ANOVA MR de una vía y la prueba Tukey para cada grupo (Tabla 2), mostró que las ratas viejas castradas ( $F_{3,30}=8.521$ ,  $p<0.001$ ) disminuyeron significativamente la distancia para encontrar la cámara de escape conforme avanzaron los días de prueba en la fase de adquisición (día 2, 3 y 4  $p<0.05$  vs día 1), mientras que en los animales restituidos con T ( $F_{3,33}=3.782$ ,  $p<0.05$ ) la disminución en la distancia se hizo evidente en el día 4 ( $p<0.05$  vs día 1). En el periodo de retención no hubo diferencias significativas entre los grupos.

Tabla 2

*Parámetros de la velocidad y la distancia en el periodo de adquisición del laberinto de Barnes.*

Velocidad	Jov-Int	Viej-Int	JORX	VORX	JORX+T	VORX+T
Día 1	12.12 ± 0.56	9.54 ± 1.04	10.76 ± 0.54	9.04 ± 0.73	10.30 ± 0.73	8.14 ± 0.86
Día 2	19.26 ± 1.80 *	15.26 ± 1.01 *&	15.26 ± 1.01 &	13.01 ± 1.27 *	13.75 ± 0.95 *	11.37 ± 1.02 *
Día 3	20.04 ± 2.35 *	17.14 ± 1.21 *&	17.14 ± 1.21 *	15.43 ± 0.97 *	16.87 ± 1.44 *	12.39 ± 1.19 *
Día 4	17.63 ± 1.31 *	19.98 ± 1.71 *	19.98 ± 1.71 *	15 ± 1.50 *	18.61 ± 1.13 *	13.71 ± 1.24 *
Distancia						
Día 1	597.12 ± 65.83	647.84 ± 79.98	512.51 ± 79.42	613.06 ± 69.73	425.1 ± 52.46	490.32 ± 60.93
Día 2	247.51 ± 22.48 *	359.48 ± 35.54 *&	250.57 ± 30.98 *	374.07 ± 64.73 *	343.65 ± 45.49	482.54 ± 6.58
Día 3	192.71 ± 21.12 *	270.32 ± 34.60 *	237.68 ± 28.87 *	316.06 ± 49.78 *	275.64 ± 30.11	375.43 ± 65.60
Día 4	164.63 ± 35.48 *	214.42 ± 26.81 *	213.14 ± 30.75 *	279.03 ± 41.99 *	252.07 ± 31.18 *	255.42 ± 42.81 *

Los datos se expresan como la media ± EEM. Jov-Int: joven intacto, Viej-Int: viejo intacto, JORX: joven castrado, VORX: viejo castrado, JORX+T: joven castrado restituido con testosterona, VORX+T: viejo castrado restituido con testosterona. \*  $p<0.05$  vs día 1, &  $p<0.05$  vs joven intacto.

- Los resultados de este apartado indican que el bajo rendimiento de los animales viejos en el laberinto de Barnes no se debe a alteraciones en la locomoción, esto porque disminuyeron la velocidad y la distancia para encontrar la cámara de escape en la adquisición y retención del laberinto. A pesar de ello, estos animales envejecidos fueron menos veloces y recorrieron mayores distancias que los animales jóvenes, lo cual es consistente con el aumento en la latencia y en la frecuencia de búsqueda así como una menor asertividad de estos animales envejecidos en comparación con los jóvenes. Estos resultados respaldan el supuesto de que el bajo desempeño que presentan los animales viejos en el laberinto de Barnes se debe a un deterioro en la memoria espacial.
- Respecto a la eliminación de T en animales jóvenes, los resultados de velocidad y distancia confirman que el bajo desempeño de los animales jóvenes castrados en el aprendizaje de la tarea espacial, se relaciona con alteraciones cognitivas y no a problemas en la locomoción dado que no se observaron diferencias en la velocidad y distancia respecto a los animales jóvenes intactos.
- Al evaluar el efecto de la castración en ratas viejas sobre los parámetros de locomoción, no se observaron diferencias en el rendimiento los animales, lo cual es consistente con los resultados de la latencia, asertividad y frecuencia de búsqueda, en los cuales tampoco se observó efecto de la cirugía.
- El tratamiento con T en animales jóvenes y viejos castrados no afectó la velocidad y la distancia respecto a los animales que no recibieron el tratamiento hormonal.

## 11.2 Curso temporal de liberación de testosterona en implantes de 1 cm

En un estudio previo, se determinó el curso temporal de la liberación de T en los implantes utilizados para la restitución hormonal; se demostró que en ratas macho intactas de más de 12 meses, la cápsula de PT mantiene durante al menos cuatro semanas una liberación de T suficiente para alcanzar niveles séricos de esta hormona semejantes a los encontrados en machos jóvenes intactos (Herrera-Pérez et al., 2012) (Fig. 21). De manera similar se demostró que el implante con T en ratas jóvenes castradas mantiene durante tres semanas niveles séricos de T semejantes a los encontrados en machos jóvenes intactos (Fig. 22). Con base en esta evidencia se determinó que los implantes de T se reemplazarían cada cuatro semanas en ratas viejas y cada tres en animales jóvenes.

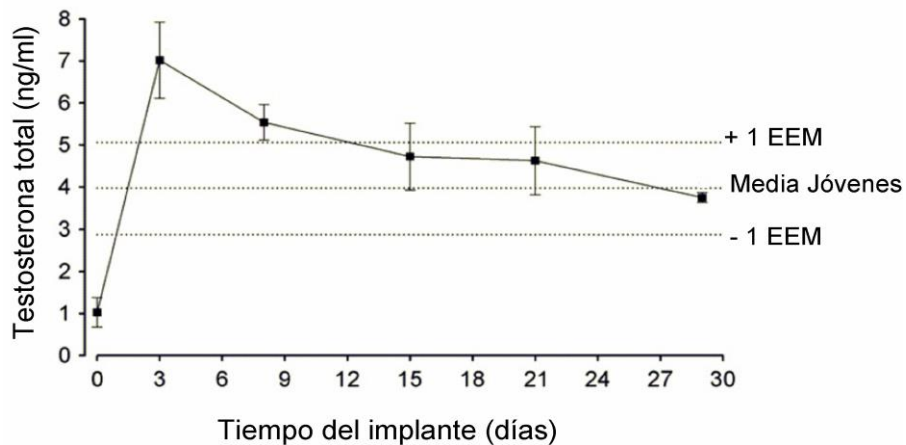


Figura 21. Curso temporal de liberación de testosterona a partir del implante de 1cm colocado en ratas viejas. Los datos se expresan como la media  $\pm$  EEM. (Herrera-Pérez et al., 2012).

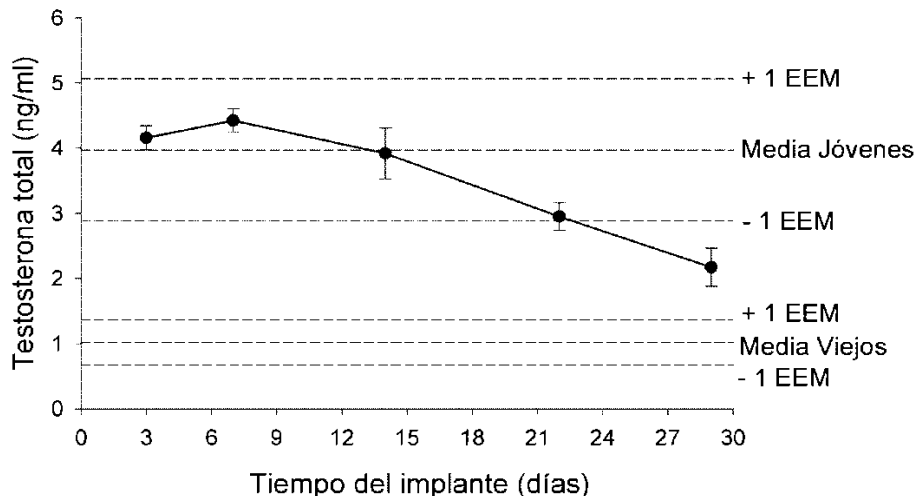


Figura 22. Curso temporal de liberación de testosterona a partir del implante de 1 cm colocado en ratas jóvenes castradas. Los datos se expresan como la media  $\pm$  EEM. (Herrera-Pérez et al., datos no publicados).